

Effect of *Nomuraea rileyi*, *Bacillus thuringiensis* on larvae and Adult Wax Moth *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae)

تأثير الفطر *Nomuraea rileyi* والبكتريا *Bacillus thuringiensis* في يرقات و
بالغات دودة الشمع الكبرى (*Galleria mellonella*) (Lepidoptera:Pyralidae)

محمد عبد الجليل محمود حسنين طاهر كريم * حسن هادي فرج

قسم وقاية النبات

كلية الزراعة – جامعة بغداد كلية الزراعة- جامعة واسط واسط - الكوت – حي الخليج العربي

hassnentaher@yahoo.com

*البحث مستل من رسالة الماجستير للباحث الثاني

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة في كلية الزراعة – جامعة بغداد لبيان تأثير المسببات المرضية (الفطر *Nomuraea rileyi*) (الذي تم عزله مختبرياً من يرقات مصابة به بشكل طبيعي) بالتركيز 10×159.1 و البكتريا *Bacillus thuringiensis* Kurstaki بالتركيز الموصى به) في يرقات وبالغات دودة الشمع الكبرى *Galleria mellonella* داخل المختبر وقد أشارت النتائج المختبرية إلى تفوق طريقة معاملة اليرقات بالفطر على طريقة معاملتها بالبكتريا حيث أعطت إضافة الفطر إلى الغذاء في زيادة نسبة اليرقات الميتة والتي حققت نسبة قتل لليرقات بلغت 61.43% عن معاملة رش الفطر على اليرقات والتي حققت نسبة قتل بلغت 50.71% ، و تفوقت معاملة إضافة البكتريا *Bacillus thuringiensis* Kurstaki إلى الغذاء في زيادة نسبة اليرقات الميتة والتي حققت نسبة موت لليرقات بلغت 53.3% ، بينما في معاملة الرش المباشر لمعلق البكتريا على اليرقات حققت نسبة بلغت 28.6% . ومن خلال النتائج ظهر أن البكتريا *Bacillus thuringiensis* Kurstaki كان لها التأثير الأكبر في البالغات (الإناث) المعاملة فقد بلغت أعمار الإناث المعاملة 4.33 يوماً في معاملة (ذكر معاملة مع أنثى معاملة) وأعمار الإناث المعاملة 4.67 يوماً في معاملة (ذكر سليم مع أنثى معاملة) ، وأوضحت النتائج إن تأثيرهما على أفراد الجيل الثاني كان كبيراً قياساً بالعوامل الأخرى إذ كان معدل عمر الإناث في المعاملة (0.0) يوم والنسبة المئوية للبيض غير الفاقس 100. بينما أعطت معاملة الفطر *Nomuraea rileyi* للبالغات أقل معدل عمر للإناث بلغ 13.00 يوماً في المعاملة ذكور سليمة مع إناث معاملة .

Abstract

A laboratory study was done in the college of Agriculture, University of Baghdad to explain the impact of the pathogens, *Nomuraea rileyi* (which was isolated laboratory of larvae infected by naturally) with 159.1×10^5 spores, *Bacillus thuringiensis* Kurstaki with concentration recommended on larvae and adult wax moth *Galleria mellonella*. Results showed that when treated the larvae and adults wax moth *Galleria mellonella* results to outweigh the treatment of larvae fungus on its treatment with bacteria which gave Add the fungi to food in increasing the proportion of larvae dead and which achieved percentage kill the larvae reached 61.43% for the treatment of spray-Fitr on larvae which achieved percentage killed was 50.71%, and excelled treatment add bacteria *Bacillus thuringiensis* Kurstaki to food in increasing the proportion of dead larvae, which achieved a death rate of larvae reached 53.3%, while in the treatment of direct spraying bacteria commentator on larvae achieved a rate of 28.6%. Results also indicated that *B. thuringiensis* Kurstaki had the height impact on adults (females) treatment has reached the age of female treatment 1.33, 4.33 days, respectively in the treatment of (male treated with female treated) and ages of females 1.33, 4.67 days, respectively in the treatment of (male un treated with female treatment).

Results also showed that the impact on members of the second generation was significant compared to other factors where the average life span of females in both (0.0) day on the percentage of eggs is un hatching 100 . While transaction gave *Nomuraea rileyi* adult lower the average age for females was 13.00 days in treatment healthy males with females (male un treated with female treatment).

المقدمة

تعد دودة الشمع الكبرى (*Galleria mellonella* (L.) أحد الآفات المهمة التي تصيب أقراص الشمع لطوائف نحل العسل ولها 5-6 أجيال في السنة (13). وهي من الآفات الاقتصادية الدائمة والمهمة التي تهاجم أقراص الشمع وحبوب اللقاح داخل خلايا نحل العسل الضعيفة وفي المخزن وإن الضرر الأكبر الذي تسببه هذه الآفة هو مهاجمة الإطارات المخزونة وكتل الشمع المخزون وتحفر في الخشب الذي تصنع منه الخلايا والإطارات لتستقر العذارى فيه وتتغذى اليرقات على الشمع وحبوب اللقاح المخزون داخل الأقراص محدثةً أنفاقاً تبنيها من خيوط حريرية تنتقل داخلها من مكان لآخر داخل القرص مسببة تلف العيون السداسية وإضعاف الخلايا النشيطة وهلاك الخلايا الضعيفة وقد تؤدي إلى ترك الطائفة لخليتها كما أن الإصابة بهذه الحشرة قد تؤدي حالات تعفن وتهدراً للإطارات نتيجة لدخول الفطريات والمسببات المرضية الأخرى وأن سيلان العسل وسوائل أجسام يرقات النحل من العيون السداسية التالفة يؤدي إلى مضاعفة الضرر فتحدث حالة تعفن عام في الإطارات والخلية بشكل كبير، تحفر اليرقات في خشب الخلية قبيل التشرنق لتستقر فيه

وتفرز شرانقها (3) و(35)، إن دودة الشمع الكبرى أهم آفة تهاجم الإطارات الشمعية للنحل في اغلب مناطق تربية النحل بالعالم وتكون السبب في أحوال كثيرة في مغادرة النحل للخلية و هجرتها فيما إذا كانت الطائفة ضعيفة (12)، و ذكر (28) إن هذه الآفة شديدة الضرر على الإطارات المخزونة وعموماً تنتشر في المناخ المعتدل وتستمر بنشاطها على طول أيام السنة تقريباً وخلية النحل القوية تحفظ نفسها من دودة الشمع بفضل نشاط الشغالات التي تزيلها بشكل دوري وبذلك لا تجعل من مجتمع الآفة ينمو، وتنتشر الحشرة في الخلايا الضعيفة التي ضعفت بسبب (المبيدات الكيميائية، قلة الغذاء، ضعف الملكة).

