المجلة الليبية للعلوم الزراعية
المجلد (15) العدد (1) 2010

ورقة أصيلة

دراسة مخبرية عن مكافحة يرقات الدودة الخبيثة *Spodoptera littoralis* حيويا بالفطر *Beauvaria bassiana*

محمد مختار بركة[1]، عبد العزيز عبد الله عزوز[2]، إبراهيم محمد نشنوش[3]، سالم خليفة الشبلي[4]

1. قسم وقاية النبات ـ كلية الزراعة ـ جامعة الفاتح. 2. قسم التربة والمياه ـ كلية الزراعة ـ جامعة الفاتح.
3. قسم وقاية النبات ـ كلية الزراعة فرع الجفارة ـ جامعة الفاتح. 4. مركز البحوث الزراعية / طرابلس.

الملخص

اختبرت فاعلية فطر *Beauvaria bassiana* (سلالة LARC 192) لمكافحة يرقات الدودة الخبيثة *Spodoptera littoralis* التي جمعت من نبات البرسيم الحجازى كعزلة محلية مختارة من الفطر. -عزلت هذه العزلة أصلا من يرقات حفار ساق التفاح *Zeuzera pyrina* المصابة طبيعيا- زرعت العزلة على المستنبت الغذائي «سابورد» حيث اختبرت إمراضيتها معمليا على الأطوار اليرقية (الثالث و الرابع و الخامس) للدودة الخبيثة بطريقتي: الملامسة (صورة معلق مائي، مسحوق جاف)، وعن طريق الفم مع الغذاء. أثبتت اختبارات الإمراضية أن الفطر شديد السمية، وأن الزمن المطلوب لظهور التأثير، حسبما تحدد من نسبة الموت، يرتبط بالطور اليرقي للحشرة وطريقة وصورة الاستعمال للفطر. كان الطور اليرقي الثالث بشكل عام أكثر أطوار الحشرة حساسية للفطر بغض النظر عن طريقة أو صورة الاستعمال وفي أي مرحلة زمنية من مراحل التحضير بعد المعاملة، على أن أعلى معدل للموت 95.2 % تم الحصول عليه بعد 14 يوما من معاملة يرقات الطور الثالث للفطر بطريقة الملامسة وفي صورة مسحوق جاف. إن أفضل طريقة لمكافحة يرقات الدودة الخبيثة حيويا بالفطر *B. bassiana* هي استخدام المسحوق الجاف لأبواغ الفطر على الطور اليرقي الثالث، ضمن إطار إستراتيجية متكاملة لإدارة هذه الآفة.

الكلمات الدالة: الدودة الخبيثة *Spodoptera littoralis*، فطر *Beauvaria bassiana*، مكافحة حيوية.

المقدمة

الدودة الخبيثة *Spodoptera littoralis* Boised Lepidoptera: Noctuidae إحدى الآفات الزراعية التي يكثر انتشارها في العديد من دول العالم، وتختلف أهميتها من حيث حجم التلف الذي تسببه لمحاصيل الخضار والعلف وخصوصا البرسيم من بلد إلى آخر. وتشير الدراسات إلى أن وجود الآفة في ليبيا يرجع إلى سنة 1926 حيث اقتصرت الإصابة على المناطق الشرقية فيها. أما المناطق الغربية فلم يسجل فيها

للإتصال **محمد مختار بركة**
هاتف: 5349 375 91 218+
استلمت بتاريخ:
قسم وقاية النبات- كلية الزراعة - جامعة الفاتح
بريد إلكتروني: profbaraka2006@yahoo.com
اجيزت بتاريخ:

ظهور هذه الآفة إلا عام 1956[1]. وازداد انتشارها وبائيا عام 1959[2.1].

وعلى الرغم من وجود برنامج مكثف في ليبيا للحد من أضرار هذه الآفة على محاصيل الخضار في أغلب مناطق الزراعات المروية، وذلك باتباع طرق المكافحة المختلفة الميكانيكية، والطبيعية، والكيميائية منها فإن ذلك حال دون حدوث توازن الطبيعة بينها وبين أعدائها نظرا لتكاثر الدودة بأعداد كبيرة وبسرعة، ولازالت تظهر بشكل وبائي في بعض السنوات [3.2.1].

اكتسبت هذه الحشرة مقاومة لعدة مبيدات كيميائية حشرية[5]، ويمكن التقليل من أعدادها إلى حد معين عن طريق أعدائها في الطبيعة من الطيور والضفادع والحشرات وكائنات أخرى تحد من انتشارها وتكاثرها بعضها بالافتراس وبعضها الآخر بالتطفل [1.2]، باستعمال مصائد الفرمونات الجنسية[4] مما شجع على مكافحتها حيويا. وأكدت العديد من الدراسات [7.8.22.28.33] جدواها في مكافحة الدودة الخبيثة، حيث ذكر Agudeb-Silva [7] مكافحة *Spodoptera frugiperda* Smitj حيويا في فنزويلا باستخدام الأعداء الطبيعية وخاصة المسببات المرضية.

