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

ورقة أصيلة

إمراضية الفطر *Metarrhizium* على بعض الحشرات في ليبيا

صالح الهادي الشريف، خالد موسى ابوسنينة، عادل محمد العروي

قسم وقاية النبات ـ كلية الزراعة ـ جامعة الفاتح.

الملخص

أجريت عدة تجارب معملية لاختبار إمراضية عزلة محلية للفطر *Metarrhizium anisopliae var anisopliae* على أجناس حشرية مختلفة. وقد اتبع أسلوبان في المعاملات: رش معلق الفطر مباشرة على الحشرات أو وضع الفطر في أماكن تغذية وتكاثر الحشرات. وقد تبين من النتائج أنه لا يوجد فرق بين طريقتي المعاملة، ولكن توجد فروق في معدلات الإصابة بين الأجناس المعاملة، حيث تم تسجيل إصابات بمعدل 100% على يرقات حفار ساق التفاح (*Zeuzera pyrina*) والنطاطات(*Melanoplus* spp.). بينما كان معدل الإصابة 30% على يرقات الدودة الخبيثة في البرسيم (*Spodoptera littoralis*). أما على يرقات دودة الشمع (*Galleria mellonella*) فكانت نسبة الإصابة 10.2%، بينما لم تؤثر المعاملات بالفطر على يرقات البعوض (*Culex pubis*) وحشرة نحل العسل (*Apis mellifera*) مقارنة بالشاهد.

الكلمات الدالة: إمراضية فطر *Metarrhizium*، حفار ساق التفاح، يرقات، الدودة الخبيثة، نحل العسل.

المقدمة

أدى استخدام مبيدات الآفات في الزراعة بكميات كبيرة دون مراعاة لنوعيتها والطرق المثلى في استعمالها إلى ظهور العديد من المشاكل البيئية الخطيرة. وقد أورد Lopez-Llorca, 1992 [13] بأن التأثيرات الجانبية للمبيدات على الكائنات غير المستهدفة والإنسان ترجع إلى الاستخدام المكثف للمبيدات.

إن تواجد المتبقيات الكيميائية السامة في التربة والمياه والهواء فيما يعرف بالتلوث البيئي دفع الباحثين إلى التفكير في تشجيع البدائل الحيوية في مكافحة الآفات[3]. هذا ويعتبر علماء الحشرات هم أول من جرب ونجح في تطبيق الأنماط المختلفة في المكافحة الحيوية للآفات، وقد أشار كل من Cook,Baker 1974 [3]، و Freeman, 1981 [9] بأن هذه النجاحات قد شجعت زملاءهم في أمراض النبات على اقتحام هذا المجال والبحث عن الكائنات الدقيقة الممرضة للآفات المختلفة. وقد

للإتصال **صالح الهادي الشريف**
هاتف: 6137 564 92 218+
استلمت بتاريخ:

قسم وقاية النبات- كلية الزراعة - جامعة الفاتح
بريد إلكتروني:
اجيزت بتاريخ:

قدم Burgess, 1981 [6] مراجعة وافية للبحوث المنشورة في مجال المكافحة الميكروبية للآفات للفترة الزمنية بين 1970 - 1980، وأعطى Schwartz, 1992 [19] تقريرا شاملا عن وضع المكافحة الحيوية في الولايات المتحدة الأمريكية وأشاد بالتشجيع الذي يلقاه الباحثون من الهيئات المختلفة، وأشار إلى التطورات المهمة في هذا المجال، على النقيض من ذلك ذكر Kolb, 1992 [11] بأن وضع المكافحة الحيوية في أوروبا يعتبر ثانويا وتطرق إلى بعض الأسباب بالخصوص.

يلاحظ من التقارير المختلفة أن أغلب الكائنات الدقيقة المستعملة في المكافحة الحيوية ضد الحشرات هي فطريات، وتصنف أغلب أجناس الفطريات المتطفلة أو الممرضة للحشرات في شبه صف الفطريات الناقصة وفقا لما أورد Roberts *et.al.*, 1981[16]، و Samson, 1981 [17].

