تاثير المعلق الفطري Beauverea bassiana في الاطوار المختلفة لخنفساء اللوبيا الجنوبية في المخزن Callosobruchus maculatus (Fab.) (Coleoptera: Bruchiidae)

The effect of Beauveria bassiana on different stage of Callosobruchus maculatus (Fab.) (Coleoptera: Bruchiidae)

علياء عبد العزيز حميد
كلية العلوم / جامعة بغداد

الخلاصة:

بينت الدراسة قدرة الفطر *Beauvirea bassiana* في السيطرة على الاطوار المختلفة لآفة خنفساء اللوبيا الحمراء *Callosobruchus maculatus* باستعمال التراكيز المختلفة الاتية : 10^6 , 10^4 , 10^2 وكانت النتائج كالاتي : تفوق التركيز 10^2 في السيطرة على يرقات الطور الثاني في حين تفوق التركيز 10^4 في السيطرة على يرقات الطور الرابع وان التركيز 10^6 كان اكثر تأثيرا في البالغات . كما بينت الدراسة ان نسبة قتل الاطوار المختلفة للافة تزداد بزيادة مدة التعرض كما ان التراكيز المتوسطة اكثر فعالية في السيطرة على الافة .

المقدمة :-

تعتبر حشرة *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera:Bruchidae) آفة رئيسية تصيب العائلة البقولية Leguminacea مثل (cowpeas,lentils,green grains,black grains) و هي آفة عالمية الانتشار (Park *et al.*,2003) .

تسبب هذه الآفة خسارة أكبر من خنفساء ألباقلاء الكبيرة وذلك بسبب تعدد اجيالها حيث تعاود الحشرة اصابتها للبذور عدة مرات بالمخزن قبل اصابتها بالحقل (سعد و امين،1983). ونظرا لاهمية المحاصيل البقولية كونها مصدرا مهما للبروتينات والفيتامينات للانسان و الحيوان (Dudje *et al.* 2009). فضلا عن دورها في تحسين خصائص التربة و خاصة في المناطق الجافة وشبه الجافة (Rachie, 1985) .

أن اصابة بسيطة بافة *Callosobruchus maculatus* تقود الى خسارة كلية للحبوب في المخزن . لذا تزايد الاهتمام بانتاج عوامل المكافحة الاحيائية للامراض و الافات الحشرية لما لهذه العوامل من معايير مهمة منها انها غير ملوثة للبيئة و فعالة ضد الممرضات و الافات و تتحل بسرعة اضافة لسهولة انتاجها (Deshpanole,1999) . من ابرز المنتوجات الحيوية للفطر Beauveria bassiana و التي شاع صيتها هي Boverin و Mycotrol (Wan;2003) . اذ يعد هذا الفطر من اقدم الفطريات التي استخدمت في مكافحة الحشرات فكان الصينيون اول من سجل حصول اصابة فطرية طبيعية بالفطر B. bassiana على النحل و ديدان الحرير . و يوجد الفطر بصورة طبيعية في المخلفات النباتية وفي الترب المختلفة (Shelion ,Hoffman 2001,) يستعمل هذا الفطر في مكافحة *Sitophillus oryzae* (L.) و *Rhyzopertha dominica* (F.) و *Acanthoscelides obtectus* Say (Padin *et al.,* 2002)

هدفت الدراسة الى معرفة تأثير معلق الفطر *B. bassiana* في الاطوار المختلفة لخنفساء اللوبيا الجنوبية .

المواد و طرائق العمل :

1-تربية الحشرة :-

حصل على الحشرة من جمع عينات من اللوبيا المصابة بهذه الأفه من الاسواق المحليه في بغداد وجمعت عينات مشخصة من قسم الوقاية / كلية الزراعة . ربيت الحشرة في قناني بلاستيكيه سعة لتر غطيت فوهتها بقماش الاوركنزا للسماح بدخول الهواء . تم اضافة حبوب لوبيا الحمراء غير مصابة كلما لزم الامرإلى القنينة لتنمية المزرعة (culture) والحصول على اعداد كبيرة من الاطوار المختلفة للافة لاجراء التجربة .