أشارت عدة دراسات[29.28.18.5.28] إلى استخدام البكتريا *Bacillus thuringiensis* في مكافحة الدودة الخبيثة *S.littoralis*، ودرس Kalfan and Barjac [18] تأثير أكثر من 900 سلالة من البكتيريا *B. thuringiensi* على نشاط يرقات الحشرة حيث وجدا أن العديد من هذه السلالات يصيب *S.littoralis* ولكن القليل منها ذو سمية عالية للحشرة.

كما أظهرت *S. littoralis* حساسية لفيروس Polyhydrosis virus حسب ما وجد أبو النصر وأشار إليه بن سعد[1] بأن الفيروس يسبب موت اليرقات في جميع مراحلها في الحقل ولكن لا يمكن التوصية باستعماله كطريقة عملية لمكافحة الدودة الخبيثة ما لم تجر اختبارات كافية Baculoviruses الفيروسات [8، 19، 21] وDensoviruses [21] واستعملا في مكافحة هذه الحشرة. أثبت استخدام الفطر *Beauveria bassiana* Vuillemin Balsamo ذي المدى العوائلى الواسع للحشرة فعالية في مكافحة العديد من الآفات [9.7.6-32.30.22.18.17.16]، بما فيها ناخرة الذرة الأوروبية [20].

تهدف هذه الدراسة إلى اختبار فعالية الفطر الممرض للحشرة *B. bassiana* السلالة المحلية (LARC 192) المعزولة من يرقة حفار ساق التفاح *Z. pyrina* المصابة طبيعيا في إصابة الأطوار المختلفة للدودة الخبيثة *S. littoralis* باستخدام طرق مختلفة للمعاملة في محاولة إمكانية إدخال الفطر في برنامج المكافحة المتكاملة لهذه الآفة.

المواد وطرائق البحث

جمعت يرقات سليمة ظاهرية لحشرة الدودة الخبيثة *S. littoralis* من حقل برسيم حجازي *Medicago sativa* يدويا بمنطقة الزاوية (40 كم) غرب مدينة طرابلس. فصلت اليرقات إلى الأطوار اليرقية الثالث، الرابع، والخامس، ووضعت في صناديق من الورق المقوى مثقوبة لغرض التهوية وتحتوى مجموعة من أقراص أوراق الخروع *Ricinus communis* لغرض التغذية، حيث يتم تغيير الأوراق كل يومين، وحفظت الرطوبة باستخدام قطع قطن معقمة مبللة بماء مقطر معقم. وتركت اليرقات لمدة أسبوع عند درجة حرارة الغرفة 26 + 2°م لغرض الحجز.

استبعدت كل اليرقات الخاملة غير القادرة على الحركة والتغذية قبل إجراء المعاملات. وزرعت اليرقات المختارة كل طور على حدة على صناديق معقمة بالكحول (70%) من الورق المقوى (22.5 × 15 × 14 سم) بمعدل 30 يرقة لكل صندوق.

استخدم الفطر الممرض للحشرات *B. bassiana* السلالة المحلية LARC 192 المعزولة أساسا من يرقات حفار ساق التفاح *Z. pyrinae* والنامية على المستنبت الغذائي سابورد المدعم بمستخلص الخميرة 2%[24] لمدة 25 يوما بتركيز 4.2×10 بوغ/ ملل وبإضافة Tween 20 بنسبة 0.1%.

استخدمت ثلاث معاملات لتقييم إصابة *B. bassiana* للأطوار اليرقية الثالث والرابع والخامس للدودة الخبيثة بطريقتي الملامسة (معلق مائي من الأبواغ والمسحوق الجاف) والتغذية عن طريق الفم برش أوراق الخروع بمعلق مائي من

الأبواغ. أجريت الاختبارات بواقع ثلاثة مكررات لكل معاملة في وجود مكرر لكل طور غير معامل كشاهد واستخدمت 30 يرقة لكل معاملة. عوملت يرقات طريقة الملامسة في معلق من الأبواغ في أطباق بتري معقمة من 1مل من الأبواغ بتركيز 4.2×10^7 بوغ/ ملل، وتركت لمدة 2 - 3 دقائق ثم نقلت إلى صناديق الورق المقوى. بينما عوملت اليرقات بطريقة المسحوق الجاف بوضعها على مستعمرة *B. bassiana* ورجت لمدة 2 - 3 دقائق حتى وضوح التصاق الأبواغ على سطح اليرقة. أما معاملة التغذية عن طريق الفم فكانت بتغذية اليرقات على أقراص ورقية من الخروع قطرها 18مم غمرت في معلق أبواغ الفطر لمدة 2 - 3 دقائق، وغمرت أقراص الخروع الشاهد في الماء المقطر المعقم، ولمدة 72 ساعة. استبدلت الأوراق المعاملة بأخرى طازجة غير معاملة لمراقبة نشاط اليرقات فيما بعد.