إن مكافحة الكيمائية من أكثر الطرائق استعمالاً في مكافحة هذه الحشرة والتي تمتاز بارتفاع أسعارها وقد تطلب ترتيباً خاصاً لاستعمالها واحتمال وصول هذه المبيدات إلى العسل، ومن هذه المبيدات بروميد الميثيل وفوسفات الألمنيوم و *Paradichlorobenzene* و *Calcium cyanide* وغيرها (4)

إن الإضرار الناتجة من استعمال المبيدات مثل تلويث البيئة وظهور الآفات المقاومة والسمية والتسمم للكائنات غير المستهدفة فضلاً على الرواسب السمية للإنسان والحيوان أدت إلى البحث عن عوامل مقاومة أكثر أماناً على البيئة والأعداء الطبيعية وصحة الإنسان مثل الفطريات الممرضة للحشرات والبكتيريا والنيماتودا والفايروسات (27).

ونظراً للسلبات الناتجة من استعمال المبيدات الكيميائية أصبحت المقاومة الحيوية أكثر ضرورة لاستعمالها في إدارة الآفات أكثر من استعمال المبيدات الحشرية الكيميائية (19)، فقد استعمل الفطر *Beauveria bassiana* في مكافحة دودة الشمع الكبرى وقد أعطى نتائج جيدة في قتل اليرقات، بينما استعملت البكتيريا *Bacillus thuringiensis* من قبل (6) لحماية الأقراص الشمعية في المخزن من الإصابة بهذه الحشرة.

ونتيجة لانتشار هذه الحشرة بشكل واسع في معظم محافظات العراق في الخلايا وفي المخازن ولأغلب أشهر السنة لملاءمة الظروف البيئية لها ونظراً لتزايد القيمة الاقتصادية للأضرار التي تحدث للإطارات بسبب الإصابة بدودة الشمع الكبرى وانطلاقاً من أهمية هذه الآفة ولغرض التوصل إلى طرائق مكافحة حديثة آمنة على الإنسان والبيئة كبداية للمبيدات الكيميائية والتي من الممكن أن تتكامل مع بعضها وتكون فعالة للحد من الإصابة وتقليل أضرارها، ولعدم وجود الدراسات التفصيلية والتطبيقية في العراق في مجال استعمال الفطريات والبكتيريا والنيماتودا لذا هدفت الدراسة إلى تقييم كفاءة بعض عوامل مكافحة الأحيائية في السيطرة على بعض جوانب الإداء الحياتي لدودة الشمع الكبرى. ولقد درست بصورة واسعة معظم الفطريات الممرضة للحشرات لاستعمالها كعناصر مقاومة حيوية ومن هذه الفطريات *Nomuraea rileyi* (21).

ذكر (23) إن الممرضات الحشرية الفطرية مثل *Verticillium lecanii* و *Nomuraea rileyi* أصبحت منتشرة ووأعدده في القضاء على الآفات الحشرية، وذكر (34) إن الفطر *Nomuraea rileyi* من الفطريات الممرضة للحشرات والذي يمتلك القدرة العالية لاستخدامه في برامج مكافحة المتكاملة للآفات بسبب امتلاكها طريقة التأثير الخاصة هو موجود في مناطق عديدة من العالم. وانه يمتلك القدرة على السيطرة على 30 نوعاً مختلف من يرقات حرشفية الأجنحة (15 و 31). طورت معظم الفطريات الممرضة للحشرات بشكل تجاري للمكافحة الحيوية وأثبتت عدم تأثيرها في الفطريات بعد إجراء عدة اختبارات وضمنها الفطر *N.rileyi* (20).

المواد وطرائق العمل

1- دودة الشمع الكبرى *Galleria mellonella*

تربيته اليرقات

للحصول على الأطوار اليرقية المختلفة لإغراض الدراسة تم عزل البيض الموضوع على ورق مقوى من البالغات المراباة ووضع الورق المقوى في إطباق زجاجية معقمة ووضعت معه كمية قليلة (20 غم) من الشمع الداكن وبعد فقس البيض ربيت الأطوار اليرقية المختلفة وأجريت الدراسة الحياتية والمعاملات المختلفة عليها وتضمنت عدد الأطوار اليرقية ومدة كل طور وأخذت قياسات أطوال الجسم لكل طور يرقي على حدة وشملت (طول جسم اليرقة وعرضها وعرض كبسولة الرأس) و أخذت القياسات باستخدام الورق البياني والمسطرة المدرجة، واعتمد عرض كبسولة الرأس في تحديد عدد الأطوار اليرقية.

تربية البالغات

للحصول على البالغات وتربيتها تم عزل عدد من العذارى من الوسط الغذائي الطبيعي (شمع حاوي على حبوب لقاح) في قناني زجاجية معقمة قطرها 8 سم وارتفاعها 15 سم وبمعدل ثلاث عذارى في كل قنينة وتمت مراقبتها لحين البزوغ، ثم نقل البالغات البازغة إلى قناني أخرى بعد عزل الإناث عن الذكور، وتم إجراء القياسات المختلفة على أجسام كل منها (طول وعرض الجسم وعرض الأجنحة ولونها) لتمييز الأنثى عن الذكر ومدة حياتها .