في الوقت الحاضر يعتبر الجنس *Metarhizium* وتحديدا النوع *M. anisopliae* من أهم الفطريات الممرضة على الحشرات في العالم وذلك وفقا للأبحاث المنشورة [2، 14، 22].

ولقد أفاد Tulloch, 1976 [20] بأنه قد تم عزل وتعريف عدة أنواع ممرضة ضمن جنس *Metarhizium* إلا أن النوع *M. anisopliae* المكون للأبواغ الكونيدية الصغيرة هو الأكثر انتشارا في المناطق المختلفة من العالم، وتم عزله من أجناس متباينة من الحشرات والتربة وفقا لما أوردته الأبحاث في هذا الخصوص[7، 14، 15، 18، 22]. ويعرف النوع ذو الأبواغ الصغيرة بأن له مدى عوائليا واسعا وأنه قادر على إصابة عدة أنواع من الحشرات من رتب مختلفة[10، 12، 16]. إلا أن Zimmermunn, 1992 [22]، و Poprawski and Yula, 1991 [14] أشاروا إلى تعدد الأنواع المختلفة من عائلة الخنافس التي عزل منها هذا الفطر وإلى قدرته الفائقة على مهاجمة أطوارها المختلفة.

تهدف هذه الدراسة إلى اختبار إمراضية فطر *Metarhizium* النوع *anisopliae* المعزول محليا على عدة أجناس من الحشرات معمليا باستخدام طريقتين للإلقاح واختبار معدلات مختلفة من معلق الأبواغ الفطرية (اللقاح)على الأجناس الحشرية المختلفة (آفات زراعية وحشرات اجتماعية).

المواد وطرائق البحث

أجريت التجارب المعملية بمختبرات قسم وقاية النبات بكلية الزراعة، وقد استخدمت عزلة نقية من الفطر *M. anisopliae* صغير الأبواغ كان قد تم عزلها من التربة بمنطقة تاجوراء/ليبيا.

تم إكثار الفطر على بيئة سابروويد Sabouraud عند درجة حرارة 24 - 26°م.

نفذ الاختبار المبدئي لإثبات إمراضية الفطر باستعمال يرقات حفار ساق التفاح *Zeuzera pyrina* جمعت من أشجار رمان مصابة بهذه الآفة بمنطقة جنزور. قطعت الأغصان المصابة، والمحتوية على اليرقات إلى قطع طول كل منها 30 سم، وتم شقها طوليا إلى نصفين للتأكد من وجود اليرقات الحية بداخلها، وضع قرص قطره 3 مم من مزرعة الفطر عمرها أسبوعان في أحد أطراف النفق بالغصن على مقربة من اليرقة، وربطت أطراف الغصن بشريط لاصق لمنع خروج اليرقات منها. أما معاملة الشاهد فقد وضع فيها قرص أجار من بيئة سابروويد قطره 3مم بدون الفطر بنفس الطريقة السابقة. وضعت الأغصان المعاملة كل على حدة في أكياس بلاستيكية للتحضين. فحصت الأغصان بعد أسبوع من المعاملة. وقد وجد أن كل اليرقات المعاملة بالفطر ميتة داخل الأغصان ومغطاة بالنمو الأخضر المميز لفطر *Metarhizium*، وأمكن الحصول منها على مزارع نقية استخدمت في باقي التجارب. أما في حالة يرقات الشاهد فكانت طبيعية ولم يشاهد فيها أي أعراض مرضية. بعد التأكد من إمراضية الفطر على يرقات ساق التفاح تم اختبار:

أولا – تأثير الفطر على أجناس مختلفة من الحشرات.

ثانيا – معدلات مختلفة من اللقاح.