تم تقدير عدد اليرقات الميتة بعد مرور 3، و7، و14 يوماً من المعاملة، وحضنت اليرقات الميتة للأطوار المختلفة التي لم تظهر عليها آثار خارجية فطرية للمتابعة. وتم تحليل النسبة المئوية للموت للأطوار اليرقية المختلفة للحشرة للمعاملات المختلفة باستخدام التصميم العشوائي الكامل لأربعة عوامل.

النتائج والمناقشة

كان لفطر *B. bassiana* تأثير فعال على يرقات الدودة الخبيثة المجمعة من البرسيم الحجازى، إذ ثبت أن الفطر ممرض للنطاط في أي صورة من صور المعاملة (سطحية، أو حقن، أو تغذية عن طريق الفم)، وأن معدلات الموت كانت عالية وبلغت 82 - 100%[23]، ويبدو أن طريقة المعاملة لها تأثير على

الجدول 1. النسبة المئوية لموت يرقات الدودة الخبيثة *S. littoralis* معاملة بالفطر *B. bassiana*.

نوع المعاملة	الشكل[2]	الطور اليرقي	فترة التحضين (أيام)		
			ثلاثة أيام	سبعة أيام	أربعة عشر يوماً
موضعي شاهد	معلق	الثالث	(1)20.8	55.6	65.8
		الرابع	22.4	39	68.5
		الخامس	4.5	35	55
		الثالث	0	16.7	16.7
		الرابع	0	7.1	7.1
		الخامس	0	10.5	10.5
موضعي شاهد	مسحوق	الثالث	71.4	90.8	95.2
		الرابع	15.8	73.7	84.9
		الخامس	2.9	53	80.2
		الثالث	0	33.3	33.3
		الرابع	0	13.8	13.8
		الخامس	0	5.6	11.1
فمي شاهد	معلق	الثالث	18.5	46	77.9
		الرابع	3.3	20	60
		الخامس	3.3	10	50
		الثالث	0	20	20
		الرابع	0	20	20
		الخامس	0	0	0

أ. ف. م. + 16.09 (LSD) (P= 0.05)

1) متوسط 3 مكررات – 30 يرقات / مكرر

2) تركيز $4.2 \times 7\ 10$ بوغ / ملل

تركيز الجرعة اللازمة للإصابة، وكذلك زمن البقاء قبل مشاهدة التأثير[21]، وبصفة عامة فإن الفعالية كانت أكبر في معاملة الفطر بطريقة الملامسة بصورة المسحوق منها على المعاملة بطريقة معلق الأبواغ، وطريقة التغذية بالفم، وذلك بغض النظر عن عمر اليرقة، ويوافق ما لوحظ محليا[9] أن معدلات الموت بلغت 100% عند معاملة النطاط بالفطر في صورة أبواغ جافة مقارنة بالمعدلات 82.5، و 87.5% عند استخدام معلق الأبواغ خلال 7، و14 يوما على التوالي مخبريا، وكذلك يوافق Riba [27] من أن استعمال الصور المحببة لسلالة 147 *B. bassiana* ازداد تأثيره معنويا مقارنة باستعمالها في صورة معلق. وقد كان الطور الثالث أكثر حساسية من الطورين الرابع و الخامس (الجدول 1) وكانت نسبة الموت 15.8%، و 71.4% للطورين الرابع والثالث على التوالي بعد ثلاثة أيام من المعاملة باستخدام طريقة المسحوق الجاف. أما موت اليرقات خلال سبعة أيام فكان 53%، و 90.8% للطورين الخامس والثالث على التوالي ووصل إلى 95.2% للطور الثالث بعد 14 يوما.