2- الفطر *Nomuraea rileyi*

معاملة ادوار الحشرة بالفطر *Nomuraea rileyi* تم عزل الفطر من يرقات ظهر عليها أعراض الإصابة متمثلته بقلة الحركة ثم الموت إذ وضعت اليرقات في الكحول الايثيلي تركيز 75% لمدة 15 ثانية وبعدها غسلت اليرقات بالماء المقطر والمعقم لمدة 15 ثانية وتم نقلت إلى محلول القاصر (هايبو كلوريد الصوديوم NaOCl 1%) لمدة دقيقة واحدة ومن ثم نقلت اليرقات إلى ماء مقطر ومعقم لمدة 10 ثانية كررت العملية ثلاث مرات لإزالة بقايا محلول هايبو كلوريد الصوديوم. بعد ذلك نقلت اليرقات إلى طبق بتري يحوي على الوسط ألزري (PDA) المضاف إليه مضاد حيوي (0.02 penicillin) غلقت الأطباق جيدا بوساطة أشرطة البرافين parafilm ووضعت في حاضنة وعلى درجة حرارة 22 ± 3 م⁰ (31). تم إجراء جميع هذه الاختبارات على الفطر الجديد *N. rileyi* (الذي تم عزله من يرقات الطور الخامس لدودة الشمع الكبرى المصابة في الطبيعة) وتم اختياره على ادوار الحشرة ، وتم تشخيص الفطر الجديد باستخدام المفتاح التصنيفي (Key to Major Genera of Fungal Entomopatogens) (22) ومن قبل الدكتور محمد صادق حسن / قسم وقاية النبات - كلية الزراعة - جامعة بغداد.

تحضير المعلق الفطري للفطر

تم تحضير معلق الابواغ الفطري باستعمال طبق بتري حاوي على مستعمرة الفطر النامية النقية وأضيف إليها 5 مل من ماء مقطر معقم وجمعت بعدها الابواغ بواسطة شراج ناقل زجاجي (Loop) بعد المزج ورشح بعدها محتويات الطبق بقطعة من الشاش معقمة ومثبتة على قمع زجاجي معقم موضوع في دورق مخروطي معقم سعة 100 مل ولضمان نزول جميع الابواغ أضيف 5مل ماء مقطر على جوانب قطعة الشاش، اخذ بعدها الراشح الذي يمثل المحلول الأساس stock culture (26) وحساب عدد الابواغ للمعلق الفطري.

تأثير الفطر في الأطوار اليرقية

هيئت الأطوار اليرقية لدودة الشمع وحسب الأعمار من المستعمرة المختبرية التي تم تربيتها واستعمل ثلاثة مكررات لكل تركيز وبواقع 5 يرقة لكل مكرر ولكل طور ونقلت الأطوار اليرقية الأولى والثانية بالفرشاة والأطوار الأخرى بملقط معقم وغذيت اليرقات بالشمع الداكن ووضعت هذه الأدوار بعد معاملتها في جو المختبر وتمت مراقبة الأطوار لحين وصولها إلى دور العذراء وأجري الاختبار بطريقتين:

الأولى :- رش الأطوار اليرقية المختلفة وحسب الأعمار رش مباشر بالتركيز المستعمل ، إما معاملة المقارنة فرشت بماء مقطر معقم فقط حيث عزلت الأطوار اليرقية المختلفة كلا على حده وبواقع ثلاثة مكررات لكل طور وفي كل مكرر 5 يرقات في طبق مجهز بورق ترشيع ثم رشها بالمعلق الفطري مباشرة وعلى بعد 15 سم لضمان تغطية كاملة لليرقات استعمل التركيز 159.1 $\times 10^5$ بوغ/مل.

الثانية :- معاملة رش الغذاء المقدم لليرقات (الشمع الداكن) لتحديد تأثير الفطر في حالة دخوله إلى جسم اليرقة مع الغذاء ، حيث رش الغذاء بالمعلق الفطري ورشت معاملة المقارنة بالماء المقطر وبواقع ثلاثة مكررات في كل طور وفي كل مكرر 5 يرقة سجلت البيانات لكلا المعاملتين (رش وغذاء) وحسب النسبة المئوية لليرقات الميتة.

تأثير المعاملات المختلفة للفطر في البالغات دودة الشمع الكبرى

تمت تهيئة أفراد الحشرة البالغة ذكور وإناث التي لا يتجاوز عمرها 24 ساعة من ووضعت في قناني زجاجية معقمة ذات قطر 8 سم و ارتفاع 15 سم غطيت فوهتها بقماش الموسلين وأجريت عليها المعاملة (معاملة الفطر مع الغذاء) وعزلت حسب المعاملات وكما يأتي : ذكور معاملة مع إناث معاملة ، وذكور معاملة مع إناث سليمة ، ذكور سليمة مع إناث معاملة وبواقع ثلاثة مكررات لكل مكرر زوج واحد ، وكلا على حدة و تمت تغذية الأفراد المعاملة بالفطر على محلول سكري مضاف إليه المعلق الفطري قدم إليها على قطعة قطن مشبعة به قبل جمعها مع الأفراد الأخرى بمدة 3 يوم ، إما الأفراد السليمة فقد جرى تغذيتها على محلول سكري خالي من الفطر وبالمدة والطريقة نفسها.

إما معاملة المقارنة فقد غذيت الذكور والإناث على محلول سكري فقط ، قدمت هذه الأغذية بوساطة قطعة قطن مشبعة قبل عملية التزاوج وضعت قطع من الورق المقوى في المعاملات لوضع البيض عليها. استعمل التركيز $(10 \times 149)^5$ بوغ / مل.

وتم مراقبة المعاملات يوميا لتسجيل متوسط طول عمر البالغات الحية منها ، ومعدل عدد البيض الذي تضعه الإناث بعد التزاوج والنسبة المئوية للبيض غير الفاقس ، ولتحديد مدى تأثير الجيل الثاني تم نقل البيض الناتج من الجيل الأول والموجود على قطع الورق المقوى إلى أطباق أخرى جديدة ومعقمة وانتظاره لحين الوصول إلى دور البالغة وإتمام الدراسة على أفراد هذا الجيل وحساب معدل عمر البالغات وعدد البيض الذي وضعته والنسبة المئوية للبيض غير الفاقس.
تم إجراء فرضيات كوخ على اليرقات الميتة ظهر عليها أعراض المرض للتأكد من أن المسبب للموت هو الفطر وبجميع خطواتها الأربعة.