أولا - اختبار تأثير الفطر على أجناس مختلفة من الحشرات:

أضيف لقاح الفطر بطريقتين هما: أ ـ معاملة الحشرات باللقاح مباشرة، ب ـ إضافة اللقاح إلى أماكن تكاثر وتغذية

الحشرات. وذلك باستخدام ستة أجناس من رتب مختلفة من الحشرات الاقتصادية تشمل يرقات حفار ساق التفاح *Zeuzera pyrina*، يرقات الدودة الخبيثة على البرسيم *Spodoptera litoralis*، يرقات دودة الشمع الكبيرة *Calleria mellonella*، يرقات حشرة البعوض المنزلي *Culex pubis*، النطاط أو الجندب *Melanoplus* sp. وحشرة نحل العسل *Apis mellifera*، وذلك لاختبار إمراضية الفطر *M. anisopliae* عليها.

أ) معاملة الحشرات باللقاح مباشرة:

رشت يرقات الدودة الخبيثة على البرسيم والجراد النطاط مباشرة بلقاح يحتوي على معلق أبواغ فطر *M. anisopliae*، وقد تم تحضير اللقاح بإزاحة وتعليق كمية من الأبواغ في طبق بتري قطره 9 سم لمزرعة الفطر عمرها أسبوعان في 250 مم ماء مقطر ومعقم. ثم نقلت الحشرات المعاملة إلى نباتات برسيم غير معاملة للتغذية عليها.

ب) معاملة المصادر المختلفة لغذاء أو أماكن تكاثر الحشرات:

بالنسبة لحشرات الجراد النطاط ويرقات الدودة الخبيثة على البرسيم فقد تم رش سيقان نباتات البرسيم بمعلق الفطر ثم نقلت إليه الحشرات غير المعاملة. أما بالنسبة ليرقات حفار ساق التفاح فقد وضع 1 مل من المعلق في أغصان الرمان بعد شقها طوليا ثم وضعت فيها يرقات غير معاملة. أما بالنسبة ليرقات دودة الشمع الكبيرة وحشرة النحل فقد رش المعلق على شمع الإطارات أو خلط مع عجينة غذاء النحل.

كذلك تم رش الحشرة والغذاء معا بالمعلق الفطري في حالات يرقات الدودة الخبيثة، والنحل والجراد النطاط. وفي حالة الشاهد تم رش ماء مقطر معقم على جميع المعاملات وسجلت النتائج بعد أسبوع من المعاملة.

ولقد تم اختبار الفطر على الأطوار المختلفة لحشرة البعوض المنزلي وذلك بإحضار ماء بركة تتواجد فيه الأعمار اليرقية المختلفة والحشرات الكاملة ووضعت كميات متساوية من ماء البركة في دوارق زجاجية، وسدت فوهاتها بقطع من الشاش الأبيض لمنع خروج الحشرات، وقد أضيف المعلق الفطري كمصدر عدوى لماء البركة، وأضيف ماء مقطر معقم للشاهد، وتم متابعة التجربة وتدوين النتائج يوميا لمدة أسبوع.

ثانياً - اختبار معدلات مختلفة من اللقاح على يرقات حفار ساق التفاح:

تم إحضار كمية كافية من أغصان الرمان المصابة بحشرة حفار ساق التفاح من منطقة القره بوللي / طرابلس وأعدت بالكيفية السابقة، وقسمت إلى 7 مجموعات، كل واحدة منها تحتوي على 15 قطعة بواقع ثلاثة مكررات لكل معاملة. وتم تحضير المعلق القياسي من اللقاح بتعليق أبواغ الفطر في طبق بتري قطره 9 سم في مقدار 250 مم ماء مقطر معقم. وتم تقدير متوسط عدد الأبواغ الموجودة في 1 مل من المعلق القياسي باستخدام عداد خلايا الدم Hemacytometer (شريحة Neubauer المحسنة). أعدت مخففات متوالية من المعلق القياسي بإضافة كميات من ماء مقطر ومعقم إلى كميات من المعلق القياسي للحصول على تركيزات (معلق قياسي 1/2، و 1/3، و 1/4، و 1/5، و1/6) ثم وزعت المعاملات في المكررات المختلفة بصورة عشوائية وذلك بحقن 1 مل من كل معلق مباشرة في الأنفاق وحقن 1 مل من ماء مقطر ومعقم في معاملات الشاهد. سجلت النتائج بعد أسبوع من المعاملة.