يبدو أن لنسبة الموت علاقة بطريقة المعاملة/ طور اليرقة، ووقت المعاملة حيث ازدادت حساسية مجتمع اليرقات للموت بسرعة بمدى 50% إلى 95.2% للطورين الخامس والثالث باستخدام معاملة التغذية بالفم والمسحوق الجاف على التوالي خلال 14 يوما. وفي طريقة المسحوق الجاف كان أغلب موت اليرقات بالفطر بمعدل 95.2%، و 90.8%، و 84.9% للأطوار الثالث، والرابع والخامس خلال 14، 7، 14 يوما على التوالي. ويفسر ذلك بأن طريقة المسحوق تزيد من التلوث السطحي لليرقات في أبواغ الفطر خلال التغذية ويكون التأثير أكثر في الأطوار اليرقية الصغيرة العمر مما ساعد في سرعة الإصابة [17]. تتم الإصابة بالحشرة عن طريق الجليد، حيث تثبت أبواغ الفطر أولا على الجسم خارجيا ثم يفرز الفطر بعد ذلك مادة Beauvaricin التي تحلل الجليد مما يؤدي إلى موتها[12، 13]. أما طريقة التغذية بالفم فكان أعلى معدل للموت بها في الطور اليرقي الثالث بنسبة 77.9%، وطريقة المعلق وصلت نسبة الموت إلى 68.5% عند الطور اليرقي الرابع بعد 14 يوماً.

أفضل طريقة لمكافحة يرقات الدودة الخبيثة حيويا هي باستخدام أبواغ *B. bassiana* على صورة مسحوق جاف على الطور اليرقي الثالث. ولا يمكن الاستفادة من النتائج الملموسة والمشجعة التي أثبتتها هذه الدراسة بشكل جيد وفعال في السيطرة على يرقات الدودة الخبيثة إلا من خلال استخدامها وفي آن واحد ضمن إطار استراتيجية متكاملة لإدارة هذه الآفة تؤخذ في الحسبان إلى جانب استخدام *B. bassiana* بالطرق سالفة الذكر. وذلك بهدف تقنين أو منع (عند الضرورة) استخدام المبيدات الكيميائية الضارة للأعداء الحيوية الطبيعية وللحد من تلوث البيئة.

المراجع

1. بن سعد، عبد المجيد، الفونسو، داميانو.1960. الدودة الخبيثة في طرابلس. قسم وقاية النبات. أمانة الزراعة. المطبعة الحكومية طرابلس (نشرة) 9 صفحات.
2. بن سعد، عبد المجيد.1963. الدودة الخبيثة. مجلة الفلاح الليبي 2: 17-19.
3. ناجى، عبد الحميد، وحيد محمود دسوقي. 1984. الدودة الخبيثة وأضرارها والاتجاهات الحديثة لمكافحتها. قسم الإرشاد الزراعي أمانة اللجنة الشعبية العامة للاستصلاح الزراعي وتعمير الأراضي نشرة 79.
4. Abu-Zyada, A., A. Naji. and M. Shuman. 1980. Preliminary studies on the distribution and population density of *Spodoptera litoralis* Boised. In some regions of Jamahiriya by using sex phermons traps. Plant Protection Research: 49-56. (English Abstr.).
5. Abu Zyada, A., A. Naji, and M. Shuman. 1980. Cotton leaf worm *Spodoptera litoralis* Boised resistance to Siven and Depterix. Plant Protection Research: 54-65. (English Abstr.).
6. Aeschlimann, J.P.; P. Ferron; M. Marchal and Sares. 1985. Occurrence and pathogenicity of *Beauvaria bassiana* infesting larval *Sitona disocidens* (Col: Curculionidea).
7. Agudelo-Silva, Fernando. 1986. Naturally occurring pathogens of *Spodoptera frugiperpda* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae collected on corn in Venezuella. Florida Entomologist 69 (4): 768-769.
8. Alvarez, C.S. and E.V. Osuna. 1986. Differentiation mortality between male and female *Spodoptera littoralis* Larvae infected with a Baculovirus. Journal of Invertbrate Pathology 47: 374-376.
9. Azzouz, A.A.; M.M. Baraka; I.M. Nashnosh, and

F.S. El-Bakkoush. 1999. *Beauvaria bassiana* (Bals) Vuillamin. Pathogenicty to grasshoppers (Orthoptera: Acrididae), Lethal time as related to the form and concentration used. Libyan J. Agric. Vol.14: 237-271.

10. Ferron, P. 1978. Biological control of the insect pests by entomogenous fungi: Ann.Rev. Entomol. 23:409-422.

11. Ferron, P. 1981. Pests control by the fungi of *Beauvaria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*. pp465-482. In: Microbial Control of Pests and Plant Diseases. H. O. Burges (ed). London Academic Press.

12. Ignoffo, C.M., Garcia, O.A. Alyoshina, and N.V. Lappa. 1979. Laboratory and field studies with Boverina mycoinsecticidal preparation of *Beauvari bassiana* produced in the Soviet Union. J. Econ. Entomol.72: 562-565.

13. Inglis, G.D., D.L. Johnson, and M.S. Goettel. 1996. Effect of bait substrate and formulation on infection of grasshopper nymphs by *Beauvari bassiana*. Biocontrol Science and Technology, 6: 35 – 50.