3- البكتريا *Bacillus thuringiensis*

استعمل المبيد الحيوي العراقي النصر الذي يحتوي على البكتريا *Bacillus thuringiensis kurstaki* (حصل على المبيد من الدكتور حسام الدين عبد الله /كلية الزراعة /جامعة بغداد /قسم وقاية النبات).استعمل المبيد بالتركيز الموصى به 1غم /لتر وحضر بإذابة 1 غم من المبيد في لتر ماء مقطر معقم.

تأثير المعاملات المختلفة للبكتريا *Bacillus thuringiensis* في يرقات دودة الشمع الكبرى

تمت معاملة اليرقات بطريقتين الأولى رش الأطوار اليرقية السبعة كلا على حدة والأخرى معاملة الغذاء وكلا على حدة أيضا حيث استعمل ثلاثة مكررات لكل طور ولكل معاملة وبواقع خمس يرقات لكل مكرر ، إذ وضعت في أطباق بتري قياس 12سم قطرا و 2 سم ارتفاعا للأطوار الثلاث الأولى ، أما الأطوار الأخرى فاستعمل أطباق قطرها 16 سم وارتفاعها 3سم مجهزة بورق ترشيح نقلت الأطوار الأولى والثانية بفرشاة.
المعاملة الأولى :

رشت اليرقات بجميع أطوارها بحجم 1مل وبوساطة مرشاة يدوية معقمة سعة 40 مل بصورة عمودية وعلى بعد 15 سم من المبيد الحيوي كلا على حدة وتم حساب النسبة المئوية لعدد اليرقات الميتة.
المعاملة الثانية:

وضع شمع داكن معقم بالتجميد بمقدار 0.5 غم لكل مكرر للأطوار اليرقية الثلاث الأولى و 1غم لكل مكرر للأطوار اليرقية الأربعة الأخيرة ورش الشمع كلا على حدة ب 0.5 مل لوزن 0.5 غم و 1مل لوزن 1غم شمع وبوساطة مرشاة يدوية سعة 40 مل مخصصة واحدة لكل معاملة بعد تجفيفه بواسطة ورق الترشيح نقلت اليه اليرقات وحسب المعاملات المختلفة وتم حساب نسبة الموت .

تأثير المعاملات المختلفة للبكتريا *Bacillus thuringiensis* في بالغات دودة الشمع الكبرى

تمت تهيئة البالغات و تم عزل الذكور والإناث في قناني زجاجية معقمة كلا على حدة ذات حجم 950 سم³ ارتفاعها 15 سم وقطرها 8 سم مغطاة بغطاء من الموسلين مع رباط مطاطي وتم وضع 1مل من المبيد الإحيائي المستخدم مع المحلول السكري بواسطة مرشاة يدوية سعة 40 مل في القطنه الموضوعه في أعلى القنينة لتغذية البالغات وبعد 3 يوم من المعاملة تم إجراء التزاوج بين الذكور والإناث وحسب المعاملات الآتية وضع ذكر معاملة مع أنثى معاملة ، وذكر معاملة مع أنثى سليمة ، وذكر سليم مع أنثى معاملة وبواقع ثلاثة مكررات وفي كل مكرر زوج واحد (أنثى وذكر) وتم وضع قطع من الورق المقوى في قاعدة القنينة من اجل وضع البيض عليها وتم حساب الفترة التي تستغرقها الأنثى لحين البدء بوضع البيض ومعدل عدد البيض الذي تضعه الأنثى والنسبة المئوية للبيض الغير فقس البيض لتحديد مدى تأثير البالغات .

تم حساب عدد البيض الموضوع من قبل الإناث في كل مجموعة والنسبة المئوية للفقس ومتابعة الأدوار الناتجة من هذا البيض لحين وصوله إلى البالغة وضعها للبيض والذي يمثل الجيل الثاني والنسبة المئوية لفقس هذا البيض لدراسة فيما إذا كان هنالك اثر متبقي للبكتريا على الحشرة. تم حساب النسبة المئوية للموت ولجميع التجارب حسب المعادلة :

عدد الحشرات الميتة

$$\% \text{ للموت} = \frac{\text{عدد الحشرات الميتة}}{\text{العدد الكلي}} \times 100$$

وصححت النسب المئوية للموت ولكافة الأدوار ولكل المعاملات الخاصة بالمعلقات الإحيائية والمبيد Schneider- حسب معادلة Orellis:

$$\% \text{ للموت في المعاملة} - \% \text{ للموت في المقارنة} \\ \% \text{ للموت المصححة} = \frac{\% \text{ للموت في المعاملة} - \% \text{ للموت في المقارنة}}{100} \times 100$$

4- التصميم والتحليل الإحصائي:

أُعمدَ التصميم العشوائي الكامل (CRD) Completely Randomized Design في جميع الدراسات المختبرية ، وحللت النتائج إحصائياً باستعمال جدول تحليل التباين (ANOVA Table) وقورنت النتائج باستعمال معيار أقل فرق معنوي L.S.D على مستوى (0.05) لاختيار المعنوية في مقارنة النتائج (5) .

النتائج والمناقشة

تأثير الفطر *Nomuraea rileyi* في الأطوار اليرقية لدودة الشمع الكبرى

أظهرت نتائج جدول (1) تفوق معاملة إضافة الفطر إلى الغذاء في زيادة نسبة اليرقات الميتة والتي حققت نسبة قتل لليرقات بلغت 61.43% عن معاملة رش الفطر على اليرقات والتي حققت نسبة قتل بلغت 50.71% ، قد يعود السبب في ذلك إلى أن وجود الفطر على الشمع يحفز على إنتاج عدد من السموم التي تؤدي إلى قتل الحشرة وهذا يتفق مع ما أكده (33) إن الفطر ينتج سموم عند استعماله ضد *Sodoptera littoralis* وأكد (18) عندما لوث غذاء حشرة *Helicoverpa armigera* أعطت المعاملة نسب موت عالية ، وذكر (24) يصل الفطر إلى الحشرة بثلاث آليات ، الأولى المعاملة المباشرة للحشرة والثانية الحركة على السطوح المعاملة أما الثالثة فهي التغذية والحركة على الأنسجة النباتية المعاملة بالفطر.