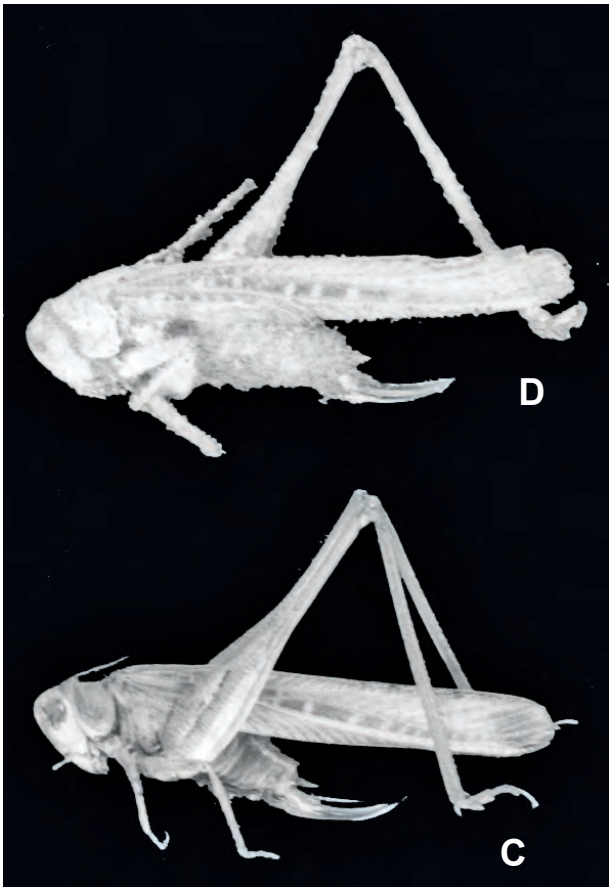
النتائج والمناقشة

اختبار تأثير فطر *Metarhizium* على أجناس الحشرات:

توضح النتائج المدونة في الجدول (1)، بأن العزلة المحلية لفطر *Metarrhizium* لها تأثير ممرض على معظم أجناس الحشرات المستعملة في هذه الدراسة. وصلت نسبة الإصابة إلى 100% بعد اليوم الثامن من المعاملة في حالة يرقات حفار ساق التفاح، وحشرات الجراد النطاط (الجندب). بدأ ظهور أعراض الإصابة على الجراد النطاط في اليوم الثالث من المعاملة، حيث تناقصت حركته وزادت سرعة حركة البطن مقارنة بحشرات الشاهد، وفي اليوم الخامس بدأت تظهر حالات موت في الحشرات المعاملة (الشكل 1)، حيث وصلت إلى 27%، كما ارتفعت نسبة موت الحشرات حتى وصلت إلى 100% في اليوم الثامن في كل المعاملات، وفي اليوم الثامن بعد المعاملة كانت يرقات حفار

الجدول 1 . تأثير فطر *M. anisopliae* على حيوية أجناس مختلفة من الحشرات.

الزمن بالأيام	النسبة المئوية لموت الحشرات				
	الجراد النطاط	حفار ساق التفاح	الدودة الخبيثة	دودة الشمع	نحل العسل
اليوم الرابع	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
اليوم الخامس	26.95	0.0	6.25	12.0	0.0
اليوم السادس	36.38	0.0	15.00	10.2	0.0
اليوم السابع	58.62	0.0	26.25	10.2	0.0
اليوم الثامن	100.00	100.00	30.00	10.2	0.0



الشكل 1. حشرة الجراد النطاط (D) معاملة ويظهر النمو الفطري على جسم الحشرة وخاصة منطقة البطن، (C) حشرة غير معاملة.

