# تأثير فطر*Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff)Sorokin ومبيد الأكتلك في الدور العذري بعمر24 و120 ساعة لخنفساء اللوبياء الجنوبية *Callosobruchus maculates*(Fab.) (Coleoptera: Bruchidae)

***عماد أحمد محمود*** حسام الدين عبد الله محمد*****

***مروة ثامر عبد الستار النعيمي******

استلام البحث 8، تشرين الاول، 2011
قبول النشر 8، كانون الثاني ، 2012

**الخلاصة:**

دُرس تأثير فطر *Metarhizium anisopliae* بالتراكيز 5× $10^1$ و5 ×$10^3$ و5×$10^5$ بوغ/مل ومبيد الاكتلك تركيز 0.001% في الدور العذري لخنفساء اللوبياء الجنوبية*Callosobruchus maculates* بالعمرين 24 و 120 ساعة بينت الدراسة مايأتي: أن أعلى نسبة قتل للعذارى المعاملة كانت بعمر 120 ساعة 100% عند تركيز $10^5$ بوغ/مل. لوحظت تشوهات في الحشرات البالغة للعذارى التي عُوملت بالتراكيز الفطرية مثل تشوهات الاجنحة ومنطقة البطن.وأن تراكيز الفطر أثرت في معدل عدد البيض الكلي المنتج من الكاملات وكذلك نسبة البيض الفاقس.

**الكلمات المفتاحية: فطر،عذارى خنفساء اللوبياء الجنوبية، مبيد الأكتلك.**

## المقدمة:

تعد اللوبياء (Vigna sneninsis Savi) من محاصيل البقول المهمة خاصة في دول العالم بسبب احتوائها على نسبة عالية من البروتين اذ تتراوح النسبة فيها بين 17-43% [1].كثيراً ما تتعرض بذور اللوبياء المجففة للاصابة بالحشرات ومنها خنفساء اللوبياء الجنوبية *Callosobruchus maculates*،أنَّ حشرة خنفساء اللوبياء الجنوبية تعد أفة رئيسة ومهمة أقتصادياً للوبيا وتعد بذورالمحاصيل البقولية العائل الرئيس لخنافس البقول اذ سُجل نحو 83 جنساً من البقوليات عائلاً نباتياً لهذهِ الخنافس[2].يعود ضررالحشرة لوجود اليرقات داخل البذور التي تقوم بالتغذي على محتويات البذور في إثناء تطورها.[3]تتراوح الخسائر من 0.8- 1.6 غم لكل 5 غم من البذور. [4]أدى الاستعمال العشوائي للمبيدات الكيميائية الحشرية وغيرها إلى ظهور سلالات مقاومة من الآفات،فضلاً عن كون المبيدات ضارة بالإنسان والحيوان والنبات،أذ أستعملت العديد من المبيدات الكيميائية لمكافحة حشرات المخازن منها مبيد الأكتلك وهو مبيد فسفوري عضوي يتميز بأنخفاض سميته للبائن ولهُ تأثير بالملامسة ويستعمل ضد الحشرات الحقلية،لذلك بدأ بالوقت الحالي أستعمال طرائق بديلة مثل استعمال الكائنات الدقيقة الممرضة التي تصيب الحشرة بأمراض منها ماهوبكتيري أو فطري أو فيروسي.فهي لاتتدخل في التوازن الطبيعي للكائنات وليس لها أي مضار بالكائنات الحية والحيوانات المفيدة وهى قليلة التكاليف.من هذهِ الكائنات الدقيقة الفطر *Metarhizium anisopliae*وينمو طبيعياً في ترب انحاء العالم كافة و يصيب مايقارب 200 نوع من الحشرات مثل الارضة والجراد مسبباً مرض المسكاردين الاخضر green muscardin [5]

أُجريت هذه الدراسة بهدف: دراسة تأثير فطر *M.anisopliae* ومبيد الاكتلك بالتراكيز المذكورة في عذارى حشرة خنفساء اللوبياء الجنوبية بالعمرين 24 و 120 ساعة.