أما تأثير الفطر في أطوار الحشرة فيلاحظ أن أعلى نسبة قتل لليرقات كانت في الطور الثاني والثالث بلغت 89.2% ، 66.7% بالتتابع مقارنةً بأقل نسبة قتل في الطور السابع بلغت 36.7%، قد يعود السبب إلى ضعف طبقة الكايتين في جدار الجسم مما يجعلها أكثر حساسية أمام اختراق الفطريات ومن ثم ارتفاع نسب القتل بها وهذا ما أكده (1) عندما استعمل الفطر لمكافحة يرقات حفار ساق الذرة بلغت 46.0 للأطوار الأولى.

أما التداخل بين المعاملات المختلفة والأطوار فقد أظهرت معاملة رش اليرقات بالفطر أعلى نسبة قتل في الطور الثاني والتي بلغت 100% وكانت أقل نسبة قتل في الطور الأول حيث بلغت 20%، وهذا يتفق مع (36) عندما استعمل الفطر لمكافحة الطور الثاني لحشرة *Gypsy mouth* والذي أعطى نسبة موت 100%، بينما أعطت معاملة رش الغذاء بالفطر أعلى نسبة قتل لليرقات في الطور الثالث بلغت 86.7% وأقل نسبة قتل في الطور السابع بلغت 20%.

جدول (1) تأثير طريقة المعاملة الفطر *Nomuraea rileyi* في الأطوار المختلفة ليرقات دودة الشمع الكبرى

المعدل	النسبة المئوية لقتل اليرقات							التركيز	المعاملة
	الطور 7	الطور 6	الطور 5	الطور 4	الطور 3	الطور 2	الطور 1		
50.71	53.3	35.0	53.3	46.7	46.7	100	20.0	10×159.1 ⁵	الرش المباشر
61.43	20.0	60.0	53.3	53.3	86.7	78.3	78.3	10×159.1 ⁵	رش غذاء
	36.7	47.5	53.3	50.0	66.7	89.2	49.2		المعدل
	المعاملات × الأطوار = 21.08			الأطوار = 14.91		المعاملات = 7.97			L.S.D

تأثير الفطر *Nomuraea rileyi* في البالغات دودة الشمع الكبرى

أظهرت نتائج الجدول (2) وجود فروق معنوية بين المعاملات فقد أعطت المعاملة ذكور سليمة مع إناث معاملة أقل معدل عمر للإناث بلغ 13.00 يوماً ، بينما أعطت معاملة الذكور المعاملة مع الإناث السليمة معدل عمر بلغ 18.67 يوماً ، وقد يعود سبب قصر عمر الإناث المعاملة إلى التلف الحاصل في جسمها نتيجة دخول الفطر وإفرازه السموم إلى جسمها قياساً بمعاملة المقارنة بلغت 24.00 يوم ، وهذا يتفق مع ما وجدته (30) الذي بين انخفاض معنوي في طول عمر البالغات في حشرة *Spodoptera littoralis* عند استعماله الفطر *N. rileyi* .

بينما اثبت التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية في عمر الذكور وكذلك عدم وجود فروق معنوية في عدد البيض الموضوع للجيل الأول والنسبة المئوية لفقسه.

أما معدل عمر الإناث الجيل الثاني فقد اختلفت معنوياً إذ أعطت المعاملة ذكور معاملة مع إناث معاملة و ذكور سليمة مع إناث معاملة معدل بلغ 6.00 و 6.33 يوماً على التوالي وأعطت المعاملة ذكور معاملة مع إناث سليمة معدل عمر بلغ 8.67 يوماً قياساً بمعاملة المقارنة بلغت 20.33 يوماً، أما معدل عمر الذكور للجيل الثاني فقد اختلفت معنوياً حيث أعطت المعاملة ذكور سليمة مع إناث معاملة أقل معدل عمر بلغ 8.67 يوماً وأعطت المعاملة ذكور معاملة مع إناث سليمة معدل عمر بلغ 13.67 يوم قياساً بمعاملة المقارنة بلغ 29 يوماً.

أما معدل عدد البيض للجيل الثاني فقد اختلفت معنوياً فقد أعطت المعاملة ذكور سليمة مع إناث معاملة أقل معدل بلغ 256.7 بيضة بينما أعطت المعاملة ذكور معاملة مع إناث معاملة معدل عدد بيض بلغ 535.3 بيضة قياساً بمعاملة المقارنة بلغت 690.7 بيضة.

أما النسبة المئوية لعدد البيض غير الفاقس للجيل الثاني فقد اختلفت معنوياً إذ أعطت المعاملة ذكور معاملة مع إناث معاملة وذكور معاملة مع إناث سليمة أعلى نسبة بلغت 6.59 و 6.17 % على التوالي وأقل نسبة بلغ 2.84 % في معاملة ذكور سليمة مع إناث معاملة قياساً بمعاملة المقارنة والتي بلغت 1.20 %، قد يعود السبب إلى تأثير السم الفطري المنتقل إلى الجيل الثاني وهذا يتفق مع نتائج (7) عند استعمال الفطر *Verticillium lecani* على بالغات دودة اللوز القرنفلية لاحظ انخفاضاً في عدد البيض الموضوع لكل أنثى وقلة البيض الفاقس واثراً في معدل طول عمر الحشرات البالغة.

