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

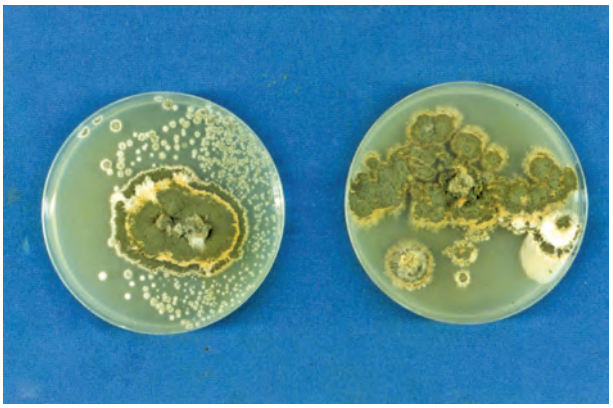
أوضحت هذه الدراسة أن استعمال يرقات دودة الشمع الكبيرة *G. melonella* لجذب الفطريات لم يكن مجديا في جميع عينات التربة المستعملة، وقد يرجع السبب إلى عاملين أساسيين هما إن اليرقات تلتصق بالجدار الداخلي للأطباق وتحيط جسمها بغشاء سميك يوحي بأنها ستتحول إلى طور العذراء، غير أنه تبين من فحصها بعد انتهاء التجربة 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).

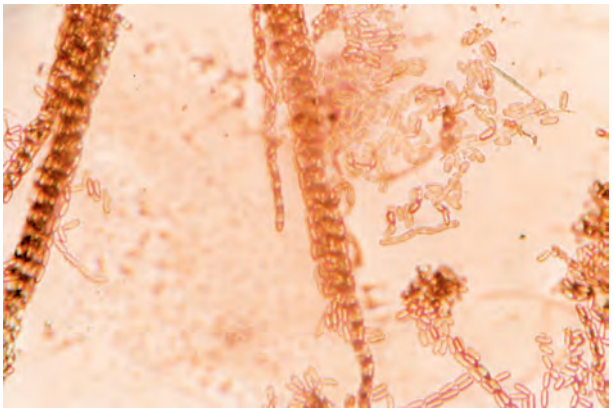
الغزل الفطري يتكون من خيوط مقسمة، تتشابك الخيوط وتلتحم مكونة ضفائر فطرية (Synnema). الخيوط المكونة للأبواغ قصيرة متفرعة ثنائيا أو ثلاثيا، الأبواغ اسطوانية الشكل، ذات لون أخضر أدكن متوسط قياساتها 6.8 × 2.6 ميكرومتر (µm) (الشكل 2). ويتفق وصف وقياسات الأبواغ مع ما ذكره زيمرمان Zimmermann 1992 [14]. وبناء 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.