ساق التفاح المعاملة كلها ميتة ومغطاة بنمو أخضر مميز لمرض المسكاردين (الشكل 2). ومن ناحية أخرى، لم يلاحظ أي تغير في نشاط وتغذية حشرات النطاط في الشاهد، أما يرقات حفار ساق التفاح غير المعاملة فقد تحولت إلى عذارى أو حشرات كاملة ولم تسجل أي حالات موت فيها. أدت الطرق المختلفة

الشكل 2. يرقات حفار ساق التفاح في أغصان ساق الرمان (D) ميتة مغطاة بالنمو الأخضر لفطر *M. anisopliae* ، (C) حشرة غير معاملة.

في إيصال اللقاح للحشرات إلى القضاء التام عليها(100%) بعد اليوم السابع من المعاملة مقارنة بالشاهد وذلك في حالة يرقات حفار ساق التفاح والجراد النطاط ليطابق ما أشار إليه Lisansky *et.al.*, (1992)[2] من أن فعالية الفطر تزداد إذا استغلت التقنيات الحديثة في إيصال الفطر إلى هدفه.

بالنسبة لمعاملة يرقات الدودة الخبيثة على البرسيم *S.littorales*، ويرقات دودة الشمع الكبيرة *G. mellonella*، فقد لوحظ أن نسبة موت الحشرات المعاملة بالفطر كانت أقل مقارنة بالنتائج المذكورة أعلاه، حيث وصلت نسبة الإصابة في يرقات الدودة الخبيثة على البرسيم ويرقات دودة الشمع الكبيرة 30%، و 10.2% على التوالي في اليوم الثامن.

يمكن أن يعزى تدني نسبة الإصابة في هذين الجنسين إلى مقدرة الحشرات على الهروب من الفطر وذلك بالتحول إلى عذارى وحشرات كاملة، وقد تم ملاحظة ذلك في يرقات الدودة

الجدول 2. عدد اليرقات الميتة لحفار ساق التفاح (*Zeuzera pyrina*) باستخدام تركيزات مختلفة من أبواغ فطر *M. anisopliae*.

المعاملات	المكررات			المعاملة		النسبة المئوية للموت	
				المجموع	المتوسط	المجموع	المتوسط
الشاهد	0	0	0	0.0	0.0	0.0	0.0
معلق قياسي	4	4	3	11	3.6	73.3	72.0
تخفيف 1 : 2	4	5	5	14	4.6	93.6	92.0
تخفيف 1 : 3	4	5	4	13	4.3	86.6	86.6
تخفيف 1 : 4	5	4	3	12	4.0	80.0	80.0
تخفيف 1 : 5	4	3	2	9	3.0	60.0	60.0
تخفيف 1 : 6	3	5	3	11	3.6	73.3	77.0

أ.ف.م. = 0.481

الخبيثة إذ لم تسجل أي حالات موت في يرقات الشاهد لهذه الحشرة وتحولت كلها إلى عذارى أو حشرات كاملة. أما في حالة يرقات دودة الشمع فقد لوحظ أن الحشرة بعد المعاملة تحيط جسمها بطبقة غشائية شبيهة بالشرنقة مما جعل ملاحظة تأثير المعاملة بالفطر عليها أمرا صعبا.

تم الكشف عن اليرقات المحاطة بالغشاء في المعاملات والشاهد بعد انتهاء التجربة، وقد لوحظ موت بعض اليرقات التي كانت مغطاة بنمو أبيض مخضر وهو ما يميز إصابتها بالفطر *M. anisopliae*. إن إحاطة اليرقات بالغشاء قد يكون سببا مباشرا في عدم إصابة اليرقات المعاملة بالفطر، وقد يتعارض هذا التفسير مع ما هو متبع في وضع طعم حي مناسب مثل يرقات دودة الشمع الكبيرة في الحصول على مزارع للفطر *Metarrhizium* spp. من التربة.