## المواد وطرائق العمل:

1- هُيئت المستعمرة ألمختبرية لخنفساء اللوبياء الجنوبية بعد الحصول على كمية من بذور اللوبياء المصابة بهذهِ ألحشرة من الأسواق المحلية في بغداد ، نُقيت البذور ونُظفت من الشوائب حُضرت بذور سليمة ووضعت في المجمدة بدرجة $-20$ م لمدة 48 ساعة للتأكد من خلوها داخلياً من إي أصابة حشرية،هُيئت المستعمرة بوضع أزواج (ذكور وإناث) من حشرة خنفساء اللوبياء الجنوبية بعد تشخيصها من د.عماد أحمد محمود / مختبر الحشرات في قسم علوم الحياة/كلية العلوم للبنات

*أستاذ بكلية العلوم للبنات- قسم علوم الحياة- جامعة بغداد.
**أستاذ مساعد بكلية الزراعة- قسم وقاية النبات- جامعة بغداد.
*** كلية العلوم للبنات /جامعة بغداد

مع بذور اللوبياء السليمة في قناني بلاستيكية اسطوانية أرتفاع 10سم وقطر 6 سم ،وأضافة (5 غم ) من خميرة الخبز الجافة وغُطيت الفوهة بغطاء من قماش الاوركنزا، ثُبت الغطاء برباط مطاطي لمنع خروج البالغات وضعت في الحاضنة بدرجة 28±1م ورطوبة نسبية 75±5% , جُددت المستعمرة بعد كل جيل بأستمرار[6].

2- تم الحصول على مستعمرة الفطر من قسم وقاية النبات - كلية الزراعة- جامعة بغداد، نُميت عزلة الفطر في إطباق بتري حاوية على وسط PDA (potato dextrose agar) المعقم بجهاز الموصدة Autoclave بعدها أضيف 125 ملغم من المضاد الحيوي تتراسايكلين (Tetracycline) لمنع النمو البكتيري نُقلت الإطباق إلى الحاضنة بدرجة حرارة(2±26) ورطوبة نسبية (5±85%) لمدة 7 أيام[7]

3- عُزلت 4 عذارى كُررت خمس مرات من المستعمرات ألمختبرية لكل تركيز من تراكيز الفطر وهي 5× $10^1$ و5 ×$10^3$ و5×$10^5$ بوغ/مل مبيد الاكتلك تركيز 0.001% بالعمرين 24 و120 ساعة رُشت العذارى بثلاثة مل من تراكيز المعلق الفطري ومبيد الاكتلك لضمان تغطية كاملة بمسافة 15سم، مُيز بين عذارى العمرين بالاعتماد على اللون اذ ان لون العذراء في عمر 24 ساعة أبيض مائل للصفرة بينما العمر المتأخر يميل إلى اللون البني وكذلك على بداية تكون الحلقة الشفافة على البذرة اذ ان هذا يدل على بداية تحول اليرقة الى عذراء ،وضعت العذارى في إطباق بتري معقمة وبواقع عذراء لكل طبق، حُضرت معاملة السيطرة برش العذارى بثلاثة مل من الماء المقطر المعقم، تمت متابعة نسبة قتل العذارى ومعدل مدة الطور العذري ونسبة بزوغ البالغات الطبيعي والمشوه ومعدل طول عمر البالغات المتزاوجة وعدد ونسبة البيض الكلي المنتج من البالغات التي خرجت من العذارى المعاملة لكل معاملة.

**التحليل الاحصائي:**

أستعمل البرنامج الاحصائيSAS [8]في تحليل البيانات لدراسة تأثير المعاملات المختلفة في الصفات المدروسة قورنت الفروق المعنوية بين النسب أو المعدلات المدروسة بأختبار أقل فرق معنوي (LSD) عند مستوى إحتمالية 0.05≥P.

## النتائج:

**معاملة العذارى بالعمرين 24 و120 ساعة:**

يبين الجدول (1) تأثير تراكيز الفطر ومبيد الاكتلك المذكورة في النسبة المئوية لقتل العذارى بعمر24 ساعة وبلغت 95% بتركيز$10^5$ بوغ/مل و20% عند مبيد الاكتلك. ومعدل مدة الدورالعذري لم يختلف معنوياً مع السيطرةوالبالغة4.60 يوم.أن اعلى نسبة لبزوغ البالغات المشوهه ظهرت عند المبيد بنسبة 80% اما التركيز$10^3$ بوغ/مل فبلغت 15%. لوحظ ان معدل عمر الذكور والاناث كان متساوياً بتركيز$10^1$،$10^3$ بوغ/مل اذ بلغا 4 ،9 يوم على التوالي ليرتفع ارتفاعاً طفيفاً بمعاملة السيطرة ليبلغ 9.25 ، 10.37 يوم على التوالي وبين التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية بين المعاملات. وأن اعلى معدل لعدد البيض الكلي المنتج من الكاملات التي خرجت من البيوض المعاملة بلغ 88 بيضة بنسبة فقس 95.85%عند معاملة السيطرة وانخفض الى57 بيضة وبنسبة فقس 91.22% بتركيز $10^1$ بوغ/مل والى 40 بيضة وبنسبة فقس 95% بتركيز$10^3$ بوغ/مل وبين جدول التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية بين المعاملات.