14. Kalfon, A.R. and H. De-Barjae. 1985. Season of *Bacillus thuringiensis* strains against the Egyptian cotton worm *Spodoptere littingiensis*. Entomophaga, 30 (2):177-186.

15. Kaya, H.K. 1985. History of microbial control in Microbial biological pesticide registration. Proceedings of a Seminar Cooperative Extension, Univ. of California. pp.6-10.

16. Kislev, N. 1986. Replication of two nuclear polyhydrosis viruses of *Spodoptera littoralis* established insect lines. J. Invert. Pathol. 47: 369-373.

17. Levis, L.C. and J.E. Cossentine. 1986. Season long interplant epizootics of entomopathogens *Beauvaria bassiana* and *Nosema pyrausta* in a corn agrosystem. Entomophaga, 31 (4): 363-369.

18. Mialhe, E., J.M. Quiot, and S. Paradis. 1984. Estabishment of two cell time of *Spodoptera littoralis* (Lep: Noctuidae) Susceptible to viruses likely to be used in microbial control. Entomophaga 29 (2) 347-350. (English Abstr.).

19. Mukeriji, M.K.; R. Rickford, and R.L. Randell. 1976. A quantitative evaluation of grasshoppers (Orthoptera Acrididae) damage and its effect on spring wheat. Can. Ent. 108: 255-270.

20. Nashnosh, I.M., A.A. Azzouz, M.M. Baraka, and M.M. Maayuf. 1999. Pathogenicity of natural preparation of the entomopathogenic fungus. *Beauvaria bassiana* (Bals) Vuill. On the imported cabbage worm *Pieris rapae* L. (Lepidoptera: pieridae). Libyan J. Agric. Vol.14: 229-234.

21. Riba, G.1984. Field plot tests using an artificial mutant of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* [Hyphomycetes] against the European corn borer *Ostrinia nubilalis* [lep.: Pyralidae] Entomophaga 29 (1) 41-48. In French with English abstract.

22. Salama, H.S., M.S. Foda, and A. Sharaby. 1984. Noval biochemical avenues for enhancing *Bacillus thuringiens* endotoxin potency against *Spodoptera littoralis* (Lep. Noctuidae). Entomophaga 29 (2): 171-178.

23. Salama, H.S., A. Sharaby and M. Ragaes. 1983. Chemical changes in the haemolymph of *Spodoptera littoralis* (Lep: Noctuidae) as affected by *Bacillus thuringiensis*. Entomophaga, 28(4): 331-337.

24. Tedders, W.L., D.J. Weaver, E.J. Wehnunt. 1973. Pecan Weevil: suppression of larvae with the fungi *Metarhizium znisoplia* and *Beauvaria bassiana* the nematode *Neoplectana dutkyi*. J. Econ. Entomol. 66: 723-725.

25. Walstad, J.D. and R.F. Anderson. 1971. Effectivness of *Beauvaria bassiana* and *Metarhizium anisoplia* as control agents for poles weevil. J. Econ. 64: 322 -322.

26. Whitten, M.J. and J.G. Oakeshott. 1991. Opporotunities for modern biotechnology in control of insect pests and weeds, with special reference to developing countries. Plant Protection Bull. 39:155-181.

المجلة الليبية للعلوم الزراعية
المجلد (15) العدد (1) 2010

عزل وتعريف فطر *Metarrhizium* من التربة الليبية

صالح الهادي الشريف

قسم وقاية النبات ـ كلية الزراعة ـ جامعة الفاتح.

الملخص

تم الحصول على مزارع لجنس الفطر *Metarrhizium* لأول مرة من التربة الليبية عن طريق العزل المباشر، وذلك بنثر كمية ضئيلة من التربة مأخوذة من عينات تربة من مناطق مختلفة من الجماهيرية العربية الليبية الشعبية الاشتراكية العظمى على أطباق بتري تحتوي على بيئة غذائية انتقائية لنمو وعزل فطر *Metarrhizium*. نقلت المزارع النقية للفطر الى أطباق تحتوي على بيئة سابروويد، حيث لوحظ نمو أبيض ثلجي يتحول الى لون أخضر باهت بعد بداية تكوين الأبواغ. وتبين من الفحص المجهري أن خيوط الفطر مقسمة وتميل إلى تكوين شبكات متراصة، ملتحمة في كثير من الأحيان مكونة ضفائر هيفية (Synnema). الأبواغ الكونيدية المتكونة يلتصق بعضها ببعض مكونة سلاسل طويلة، وتتراص السلاسل لتكون أعمدة هوائية على سطح النمو. وكان متوسط قياسات الأبواغ 6.8 × 2.6 ميكرون، وبذلك يكون الفطر المعزول من التربة الليبية المتميز بتكوين أبواغ صغيرة هو *Metarrhizium anisopliae* var. anisopliae.