لم تسجل أي حالات موت في حشرات نحل العسل المعامل بالمعلق الفطري برش النحل مباشرة أو بخلط المعلق الفطري مع المحلول السكري أو عجينة غذاء النحل، وقد تم فحص الأطوار المختلفة للنحل بعد أسبوع من المعاملات المختلفة ولوحظ ازدياد في نشاط النحل من حيث بناء الشمع وبيوت الملكات ولم تسجل أية حالات إصابة. لقد كان الغرض الأساسي لاختبار حشرة نحل العسل هو إمكانية استعمال فطر *M. anisopliae* في المكافحة الحيوية لدودة الشمع الكبيرة التي تصنف كأحد أهم أعداء حشرة نحل العسل وفقا لما أورده Baily, 1981 [4]. ويتضح من معاملات دودة الشمع المذكورة أعلاه أن فطر *Metarrhizium* spp. له تأثير على هذه الآفة دون أن تتعرض حشرة نحل العسل إلى أية إصابات باستعمال الطرق المختلفة في خلط اللقاح. إن التعرف على العمر اليرقي الأكثر قابلية للإصابة بفطر *Metarrhizium* spp. قبل أن تحيط اليرقات جسمها بغشاء قد يكون عاملا مهما في زيادة نسبة إصابة دودة الشمع.

وكذلك لم تلاحظ أية حشرات ميتة من بين البعوض المنزلي المعامل بمعلق الفطر، وجاءت هذه النتائج مطابقة لما سجله Wilson *et. al.*[21]، وقد يعزى ذلك إلى توفر الغذاء في مياه البركة لطور اليرقات مما يقلل من فعالية الفطر كمبيد لليرقات أو سرعة تحول اليرقات إلى حشرات كاملة، بعد أربعة أيام من المعاملة بالفطر لوحظ وجود تجمعات لحشرات كاملة ميتة طافية على سطح الماء مغطاة باللون الأبيض المخضر المميز للفطر، وبوضعها على أطباق تحتوي على بيئة سابروويد بعد تطهيرها سطحيا بمحلول مخفف 1% هيبوكلورات الصوديوم لمدة ثلاث دقائق تم عزل الفطر *Metarrhizium* منها، تم أيضا التقاط حشرات بعوض حية من المياه المعاملة، ووضعت في ماء مقطر معقم، وبعد ثلاثة أيام وجدت ميتة وعليها نموات بيضاء مخضرة شبيهة بتلك المذكورة سابقا، مما يدل على أن وضع اللقاح في الماء قد وصل إلى الحشرة إما عن طريق اليرقات مباشرة قبل تحولها إلى حشرات كاملة أو ربما التقطت الحشرات الكاملة الفطر من الماء مباشرة وأصبحت حاملة له.

اختبار معدلات مختلفة من اللقاح:

أدت التخفيفات المختلفة من اللقاح إلى إحداث نسبة موت عالية على يرقات حفار ساق التفاح في الرمان الجدول (2)، مما يدل على فعالية هده العزلة من الفطر ضد حشرة حفار الساق، هذا ولم تسجل أي حالات موت في يرقات الشاهد وتطورت جميع اليرقات إلى عذارى وحشرات كاملة.

أظهر التحليل الإحصائي للنتائج المسجلة على اليرقات المعاملة الميتة فروقا معنوية بين التركيزات المختلفة. أعطى تخفيف اللقاح إلى النصف أعلى نسبة موت إذ بلغت 92% بينما أعطى أقل تركيز مستعمل وهو (تخفيف 6:1) نسبة موت 77%. ولقد سجلت نسبة موت قريبة من ذلك عندما استخدم المعلق القياسي 72%. يلاحظ من الجدول (2) أن أقل نسبة موت سجلت كانت 60% حيث كانت نسبة التخفيف (1 : 5). ومن الجدير بالذكر أن متوسط عدد أبواغ الفطر في المعلق القياسي باستخدام شريحة Neubauer المحسنة هو (9 × 10 بوغ /مل) تقريبا.