**جدول(1) تأثير فطر *M. anisopliae* بالتراكيز5× $10^1$ و5 ×$10^3$ و5×$10^5$ بوغ/مل ومبيد الاكتلك تركيز 0.001% في الدور العذري لحشرة خنفساء اللوبياء الجنوبية C. maculates بعمر 24 ساعة و تطوره.**

| التركيز / المعاملات | | نسبة قتل العذارى | معدل مدة الدورالعذارى (يوم)±S.E | نسبة بزوغ البالغات الطبيعي | نسبة بزوغ البالغات المشوه | معدل مدةعمر البالغات(يوم) ±S.E | | معدل عدد البيض ±S.E | نسبة البيض الفاقس |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | الذكور | الاناث | | |
| الفطر بوغ/مل | 5×$10^1$ | 70 b | 4 ± 0.0 a b | 20 b | 10 B | 4 ± 0.0 b | 4 ±0.0 C | 57±0.0 b | 91.22 c |
| | 5×$10^3$ | 75 b | 4± 0.0 a b | 10 b | 15 B | 9± 0.0 a | 9 ± 0.0 B | 40± 0.0 c | 95 b |
| | 5×$10^5$ | 95 a | 4± 0.0 a b | ---- | 5 B | ---- | ---- | ---- | ---- |
| مبيد الاكتلك 0.001% | | 20c | 3.7± 0.0 B | ---- | 80 A | ---- | ---- | ---- | ---- |
| السيطرة | | 0d | 4.60± 0.18 A | 100 a | ---- | 9.25±0.47 a | 10.37±0.23 A | 88±1.08 a | 99.85 a |
| LSD | | 12.30 | 0.72 | 18.47 | 17.91 | 0.88 | 0.442 | 1.99 | 0.271 |

**الحروف الصغيرة المختلفة تدل على وجود فروق معنوية بين المعاملات المختلفة عند مستوى إحتمال (P≤ 0.05) بحسب إختبار أقل فرق معنوي (L.S.D) .Standared Error = S.E.**

اما الجدول (2) فبين أيضاً تأثير تراكيز الفطر ومبيد الاكتلك المذكورة في النسبة المئوية لقتل العذارى بعمر 120 ساعة اذ بلغت 100% عند التركيز $10^5$ بوغ/مل.وبلغ أعلى معدل لمدة الدور العذري 2.88 يوم بتركيز$10^3$ بوغ/مل .ونلاحظ ايضاً حدوث تشوهات في الحشرات البالغة للعذارى التي عُوملت بالتراكيز الفطرية وبلغت 20% للتركيز$10^3$ بوغ/مل وارتفعت الى 95% لمعاملة مبيد الاكتلك صورة (1) واثرت التراكيز معنوياً في عمر الذكور والاناث.واثر الفطر ايضاً في معدل عدد البيض الكلي المنتج من الكاملات وكذلك نسبة البيض الفاقس اذ بلغ 85 بيضة بنسبة فقس 99.94%عند معاملة السيطرة وانخفض الى34.5 بيضة وبنسبة فقس 78.26% بتركيز $10^3$ بوغ/مل وبين جدول التحليل الاحصائي وجود فروق معنوية بين المعاملات.

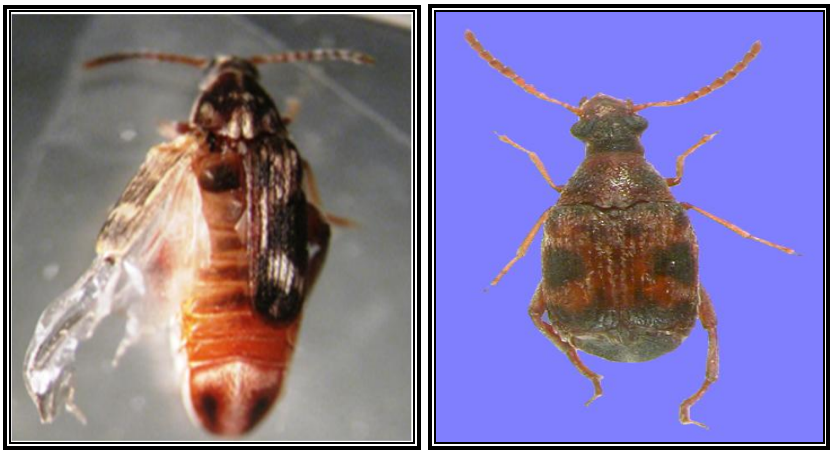
**جدول(2) تأثير فطر *M. anisopliae* بالتراكيز$5\times 10^1$ و$5\times 10^3$ و$5\times 10^5$ بوغ/مل ومبيد الاكتلك تركيز 0.001% في الدور العذري لحشرة خنفساء اللوبياء الجنوبية*C. maculates* بعمر 120 ساعة و تطوره.**