2- تحضير المعلق الفطري للفطر *Beauveria bassiaria*

تم الحصول على عزلة محلية BjH1253 وبتركيز 10^8بوغ / غرام من (مختبر امراض الحشرات) قسم الوقاية / كلية الزراعة حيث أن تنمية الفطر و حفظه كانت على الدخن ، تم تنقيعه بماء مقطر معقم و ترك لمدة ساعة كاملة للحصول على كونيدات الفطر سحب من العالق 1 مل و اضيف الى 9 مل ماء مقطر يصبح التركيز 10^7 وسحب منه 1 مل و اضيف الى 9

مل يصبح 10^6 و هكذا وصولا الى التركيز 10^2 ، استعمل منها التراكيز 10^2 ، 10^4 ، 10^6 لاجراء لدراسة .

3– دراسة تاثير التراكيز 10^6 و 10^4 و 10^2 في الطورين الثاني و الرابع لافة خنفساء اللوبيا *Callosobruchus maculatus* :

وضعت كمية قليلة من مسحوق اللوبيا المعقم في اطباق بتري بقطر 9 سم ثم اضيفت في كل طبق 3 يرقات بواقع 3 مكررات لكل معاملة للطورين . جمعت اليرقات عن طريق ازالة قشر حبة اللوبيا المصابة بهدوء لاخراج اليرقات التي بداخلها سليمة . بعد وضع اليرقات في الاطباق رشت بالتراكيز المذكورة سابقا بوساطة مرشة يدوية سعة 100 مل وحضنت داخل حاضنة بدرجة حرارة 28 ْم و رطوبة نسبية 5±75 % وروقبت اليرقات يوميا لمدة 5 ايام لاخذ النتيجة .

4 – تاثير التراكيز 10^6 و 10^4 و 10^2 في البالغات :

جمعت بالغات باعمار مختلفة و وضعت 3 بالغات في كل طبق بواقع 3 مكررات لكل معاملة ثم رشت البالغات بوساطة مرشة يدوية سعة 100 مل ،حضنت الاطباق في حاضنة بدرجة حرارة 28 ْم و رطوبة نسبية 5± 75 % . روقبت يوميا لمدة 5 ايام لاخذ النتيجة .

التحليل الاحصائي :-

حللت البيانات احصائيا باستخدام نموذجان احصائيان في الاول استعمل التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design (C.R.D.) لمعرفة التاثير في نسبة القتل للافة (SAS,2004)

النتائج و المناقشة :-

تبين النتائج في جدول 1 حسب التحليل الاحصائي عدم وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) في الايام (1,2,3,4) في حين يوجد فرق معنوي بين التراكيز في اليوم (5) حيث ان اعلى نسبة قتل كانت عند التراكيز 10^2 ثم 10^4 واقل نسبة قتل كانت عند التركيز 10^6 ، اذ ان التركيز 10^2 اكثر تاثيرا في الطور الثاني خلال (5) ايام و قد يعود السبب في هذا الى ان الطور الثاني كثير الانسلاخ فيترك جلد الانسلاخ المحمل بالكونيدات و الذي سيكون مصدر لاصابة يرقات اخرى . و هذا يتفق مع (الحيدري ، 2002) الذي ذكر ان اليرقات المصابة

تكون مصدرا لاصابة اليرقات السليمة و هذا يتفق مع (Akbar et al.,2005) الذي بين ان الفطر *B. bassiana* له القدرة على قتل خنفساء الطحين الحمراء بنسبة عالية .

نسبة المئوية للهلاك					
التركيز	اليوم الاول	اليوم الثاني	اليوم الثالث	اليوم الرابع	اليـــــوم الخامس
10^2	33.3	66.6	77.6	89	100
10^4	77.6	77.6	77.6	77.6	77.6
10^6	22.3	55.6	33.3	55.6	33.3
السيطرة	33.3	33.3	33.3	33.3	33.3
L.S.D.	1.80 NS	2.03 NS	1.53 NS	1.88 NS	1.95 *

جدول 1 تاثير تراكيز المعلق الفطري *Beauveria bassiana* في الطور الثاني و لخمسة ايام متتالية .

NS غير معنوي .

* معنوي عند احتمالية ($p \leq 0.05$).