يلاحظ من التقارير المختلفة عن استعمال فطر *M.anisopliae* var anisopliae كمبيد حيوي عدم وجود اتفاق حول كمية اللقاح المستخدمة من قبل الباحثين. فقد ذكر Poprawski and Yula, (1991) [14] بأن زيادة تركيز اللقاح إلى عشرة أضعاف في اختبار حساسية يرقات الخنافس لم تكن ذات جدوى، حيث أعطت نسبة إصابة 24% أقل من تلك النسبة 82% باستعمال تركيز مخفف من اللقاح، مع العلم بأن الباحثين لم يشيرا إلى وحدة قياس اللقاح المستخدمة بالحجم أو بالوزن.

أشار Wilson *et.al.*, 1990[21] إلى وزن الأبواغ بالملليجرام في كل مل في اختبارهم لفطر *Metarhizium* spp. كمبيد حيوي لحشرة البعوض. واستخدم Kaaya and Munyinyi, 1995 [10] تركيزين من فطر *Metarhizium* لمقاومة ذبابة النوم Tse tse (0.5، و1.0 جم/لتر). وكان التركيز العددي التقريبي للأبواغ 2.3×10بوغا/جرام، وقد تسبب هذا التركيز في إحداث إصابة في يرقات الذبابة وصلت إلى 80%، وأشارا بأن استعمال تركيزات مخففة من اللقاح أعطى نسبا منخفضة من الموت، وهذه النتائج تتعارض مع ما ذكره Poprawski [14].

وبالرجوع إلى الجدول (2) يمكن الإشارة إلى أن تخفيف اللقاح إلى 1/4 في المعاملة رقم 5 أعطى نسبة موت 80%، حيث كان متوسط عدد الأبواغ بالملميتر باستخدام شريحة Neubauer المحسنة 2.2 × 10 بوغاً، وهذا تقريبا يساوي ما استخدمه Kaaya and Munyinyi[10] لمكافحة ذبابة النوم حيث تسبب استخدام هذا التركيز في إحداث 80% موت ليرقات هذه الذبابة تحت الظروف المعملية.

لقد تم استخدام تحضيرات مختلفة تحتوي على فطر *M. anisopliae* لمكافحة الآفات الحشرية حقليا في مناطق مختلفة من العالم وذلك وفقا لما أشارت إليه الأبحاث الواردة في المراجع [2،16،18،22]. وقد بين Roberts and Humber, 1981 [16] بأن لقاح الفطر أضيف في الحقل بطريقتين الأولى: وزن 600جرام/هـ من حبوب الأرز مجروشة ومعقمة بعد تنمية الفطر عليها لمدة أسبوعين، والثانية: وزن 50 جراماً /هـ من الأبواغ الكونيدية.

حديثا وبعد أن تمكنت شركة باير Bayer من تحضير خلطة تجارية لفطر *M. anisopliae* لاستخدامه كمبيد حيوي يحمل رقم Bio 1020، فقد أشار Coombs and Lisansky, 1992 [12] إلى أن المعدل التجريبي لهذا المستحضر يتراوح بين 0.2 - 1 جم/لتر ويلزم من (20 - 100 كج/هـ) لمعاملة سطح التربة بعمق 1 سم.

شكر وتقدير

أتقدم بالشكر الجزيل للزملاء بقسم وقاية النبات، كلية الزراعة / جامعة الفاتح على ما أبدوه من ملاحظات أثناء المراجعة العلمية، وأخص بالذكر د.بشير عثمان قشيرة، ود.جبر عبد الله خليل، ود.خليفة حسين دعباج.