| التركيز / المعاملات | | نسبة قتل العذارى | معدل مدة الدورالعذارى (يوم) ±S.E | نسبة بزوغ البالغات الطبيعي | نسبة بزوغ البالغات المشوه | معدل مدةعمر البالغات(يوم) ±S.E | | معدل عدد البيض ±S.E | نسبة البيض الفاقس |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | الذكور | الاناث | | |
| الفطر بوغ/مل | $5\times 10^1$ | 70 b | 1.31± 0.11 B | 20 b | 10 b | 7 ±0.0 c | 9.50± 0.0 B | 66.50 ±0.0 B | 78.94 b |
| | $5\times 10^3$ | 70 b | 2.88± 0.0 A | 10 b | 20 b | 10± 0.0 b | 7.50± 0.0 C | 34.50 ±0.0 C | 78.26 c |
| | $5\times 10^5$ | 100 a | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- |
| مبيد الاكتلك 0.001% | | 5 c | 1± 0.00 b | ---- | 95 a | ---- | ---- | ---- | ---- |
| السيطرة | | 0.0 c | 1± 0.00 B | 100 a | ---- | 11.90 ±0.06 a | 11.80 ±0.36 A | 85 ±1.08 A | 99.94 a |
| LSD | | 13.64 | 0.36 | 12.45 | 12.19 | 0.113 | 0.670 | 1.99 | 0.104 |

**الحروف الصغيرة المختلفة تدل على وجود فروق معنوية بين المعاملات المختلفة عند مستوى إحتمال ($P\leq 0.05$) بحسب إختبار أقل فرق معنوي (L.S.D). S.E= Standared Error.**

## المناقشة:

قد يكون سبب تأثير الفطر في نسب قتل العذارى وبالعمرين 24 و120 ساعة هو إفراز السموم وكذلك لكون الفطر له القدرة على اختراق القصبات الهوائية ومن ثم موتها اختناقاً ، او استنزاف المغذيات الموجودة في جسم العذراء ومن ثم موتها جوعاً،أما سبب ظهور التشوهات فقديعود الى التأثير التراكمي لفطر *M.anisopliae* الذي سبب استنزاف الفطر للمغذيات الموجودة في الدم والاجسام الدهنية لجسم العذراء وتأثيرهُ في الفعاليات الحيوية التي تحدث في اثناء دور العذراء[9].وأن استنزاف المغذيات الموجودة داخل جسم البالغة يؤدي ذلك الى تأثير الفطر في أعمار الذكور والاناث[10].ويرجع تأثير المبيد لارتباط مركبات الفسفور العضوية بالموقع الاستراتي لانزيم Cholinesterase مما يمنع ازالة acetylcholine فيحدث ارتعاش سريع للحشرات ومن ثم شلل الحشرة وهلاكها [11].وفي كلا الجدولين نلاحظ ان الفطر أثرفي معدل عدد البيض الكلي المنتج من الكاملات وكذلك نسبة البيض الفاقس وقد يعود السبب الى استنزاف المغذيات التي تؤثر سلبياً في طاقة البالغات ومن ثم يؤثر في عدد البيض ونسبة الفقس.و ان الفطر اعطى نسبة قتل للعذارى اعلى من المبيد وقد يعود ذلك لكون الفطر اثر في العذراء لانهُ متخصص بمهاجمة كيوتكل الجسم بوساطة انزيماتهِ اما المبيد فان نفاذه لداخل جسم العذراء من خلال جدارالجسم يكون محدوداً.وان هلاكات العذارى بالدور المتاخر وبتركيز$10^5$ بوغ/مل اكثر من الدور المبكر وهذا يتفق مع Jayanth and Ali(1994) [12] عند دراسته تأثيرفطر *M. anisopliae* في عذارى خنافس الطحين. ويعود ذلك الى تصلب كيوكتل العذراء اذ توافرت الدهون والسكريات الضروريةلتطورالفطر[13].



b a

**صورة (1) انثى بالغة لخنفساء اللوبياء الجنوبية *Callosobruchus maculates***
**( a) انثى من معاملة السيطرة**
**(b) انثى يظهرفيها تشوه في الاجنحة ناتج من معاملة دور العذراء بعمر 24 ساعة بفطر *Metarhizium anisopliae* بتركيز$10^{1}$ بوغ/مل قوة التكبير بالمجهر التشريحي X160.**


**المصادر:**

1.القيسي،مهدي ضمد . 2000.الافات المستقبلية لتصنيع البقوليات ودورها في الامن الغذائي . مجلة الزراعة والتنمية في الوطن العربي العدد 3 , ص 50-55.