الكلمات الدالة: فطر *Metarrhizium*، بيئة غذائية، الأبواغ.

المقدمة

عرفت الفطريات منذ القدم بتطفلها على الحشرات الاقتصادية المختلفة، فقد أورد[9] جدولا مفصلا بأسماء عديد من الأجناس الفطرية المتطفلة على الحشرات وتبعيتها للطوائف الفطرية المختلفة.

إن فطريات الجنس *Metarrhizium* وبالتحديد *M. anisopliae* أصبحت من أهم الأجناس الفطرية المستخدمة في المكافحة الحيوية للحشرات. لقد بدأت أهمية استخدام هذا الفطر عمليا في السبعينيات من هذا القرن[14,6] بالرغم من أن العالم الروسي إلياس ميتشنيكوف عزله سنة 1879 من خنافس الحبوب الجنوبية *Anisopliae austraca*، واختبر إمراضيته على يرقات خنافس الحبوب الجنوبية وسوسة

للإتصال **صالح الهادي الشريف**
هاتف: 6137 564 92 218+
استلمت بتاريخ:
قسم وقاية النبات- كلية الزراعة - جامعة الفاتح
بريد إلكتروني:
اجيزت بتاريخ:

جذور البنجر وأسماه *Entomophthora anisopliae* [11، 14] إلا أن سوركين Sorkin 1892 أعطاه التسمية الحالية *Metarhizium anisopliae* مع ملاحظة عدم تكرار حرف «r» [11].

يحتوي جنس *Metarrhizium* الخيطي الناقص على نوعين رئيسين هما: النوع الأول *M. flavoviride*، حيث تكون الجراثيم الكونيدية بيضاوية بقياسات تتراوح من 7 - 11 × 4.5 - 5.5 ميكرومتراً (µm) ولون النمو أخضر مصفر إلى زيتي باهت، والنوع الثاني *M. anisopliae* حيث الأبواغ الكونيدية ذات لون أخضر أدكن، متراصة مكونة أعمدة بارزة على النمو الأبيض الثلجي للفطر[2].

التفاوت الملحوظ في قياسات الأبواغ الكونيدية ذات الشكل الأسطواني سمح بإمكانية تقسيم هذا النوع إلى مجموعتين: الأولى تكون فيها قياسات الأبواغ بين (3.5 - 9) × (2.5 - 4.5) ميكرومتراً وهي الأكثر شيوعا وسميت *M. anisopliae* var. anisopliae، والثانية كبيرة الأبواغ وقياساتها ما بين (10 - 18) ميكرومتر طولا والعرض (3 - 4.5) ميكرومتراً وسميت *M. anisopliae* var major، [11،6،4].

تتميز العزلات ذات الأبواغ الصغيرة لفطر *Metarrhizium* بأن لها تأثيرا ضارا على العديد من الحشرات في رتب مختلفة وخاصة الخنافس[14،5،4]، وبمراجعة الأبحاث المتعلقة بطرق عزل هذا الجنس على بيئة نقية من مناطق مختلفة من العالم [3، 7، 8، 12، 13] يمكن الوصول إلى الاستنتاج بأن التواجد الطبيعي للفطر هو التربة أو الحشرات المصابة بالفطر.

إن المكانة العالمية التي وصل إليها هذا الجنس من الفطريات في استخدامه كمبيد حيوي للآفات الحشرية المتعددة [14،5،1] ولد الاهتمام في البحث عنه محليا ومحاولة اختباره في هذه المنطقة من العالم.

إن الهدف الأساسي لهذه الدراسة هو إمكانية الحصول على عزلة محلية لفطر *Metarrhizium* من التربة الليبية والتعرف المبدئي عليها ثم اختبار إمراضية هذه العزلة معمليا على بعض الآفات الحشرية.

المواد وطرائق البحث

أجريت التجارب بمختبرات قسم وقاية النبات – كلية الزراعة – طرابلس وقد استعملت طريقتان في العزل هما:

الطريقة الأولى: استخدام يرقات دودة الشمع الكبيرة *Galleria mellonella* كطعم في التربة لاختبار وجود فطر *Metarrhizium* وعزله منها، استعملت عينات تربة من مناطق وادي الربيع، وادي كعام، الجديدة، مسلاته، النوفليين، وتاجوراء.

وضعت كميات من التربة من المناطق المختلفة في أطباق بتري زجاجية قطرها 15 سم حيث ملئ النصف الأصغر من الأطباق تماما بالتربة بعد تبليلها بماء مقطر، وضعت خمس يرقات من دودة الشمع في كل طبق، وغطيت الأطباق بالنصف الآخر لمنع هروب اليرقات إلى الخارج. حفظت العينات في المختبر عند درجة حرارة 25°م تقريبا.