ويبين جدول 2 من التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية ($p \leq 0.05$) بين التراكيز(10^2,10^4,10^6) في قتل يرقات الطور الرابع خلال 5 ايام اذ بين ان اعلى نسبة قتل في اليوم الاول كانت عند التركيز(10^4) 100% ثم التركيز(10^6) الذي بلغت نسبة القتل فيه 66.6 و بزيادة مدة التعرض بلغت نسبة القتل للتركيز (10^4) 100 % و 100 % للتركيز 10^6 في اليوم الجامس بينما اقل نسبة قتل كانت عند التركيز 10^2 و التي بلغت 44.3 % في اليوم الاول و التي ازدادت بزيادة مدة التعرض الى 55.6 % في اليوم الخامس .

و هذا يتفق مع (Kapango *et al.,* 2007) ان التراكيز الوسط هي الافضل في السيطرة على الافة عند استعماله نفس الفطر بالتراكيز 10^{11} , 10^{10} , 10^9 في مكافحة *Bombus impatiens* و *Trialeurodes vaporiorum* و قد يعود السبب الى ان الطور الرابع قليل الانسلاخ و الحركة اذ انها تتهيء للتعذر فيكون جدارها الكايتيني رقيقا وسهل الاختراق من قبل

الفطـر حيـث يقـوم الفطـر بامتصـاص مغذيات جسـم الحشـرة التـي تسـاعده علـى النمـو . وبـين (الحيدري ، 2002) ان الفطر احدث نسبة قتل ليرقات الطور الرابع لآفة حفار ساق الذرة بلغت 78.33 % بعد 7 ايام من المعاملة و قد عزي السبب الى اختراق الفطر لجدار الجسم الكايتيني عن طريق التحلل الانزيمي .كما ان اليرقات المصابة تصبح مصدرا جديدا لاصابة اليرقات السليمة . كما ذكر (Smasinakova & Kalalova, 1981) ان الفطر يقوم بافراز 3 انزيمات على الاقل وهي chitinase و lipase و protease التي تساعده على اختراق كيوتكل الافة .

النسبة المئوية للهلاك					
التراكيز	اليوم الاول	اليوم الثاني	اليوم الثالث	اليوم الرابع	اليـــــــوم الخامس
10^2	44.3	44.3	44.3	55.6	55.6
10^4	100	100	100	100	100
10^6	66.6	66.6	66.6	77.6	100
السيطرة	11	11	11	11	11
L.S.D.	1.21 *	1.21 *	1.21 *	1.33 *	0.77 *

جدول 2 تاثير تراكيز المعلق الفطري *Beauveria bassiana* في الطور الرابع و لخمسة ايام متتالية .

*فروق معنوية عند مستوى احتمالية ($p \leq 0.05$) .

اما جدول 3 فيوضح عدم وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية ($p \leq 0.05$) في اليوم الاول حسب التحليل الاحصائي بينما توجد فروق معنوية في الايام (2 و 3 و 4 و 5) من المعاملة حيث بلغت نسبة القتل في اليوم الثاني 77.6 % عند التركيزين 10^2 و 10^4 و اقل نسبة قتل كانت عند التركيز 10^6 بلغت 44.3 % . و قد يعود السبب الى ان الفطريخترق كيوتكل الافة الكاملـة بصـورة مباشـرة اذ يتـالف الكيوتكـل مـن طبقتـين خارجيـة epicuticle واخـرى داخليـة procuticle تتصف الطبقة الخارجية بكونها رقيقة و معقدة تفتقر الى الكايتين .

و اوضح (Gorden , 1999) الية تاثير الفطر على جسم الافة المصابة بانه عند تلامس

الفطر مع كيوتكل الافة تنمو الكونيدات الى داخل التجويف الداخلي للعائل و عندها يتكاثر الفطر داخل الجسم منتجا سموما تستنزف مغذيات الافة و اهمها سم beauvericin ثم تقتلها لذا لا تحتاج سبورات الفطر ان تستهلك من قبل العائل لتسبب له الاصابة ، و بعد الموت يبدأ الفطر بالنمو خارج الجسم من خلال الاجزاء الرخوة من الكيوتكل مغطية مغطية جسم الحشرة بطبقة من الكتلة الفطرية بيضاء اللون .

و هذا يتفق مع (Khashaveh *et al.*, 2011) اذ قال ان الفطر *Beauveria bassiana* له القدرة على قتل بالغات كل من *Tribolium castaneum* و *Sitophilus granaries* و *Oryzaephilus surinamensis* .

يتبين من النتائج ان نسبة القتل تزداد بزيادة مدة التعرض للفطر .