جدول (2) تأثير الفطر *Nomuraea rileyi* في بالغات دودة الشمع الكبرى والأفراد الناتجة منها

المعاملات	عمر الأنثى/يوم	عمر الذكر/يوم	عدد البيض	% البيض الفاقس	عمر الأنثى/ج2	عمر الذكر/ج2	عدد البيض/ج2	% البيض الغير فاقس/ج2
ذكور معاملة × إناث معاملة	14.00	28.7	223.	9.1	6.00	10.00	535.3	6.59
ذكور معاملة × إناث سليمة	18.67	42.7	445.	7.4	8.67	13.67	410.0	6.17
ذكور سليمة × إناث معاملة	13.00	28.0	250.	5.3	6.33	8.67	256.7	2.84
المقارنة ذكور سليمة × إناث سليمة	24.00	36.3	560.	0.6	20.33	29.00	690.7	1.20
L.S.D	6.268	غ.م	غ.م	غ.م	4.612	4.952	30.98	0.85

تأثير بكتريا *Bacillus thuringiensis* (Kurstaki) في الأطوار اليرقية لدودة الشمع الكبرى

يلاحظ من الجدول (3) تفوق معاملة إضافة البكتريا *B. thuringiensis* (Kurstaki) إلى الغذاء في زيادة نسبة اليرقات الميتة والتي حققت نسبة موت لليرقات بلغت 53.3 % يرقة، بينما في معاملة الرش المباشر لمعلق البكتريا على اليرقات حققت نسبة بلغت 28.6 % يرقة، وان سبب التفوق يعود إلى سهولة دخول البكتريا إلى داخل جسم اليرقة عن طريق الفم بشكل أسهل من دخولها من خلال جدار الجسم في معاملة الرش، وهذا يتفق مع ما وجدته (27) الذي أشار إلى أن البكتريا التي تدخل عن طريق فم الحشرات في أثناء تغذيتها يتحلل جدارها في المعدة الوسطى (Midgut) عن طريق أنزيمات التحلل البروتيني Protienase محررة أنواعاً من السموم (حيث يتحول البروتين الأولي للسم إلى بروتين نشط) مسببة تغييرات في القناة الهضمية لليرقة مثل الشلل السريع للمعدة خلال ساعة أو أقل من ابتلاع البكتريا يعقب ذلك توقف الحشرة عن التغذية.

وكذلك تتفق مع نتائج (25) الذي أوضح إن البكتريا *Bacillus thuringiensis* (Berliner) تدخل جسم الحشرة عن طريق ابتلاع البكتريا من قبل العائل وفرز مركبات بروتينية سامة (Toxins).

أما تأثير المعلق البكتيري في الأطوار اليرقية المختلفة للحشرة ولكلا المعاملتين (الرش والغذاء) فنلاحظ أن أعلى معدل قتل لليرقات كانت في الطور الثاني والأول والثالث والتي بلغت 82.5 و 54.2 و 53.3 % على التوالي، بينما كانت الأطوار السادس والسابع أقل الأطوار تأثراً بالبكتريا وبلغ معدل القتل 13.3 % لكل منهما، وقد يعود السبب في هذا الاختلاف بين الأطوار إلى كون الطور الأول والثاني والثالث أطوار حديثة البزوغ وذات أنسجة ضعيفة أو قد يكون عدد الخلايا الدفاعية في أجسام هذه الأطوار قليلة مقارنة بالأطوار اليرقية الأخرى اللاحقة، وهذا يتفق مع ما وجدته (16) الذي ذكر إن البكتريا *B. thuringiensis* لها تأثير أقوى في الأطوار اليرقية المبكرة لدودة الشمع وأنواع مختلفة من العث.

أما تأثير التداخل بين المعاملات المختلفة وأطوار الحشرة فيلاحظ أن معاملة رش اليرقات بالمعلق البكتيري قد اختلفت في تأثيره في أطوار الحشرة معنوياً، إذ حققت معاملة الرش المباشر أعلى نسبة لقتل اليرقات في الطور الثاني والتي بلغت 65.0 %، بينما كانت أقل نسبة قتل في الطور الخامس والسابع والتي بلغت 6.66 %، قد يعود السبب إلى دخول البكتريا عن طريق الفم أو الثغور التنفسية.

أما معاملة الغذاء فقد اختلفت معنوياً في تأثيرها في الأطوار المختلفة للحشرة، إذ حققت المعاملة أعلى نسبة للقتل في الطور الثاني والأول والثالث بلغت 100 %، 73.33 %، 66.67 % على التوالي، بينما أقل نسبة للقتل في الطور السادس بلغت 13.33 %، وهذا يعود إلى سهولة دخول البكتريا عن طريق الفم إلى داخل الجسم.

ويتفق مع ما وجدته (26)، الذي أشار إلى أن تأثير المستحضر التجاري (Certan) للبكتريا (*Bacillus thuringiensis* Berliner) في الأعمار الثلاثة الأولى ليرقات دودة الشمع الكبرى (*Galleria mellonella* L.) كان واضحاً و تم الحصول على نسبة قتل 100% خلال فترة أربعة أيام، إلا أن العمر اليرقي الثاني كان أكثر الأعمار حساسية للمبيد الإحيائي ويتفق مع ما بينه (11) في تجربة باستعمال المستحضر البكتيرية Certan ضد يرقات دودة الشمع الكبرى المستعمل بمعدل 1 مل لكل 100 مل ماء أعطى نسبة قتل وصلت إلى 73.3% في الطور اليرقي الأول و 43.33% في الطور اليرقي الرابع، وهذا يتفق مع ما وجدته (2) و (10) الذي بين إن استعمال المبيد البكتيري Certan ضد الأطوار اليرقية الثلاث الأولى لدودة الشمع الكبرى وقد اظهر إن الطور الثاني كان أكثر الأطوار اليرقية حساسية تجاه المبيد البكتيري.

قد بين (14) أن البكتريا B.t.(Kurstaki) المستعملة كرش لمكافحة دودة الشمع الكبرى تحت درجة الحرارة 25 ± 2 م⁰ ورطوبة 70 ± 10 % لمكافحة الطور اليرقي الثالث أعطت نسبة الموت 85% عند استعمال 5غم/100مل ماء وعند نقع الإطارات بالبكتريا أعطى نسبة الموت 100%.