بعد عشرة أيام تم الكشف عن اليرقات في كل عينة والفحص العيني لوجود نموات عليها.

الطريقة الثانية: العزل المباشر باستخدام البيئات الغذائية.

استخدمت البيئة الغذائية التي وصفها[7] حيث تم نثر جرام واحد من التربة من المناطق المذكورة سالفا على أطباق بتري قطرها 9 سم تحتوي على بيئة غذائية انتقائية. وتركت الأطباق لمدة أسبوعين في درجة حرارة 18°م تقريبا مع فحصها كل ثلاثة أيام للكشف عن وجود نموات فطرية، باستعمال المجهر المجسم ثنائي العدسات. نقلت أجزاء من النموات الفطرية البيضاء أو الخضراء إلى أطباق بتري تحتوي على بيئة سابروید كما وصفها[10] للحصول على مزارع نقية.

تم إرسال عينة من الفطر المعزول إلى د. زيمرمان Zimmermann في وحدة المكافحة الحيوية بمقاطعة دارمستاد بألمانيا في سنة 1996 لتأكيد التعريف وقد تفضل مشكورا بالرد موافقا على التسمية والتعريف.

النتائج والمناقشة

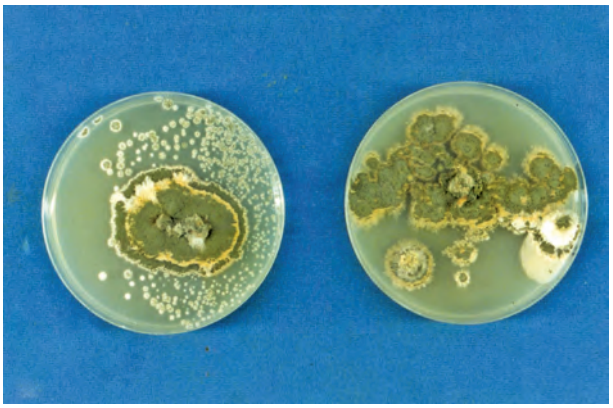
أوضحت هذه الدراسة أن استعمال يرقات دودة الشمع الكبيرة *G. melonella* لجذب الفطريات لم يكن مجديا في جميع عينات التربة المستعملة، وقد يرجع السبب إلى عاملين أساسيين هما إن اليرقات تلتصق بالجدار الداخلي للأطباق وتحيط جسمها بغشاء سميك يوحي بأنها ستتحول إلى طور العذراء، غير أنه تبين من فحصها بعد انتهاء التجربة وإزالة الغشاء عنها، أنها لازالت يرقات حية متحركة ولم يلاحظ وجود نموات فطرية عليها مما يجعل استعمالها كطعم يتعارض مع ما ذكره[13,7]. والعامل الثاني عدم وجود فطر *Metarrhizium* في التربة المستعملة، غير أن هذا الاحتمال مستبعد لأن الفطر تم عزله من تربة منطقة تاجوراء باتباع طريقة العزل المباشر باستعمال البيئة الإنتقائية.

أظهرت المزارع النقية للفطر المعزول على بيئة سابروويد نموا أبيض ثلجي اللون في البداية، تحول جزء منه فيما بعد إلى لون أخضر أدكن وذلك نتيجة لتكوين الأبواغ. تبدو تجمعات الأبواغ تحت الفحص المجهري السطحي على هيئة مناطق قشرية منفصلة، أما سمك هذه القشرة فهو عبارة عن أعمدة متراصة متكونة من سلاسل حلقاتها الأبواغ الفطرية الملتحمة،(الشكل 1).

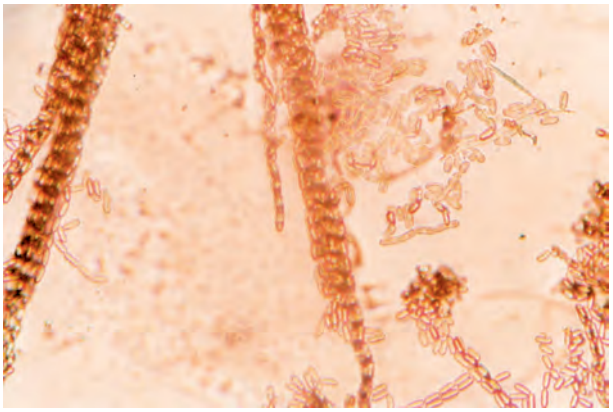
الغزل الفطري يتكون من خيوط مقسمة، تتشابك الخيوط وتلتحم مكونة ضفائر فطرية (Synnema). الخيوط المكونة للأبواغ قصيرة متفرعة ثنائيا أو ثلاثيا، الأبواغ اسطوانية الشكل، ذات لون أخضر أدكن متوسط قياساتها 6.8 × 2.6 ميكرومتر (µm) (الشكل 2). ويتفق وصف وقياسات الأبواغ مع ما ذكره زيمرمان Zimmermann 1992 [14]. وبناء على هذه المعطيات فإن الفطر المعزول من ليبيا يمكن تصنيفه ضمن المجموعة صغيرة الأبواغ وأنه *Metarrhizium anisopliae* var anisopliae، وهو ما أكده د. زيمرمان Zimmermann (اتصال شخصي).