النسبة المئوية للهلاك					
التركيز	اليوم الاول	اليوم الثاني	اليوم الثالث	اليوم الرابع	اليـــــوم الخامس
10^2	66.6	77.6	33.3	0	0
10^4	77.6	77.6	22.3	22.3	33.3
10^6	22.3	44.3	100	0	0
السيطرة	11	11	11	55.6	100
L.S.D.	2.31 NS	1.72 *	2.03 *	1.53 *	1.63 *

جدول 3 تاثير المعلق الفطري *Beauveria bassiana* في طور البالغات لافة خنفساء اللوبيا الجنوبية خلال خمسة ايام متتالية . NS غير معنوي . * معنوي عند احتمالية ($p \leq 0.05$).

المصادر :-

1 – الحيدري ، عادل طه . 2000 . دراسات مختبرية و حقلية حول تأثير الفطر *Beauvirea bassiana* (Bals.) Vuill في حفار ساق الذرة *Sesamia cretica* (Phalaenidae:Lepidoptera) . رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة بغداد (65) صفحة .

2 – سعد ، عوض حنا و عادل حسن امين ، 1983 . الحشرات الاقتصادية في شمال العراق ، الجمهورية

العراقية ، وزارة التعليم العالي و البحث العلمي . جامعة الموصل.

3- Akbar,W.,J.C. Loard ,J.R. Nechols and T.M. Loughin. 2005. Efficacy of Beauveria bassiana for Red flour beetle when applied with plant essential oils or in mineral oil and organosilicone carriers . J. Econ. Entomol. 98 (3) : 683-688.

4- Deshpande , M.V. 1999 . Mycopesticide production by fermentation : potential and challenges . critic . Rev. Microbiol. 25(3) :229-243.

5- Dugje,I.Y. , Omoigui, L.O., Ekeleme,F.,A.Y.Kamara and H.Ajeigbe. 2009 . Farmers guide to cowpea production in west Africa. Nideria.

6- Kapongo . J. P. , P. Kevan , L. Shipp. B. Broadbent .2007 . optimal concentration of *Beauveria bassiana* vectored by bumble bees in relation to pest and bee mortality in green hous tomato and sweet pepper . International organization for Biological control (IOBC). Vol. 53 No.5 : 797-812.

7-Padin,S.,GD.Bello,M.Fabrizio.(2002). Grain loss caused by *Tribolium castaneum ,Sitophilus oryzae and Acanthoscelides obtectus* in stored durum wheat and beans treated with *Beauveria bassiana* J. stored prod. Res*.,38:*69-74.

8- Park C., Kim S. I. , Ahn Y.J. 2003. Insecticidal activity of asarones identified in Acorus gramineus rhizome against three coleopteran stored – product insects . Journal of stored products Research .39 (3) : 333-342.

5

9- Rachie , K.O. 1985 . Introduction in : S.R. Singh; Rachie (eds.) : cowpea research production and utilization . London U.K. John Wiley and Sons Ltd.

10- SAS. 2004. Statistical analysis system, users' guide. Statistical . version 7th ed. SAS. Inst. Inc. cary. N.C. USA.

11 – Samsinakova, A. and S. Kalalova . 1981. Mass production of *Beauveria bassiana* for reglution of *Leptinotarsa decemlineata* population . J. Invertb. Pathol. 38.169-174.

12- Shelion , W. and M.P. Hoffmann .2001 . Biological control . Aguide to natural enemies in North America . Cooperative extension , Conell University (Rrview 63pp.) .

13- Khashashaveh.A., Ghosta,Y. , Safaralizadeh,M.H. andZiaee,M.2011. the use of Entomopathogenic fungus , *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. In Assays with storage Grain beetles. J.Agr. sci. tech. vol. 13: 35-43.

14- Wan, H. 2003. Molecular biology of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* : Insect-cuticle degrading enzymes and development of anew selection marker for fungal transformation . Dissertation for the degree of Doctor of Natural Sciences. Ruperto-Carola University of Heidelberg, Germany .

Abstract:

This study showed that the 2sec. stage of cowpea pest was more susceptible to the lower concentration 10^2 through 5 days . while the 4^{th} stage larva was more susceptible to the 10^4 concentration and the concentration 10^6 was more effective on the adult through 3 days. In this study we notes that the mortality increased when the time of exposure increase , and the lower concentration was more effect to control the larva stage as soon as the adult stage was mor sensitive to the high concentration .