جدول (3) تأثير طريقة المعاملة لتركيز البكتريا (*Bacillus thuringiensis*(Kurstaki) في الأطوار المختلفة ليرقات دودة الشمع الكبرى

المعدل	النسبة المئوية لقتل اليرقات							المعاملة
	الطور 7	الطور 6	الطور 5	الطور 4	الطور 3	الطور 2	الطور 1	
28.6	6.66	13.33	6.66	33.33	40.0	65.0	35.0	الرش المباشر
53.3	20	13.33	46.67	53.33	66.67	100	73.33	رش غذاء
	13.3	13.3	26.7	43.3	53.3	82.5	54.2	المعدل
	المعاملة × الطور = 18.70			الطور = 13.22		المعاملات = 7.07		L.S.D

تأثير بكتريا (*Bacillus thuringiensis* (Kurstaki) في بالغات دودة الشمع الكبرى

أظهرت نتائج الجدول (4) عدم وجود فروق معنوية في عمر الإناث وكذلك في عمر الذكور المعاملة، بينما اثبت التحليل وجود فرق معنوي في عدد البيض الموضوع فقد تفوقت المعاملة ذكور سليمة مع إناث معاملة في وضعها اقل معدل عدد بيض بلغ 50 بيضة، بينما المعاملة ذكور معاملة مع إناث معاملة أعطت أعلى معدل بلغ 221 بيضة قياساً بمعاملة المقارنة بلغت 410 بيضة، قد يعود السبب إلى أن السم الذي ينتجه هذه البكتريا يؤثر في تصنيع البروتينات اللازمة لعملية تكوين البيض واستكمال نمو الجنين وهذه النتيجة تتفق مع (9) الذي بين إن بكتريا *Bacillus thuringiensis* تؤثر في معدل عدد البيض الموضوع عند معاملة بالغات دودة البنجر السكري.

أما النسبة المئوية للبيض غير فاقس فقد أعطت جميع المعاملات بالبكتريا نسبة قتل بلغت 100% وبالتالي عدم وصول الحشرة إلى الجيل الثاني بينما بلغت نسبة البيض غير الفاقس في معاملة المقارنة 6.81% وقد يعود السبب إلى تأثير البكتريا في الجهاز التناسلي وهذا ما بين (8) عند استعمال B.t. بجرعات غير مميتة على دودة ورق القطن لتقدير الخصوبة ونسبة فقس البيض للبالغات، وتمت دراسة تشريحية للمبيض والدراسة الهستوباثولوجية (Histopathological) للمناسل في الإناث غير المعاملة والنتيجة من المعاملة المتكرر بالبكتريا، أوضحت النتائج انخفاض شديد في نسبة الخصوبة وإنتاج البيض بينما بين (4) عند استعمال البكتريا على يرقات دودة اللوز الشوكية والقرنفلية لوجود العديد من التغيرات النسيجية المرضية في بعض الخلايا الطلائية وانفصال كامل للخلايا الطلائية عن الغشاء القاعدي وتقطع بعض الخلايا الطلائية والغشاء حول الغذائي وانكماش معظم الخلايا الطلائية وتمزق في العضلات.

جدول (4) تأثير معاملة البالغات بالبكتريا (*Bacillus thuringiensis*(Kurstaki) في حياتية بالغات دودة الشمع الكبرى والأفراد الناتجة منها

المعاملات	عمر الأنثى/يوم	عمر الذكر/يوم	عدد البيض	% البيض غير فاقس/يوم	عمر الأنثى/ج2/يوم	عمر الذكر/ج2/يوم	عدد البيض/ج2	% البيض غير فاقس/ج2
ذكور معاملة × إناث معاملة	4.33	8.33	221	100	-	-	-	-
ذكور معاملة × إناث سليمة	5.67	11.00	85	100	-	-	-	-
ذكور سليمة × إناث معاملة	4.67	6.67	50	100	-	-	-	-
المقارنة ذكور سليمة × إناث سليمة	7.67	13.00	410	6.81	11.33	17.33	661.	2.82
L.S.D	غ.م	غ.م	82.1	0.21	-	-	-	-