المراجع

1. Anonymous. 1987. About biological control in the Middle East Arab World. Agribusiness Vol. 3(6 - 7) 31 - 32.

2. Baker, K.F., and R.J. Cook. 1974. Biological control of Plant Pathogens. Freeman and Company. San Francisco. 433 pp.

3. Bailey, L. 1981. Honeybee Pathology. Academic Press. Inc NY. pp. 72 - 76.

4. Burgess, H.D. 1981. Progress in the microbial control of pests,1970-1980.(pp.1-6) In: Microbial Control of Pests and Plant Diseases, 1970-1980. H.D. Burgess (Editor).. Academic Press Inc. London.

5. Domsch, K.W., H. Gams, and T.H. Anderson.1980. Compendium of Soil Fungi V.1.Academic Press, New York. pp 413-415.

6. Ferron, P. 1978. Biological control of insect pests by entomogenous fungi. Ann. Rev Entomol.v. 23: 409 - 442.

7. Freeman, T.D. 1981. Use of conidial fungi in biological control. pp143-165 In: Biology of conidial fungi Cole and Kendrick(Editors).Academic Press,. N. Y.

8. Kaaya, G.P.and D.M. Munyinyi. 1995. Biocontrol potential of entomogenous fungi: *Beauveria bassiana* and *Metarrhizium anisopliae* for Tsetse flies(*Glossenia* spp.) at developmental sites. J. Invertbr. Pathol. 66 (3): 237 - 241

9. Kolb, F. 1992. Status of biocontrols in integrated crop production in Europe. Pflanzenschatz Nachrichten Bayer 45 (1): 99-112.

10. Lisansky, S.G. and J. Cooms. 1992. Technical improvement to biopesticides. Brighton Crop Protec. Confr, Pests and Diseases.Vol.1:345 - 350.

11. Lopez-Llorca, L.V. 1992. Fungal pathogens of Invertebrates and their potential as biocontrol agents(Abstr) Revista Iberoamericana De Micologia 9(1): 17-22.

12. Poprawski, T.J. and W.N. Yula. 1991. Incidence of fungi in natural population of Phyllaphag spp. And susceptibility of *Phyllaphag anxia* to *Beauveria bassiana* and *Metarrhizium anisopliae*. J. Appl. Entomolo.112 (4): 359-365.

13. Rath, A.C., T.B. Koen, and H.Y, Yip. 1992. The influence of abiotic factors on the distribution and abundance of *Metarrhizium anisopliae* in Tasmanian pasture soils. Mycol. Res. 96(5): 378 - 384.

14. 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. N. Y.

15. Samson, R. A.1981. Identification:Entomopathogenic Deuteromycets. pp. 93-106 In: Microbial Control of Pest and Plant Diseases 1970-1980. Burgess. (editor) Academic Press Inc. London.

16. Scherer, R., R.P. Bateman, D. Moore, and G.V. Mc Clatchic. 1991. Control of migratory locust *Locusta migratoria* Capito, in Madagascar: the potential for the use of a micropesticide. Brighton Crop Protec Conf., Pests and Diseases.V.1: 357 - 362.

17. Schwartz, M.R. 1992. Biological and integrated pests and diseases management in the United States of America. Pflanzenschatz Nachrichten Bayer 45(1) 73-86.

18. Tulloch, M. 1976. The genus *Metarrhizium*.Trans. Br. Mycol. Soc.66:(3): 407-411.

19. Wilson, M.L., F. Agudelo-Silve, and A. Spielman. 1990. Increased abundance, size and longevity of food - deprived mosquito populations exposed to a fungal larvicide. The American Journal of Tropical Medicine and Hygine 43 (5): 551- 556.

20. Zimmermann, G.1992. *Metarhizium anisopliae* an entomopathogenic fungus. Pflanzenschutz Nachrichten Bayer 45 (1): 113-128.