2.Southgate, B.J. 1979. Biology of the Bruchidae. Annu. Rev. Entomol 24: 449-472.

3.Murad, André M., Laumann, Raul A., Lima, Thaina de A., Sarmento, Rubia B.C., Noronha, Eliane F., Rocha,Thales L., Valadares-Inglis, Maria C. and Franco, Octávio L. 2006. Screening of entomopathogenic *Metarhizium anisopliae* isolates and proteomic analysis of secretion synthesized in response to cowpea weevil(*Callosobruchus maculatus*) exoskeleton. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C 142 :365–370.

4.Edde, P. A. and Bello, M. 2001. Relative Resistance of Some Cowpea Varieties *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Sustainable Agriculture,17 : 67 -77.

5.Skrobek, A, S, Farooq A. and Butt, Tariq M. 2008. Destruxin production by the entomogenous fungus *Metarhizium anisopliae* in insects and factors influencing their degradation. BioControl.53:361–373.

6.محمود ، عماد احمد . 1989. آلية مقاومة بعض انواع بذور البقول لخنفساء اللوبياء الجنوبية *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera : Bruchidae) . اطروحة دكتوراه ، كلية العلوم / جامعة بغداد.

7.Lord , J. C., 2007. Desiccation increases the efficacy *Beauveria bassiana* for stored – grain pest insect control . Journal of stored product Research.43: 535-539.

8.SAS. 2004. SAS / STAT Users Guide for Personal Computers. Release 7.0. SAS Institute Inc., Cary, NC., USA. (SAS = Statistical Analysis System).

9.Boucias, D, G, and pendland, J, . 1998. Principles of Insects. Pathology .Kluwer Academic Publisher. Boston \ Dordeant \ London .500 pp.

10.Hajek,A.E., Jennifer Lund, M.,and Smith,T. 2008. Reduction in fitness of female Asian longhorned beetle (*Anoplophora glabripennis*) infected with *Metarhizium anisopliae*. Journal of Invertebrate Pathology 98 :198– 205.

11.شعبان ، عواد والملاح , نزار مصطفى . 1993. المبيدات . وزاره التعليم العالي والبحث العلمي ، دار الكتب للطباعة والنشر ، جامعة الموصل . 520 صفحة.

12.Jayanth,K.P. and Ali,G.,.1994.Life table of the Parthenium beetle, *Zygogramma bicolorata Pallister* (Coleoptera:Chrysomelidae) in Bangalore,India.Insect Science and It's Application.15(1):19-23.

13.Samules, R.,I.,.1998. A sensitive ioassay for destruxine cyclodeposipeptides from the culture filtrates of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. Anais da Socidade Entomologica do Brasil , Print version . An. Soc Entomol . bras . 27 (2) Londrina June.

# Effect of fungus *Metarhizum anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin and actelic insecticide in pupa ages of 24 and 120 hours of *Callosobruchus maculatus* Fab. (Coleoptera : Bruchidae)

***Emad A. Mahmood**** ***Hussam Elldeen A. Mahmood*****
***Marwa Thamer Abd-Alstar.AL-Naami*******

*Prof,college of science for women \Baghdad university.
**assistant prof,college of agriculture \Baghdad university.
*** college of science for women \Baghdad university

## Abstract:

This study was perform to defined the effect of fungus *Metarhizium anisopliae* Sorokin with concentrations $5x10^1$, $5x10^3$ and $5x10^5$ spore /ml and Actelic insecticide with concentration 0.001% in pupa stages of *Callosobruchus maculatus* in pupa ages of 24 and 120 hours the results of the study showed the following: the highest killing rate of treated pupa in age 120 hours 100% at concentration $10^5$ spore /ml. observation for distortions in the adult insects from the pupa that treated with fungal concentration like wings and abdominal distortion , the concentration of fungal effect on the number of eggs that production from adults and percentage of hatching.