الاختبار المبدئي لإمراضية هذه العزلة على يرقات حفار ساق التفاح *Zeuzera pyrina* في المعمل بين أن الفطر المعزول ممرض على اليرقات المعاملة مقارنة بالشاهد.

يتضح مما تقدم بأن التربة الليبية تحتوي على عناصر



الشكل 1. نمو فطر *M. anisopliae* var anisopliae **على بيئة سابروويد مبينا النمو الأبيض الثلجي والأخضر الغامق.**



الشكل 2. الأبواغ الكونيدية لفطر *M. anisopliae* var anisopliae **أسطوانية الشكل لاحظ تكون السلاسل المتراصة.**

المقاومة الحيوية المهمة لبعض الآفات الزراعية الخطيرة، حيث تم عزل فطر *Metarrhizium* باستعمال البيئة الغذائية الانتقائية. وقد أثبتت التجارب المختبرية المبدئية بأن الفطر المعزول ممرض بدرجة عالية على يرقات حفار ساق التفاح. المزيد من البحث في فعالية هذا الفطر على الآفات الحشرية سيتم نشره فيما بعد.

شكر وتقدير

أتقدم بشكري وامتناني إلى الدكتور زيمرمان *Zimmermann* بألمانيا على المساعدة التي قدمها لي في إرسال نسخ من أبحاثه المنشورة، وكذلك تفضله بتأكيد تعريف الفطر المعزول. كما أتقدم بجزيل الشكر إلى زميلي

د.خليفة حسين دعباج، و د.صالح مصطفى النويصري بقسم وقاية النبات، كلية الزراعة على ما أبدياه من ملاحظات قيمة أثناء إعداد هذا البحث.

المراجع

1. Anonymous. 1987. About biological control in the Middle East. Arab World Agri Business, Vol. 3 (6-7): 31-32.
2. Barron,G.L. 1968. The Genera of Hyphomycetes from soil. Krieger,R.E. Publishing Co. Inc. Huntington, N.Y. 346 pp.
3. Doberski, J.W. and H.T. Tribe. 1980. Isolation of Entomogenous fungi from elmbark and soil with reference to ecology of *Beauveria bassiana* and *Metarrhizium anisopliae*. Trand.Br.Mycol.Soc. 74(1): 95-100
4. Domsch, K.W., H.Gams, and T.H. Anderson. 1980. Compendium of Soil Fungi Vol.1.Academic Press, New York. P. 413-415.
5. Ferron,P. 1978. Biological control of insect pests by Entomogenous fungi. Ann. Rev. Entomol. vol. 23: 409 - 442.
6. Ferron, P. 1981. Pest control by the fungi *Beauveria* and *Metarrhizium*. pp 465-452. *In*: Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970 -1980. H.D. Burges (editor) Academic Press. New York. pp. 465- 482.
7. Mohan, K.S., and G.B. Pillai. 1982. A Selective medium for isolation of *Metarhizium anisopliae* from Cattle dung. Trans Br. Mycol. Soc,78(1):181-182.
8. Periera, J.C.R., O.D.Dhingra, and G.M. Chares. 1979. A selective medium for population estimation of *Metarrhizium* in soil.Trans. Br. Mycol. Soc.72(3):495
9. Roberts, D.W. and R.A. Humber.1981. Entomogenous fungi.pp.201-236. In: Biology of conidial fungi Vol.2 Cole and Kendrick.(editors) Academic Press. New York.
10. Tuite, J. 1969. Plant Pathological Methods: Fungi and Bacteria. Burgess Publishing Company, Minneopolis, Minnosota. pp239.
11. Tulloch, M. 1976. The genus *Metarrhizium*. Trans. Br. Mycol. Soc. 66(3)407-411
12. Veen, K.H. and P. Ferron. 1966. A Selective medium for the isolation of *Beauveria tanella* and *Metarrhizium anisopliae*. J. Invert -pathol, 8: 268-269.
13. Zimmermann, G. 1986. The *Galleria* bait method for detection of entomopathogenic fungi in soil. J. Appl. Ent. 102: 213-215.
14. Zimmermann, G. 1992. *Metarhizium anisopliae* an entomopathogenic fungus. Pflanzenschutz Nachrichten Bayer 45 (1): 113-128.