المصادر

1. أمين ، عادل طه وإسماعيل عباس جديع .2009. تقويم كفاءة بعض الفطريات الممرضة للحشرات في مكافحة الإحيائية لحشرة الصرصر الألماني (*Blattella (Blattodea:Blattellidae) Germanic (L.)*) تحت ظروف المختبر.مجلة الزراعة العراقية (عدد خاص) 14(3)146-138.
2. تقي ، حقي إسماعيل داوي.2007. تقييم كفاءته بعض طرق مكافحة في السيطرة على دودة الشمع الكبرى *Galleria mellonella(L.)* (Lepidoptera:Pyralidae) وتأثيراتها على نحل العسل. رسالة ماجستير. كلية الزراعة . جامعة بغداد.
3. الجوراني، رضا صكب.1991. تأثيرات مستخلصات نبات الأوس (*Myrtus communis (L.)*) في حشرتي الخابرا ودودة الشمع الكبرى. أطروحة دكتوراه. كلية الزراعة. جامعة بغداد.
4. خوجة ، سليم محمد طاهر وجورج نصر الله رزق و مديحه أبو المكارم رزق وحمدي السعيد محمد حنفي.2006.التأثير النسيجي الممرض لمستحضرات البكتريا (*acillus thuringiensis (Berliner)* ضد دودة اللوز الشوكية والقرنفلية المؤتمر العربي التاسع لعلوم وقاية النبات.19- 23 تشرين الثاني دمشق. جمهورية سوريا العربية.
5. الساهوكي، مدحت و وهيب، كريمة محمد. 1990. تطبيقات في تصميم وتحليل التجارب. دار الحكمة للطباعة والنشر. جامعة بغداد. العراق.صفحة488.
6. عبد الجواد، محفوظ محمد. 1998. اسس وتقنيات انتاج واستخدام الديدان الثعبانية الممرضة للحشرات. مجلة الزراعة والتنمية في الوطن العربي. العددالاول ص39-51.
7. قنديل، ميرفت عبد السميع عبد البر وأميرة محمد رشاد ربيع .2006. دراسات بيولوجية وبيوكيماوية للممرض الفطري فرتسليم وزيت بذرة الكتان ضد دودة اللوز القرنفلية *pectinophora gossypiella* معهد بحوث وقاية النباتات . نادي الصيد . الدقي . جيزة مجلة الفيوم للبحوث والتنمية الزراعية 1 (20) : 228-239.
8. محمد ، احمد أمين ومحمد سيد سلامة ووليد محمد اليسقي ومحمد سعد حامد .2000.التأثيرات الضارة لعزلات من مسببات الأمراض *Bacillus thuringiensis* على الجهاز التناسلي الأنثوي والخصوبة في فراشة ورق القطن *Spodoptera littoralis*. قسم علم الحشرات. كلية العلوم. جامعة عين شمس.16صفحة.
9. محمد علي ، جهينة إدريس.2000. مكافحة الحبيوية لدودة البنجر السكري (*Spodoptera exigua (HUB.)*) باستخدام البكتريا *Bacillus thuringiensis*. اطروحة دكتوراه قسم وقاية النبات .كلية الزراعة .جامعة بغداد.
10. محمود،عماد أحمد وعبد الستار عارف علي و حسام الدين عبد الله. 1985. تأثير البكتريا *Bacillus thuringiensis(Berl.)* على بقاء وتطور دودة الشمع الكبرى (*Galleria mellonella (L.)*) المنتشرة وسط العراق. مجلة بحوث علوم الحياة. 19(2) : 21 – 30.
11. Ahmad, M.; U. Manzoor; A. Ali and M. Ashraf. 1994. Biological control of greater wax moth, *Galleria mellonella (L.)*. J. Agri.Res.Pakistan. 32(3): 319-323.
12. Akwatanakul, P. 1987. Honeybee diseases and enemies in Asia: a practical guide. FAO Agricultural Services Bulletin 68 / 5. FAO: Rome pp.51.
13. Ali, A.M.(13) (1996): Beekeeping in the Sudan. Khartoum University Publications, 239 pp.
14. Brighenti, D.M.; C.C. Freire; C. G. Andrade and B. C. Regina. 2005. Efficiency of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Berliner, 1915) for control of the greater wax moth *Galleria mellonella* (Linnaeus, 1758) (Lepidoptera: Pyralidae). 29(1): 60-68.
15. Devi, P.S.V; Y.G. Prasad; D.A. Chowdary; L.M. Rao and K. Balakrishnan. 2003. Identification of virulent isolates of the entomopathogenic fungus *N. rileyi* (F) Samson for the management of *Helicoverpa armigera* and *Spodoptera litura*.Mycopathol.156(4): 365-373.
16. Glare, T. R. and M. O'Callaghan. 1998. Environmental and health impacts of *Bacillus thuringiensis israelensis*. Report for the Ministry of Health. pp.58.
17. Goodman, R.D.; P. Williams; B.P. Oldroyd and J. Hoffman. 1990. Studies on the use of phosphine for the control of greater wax moth, *Galleria mellonella* in store honeybee comb. American Bee J. 130 (8): 437-477.
18. Hatting, J. 2007. Comparative virulence of three hyphomycetous fungi against the bollworm, *Helicoverpa armigera*, employing topical versus per os inoculation techniques.40TH Annual Meeting of The Society for Invertebrate Pathology and1ST International Forum on Entomopathogenic Nematode and Symbiotic Bacteria.
19. Hu, J.S.Vinson,S.B.1998,The in vitro development from egg to prepupa of *Campoletis sonorensis*(Hymenoptera: Ichneumonidae) in an artificial medium: importance of physical factores .Journal of Physiology, 44: 455–461..

20. Ignoffo, C.M. 1973. Effects of entomopathogens on invertebrates. Annual New York. Academy of Sci.217: 141-164.
21. Inglis, G.D.; M.S. Goettel; M.B. Tariq and H. Strasser. 2001. Use of hyphomycetous fungi for managing insects pest. CAB International, Wallingford. p.23-69.
22. Lacey, L. A. 1997. Biological Techniques. Manual of Techniques in Insect Pathol. Academic Press. USA. pp. 409.
23. Lingappa, S.; H. Saxena and P.S.D. Vimala. 2005. Role of biocontrol agents in management of *Helicoverpa armigera* (Hubner). Recent advances. Indian Society of Pulses Research and development, IIPR ,Kanpur. P.159-184.
24. Long, D.W.; G.A. Drummond and E. Groden. 2000. Horizontal transmission of *Beauveria bassiana* . Agriculture and forest .Entomol. 2:11-17.
25. Lysenko, O. 1959. The mechanism of pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* to wax moth prepupae. J. Insect. Pathol. 5:89-93.
26. Mahmoud, E. A.; A.S.A. Ali and H. E. Abdulla. 1988. Influence of *Bacillus thuringiensis* berliner on survival and development of greater wax moth *Galleria mellonella*. J. Biol. Sci. Res. 19 (2): 17-30.
27. Oppert, B.; K.J. Kramer; D.E. Johnson; S.C. MacIntosh and W.H. Mc Gaughey. 1994. Altered protoxin activation by midgut enzymes from a *Bacillus thuringiensis* resistant strain of *Plodia interpunctella*. Biochem. Biophys. Res. Commun. 198: 940-947.
28. Prasad A. and Nilofer Syed. 2010. Evaluating Prospects of Fungal Biopesticide *Beauveria Bassiana* (Balsamo) Against *Helicoverpa Armiger* (Hubner): An Ecosafe Strategy for Pesticidal Pollution. ASIAN J. EXP. BIOL. SCI. VOL 1 (3) :596-601.
29. Sanford, M.T. 2003. Wax Moth Control University of Florida- Agricultural Sciences. Web Site at <http://edis.ifas.ufl.edu>.
30. Shanthakumar, S.P.; P.D. Murali; S. Malarvannan; V. R. Prabavathy and S. Nair. 2010. Laboratory evaluation on the potential of entomopathogenic fungi, *Nomuraea rileyi* against tobacco caterpillar, *Spodopteralitura Fabricius* (Noctuidae: Lepidoptera) and its safety to *Trichogramma* sp. J. Biopesticides 3(1 Special Issue) 132-137.
31. Srisukchayakul, P. 2005. Studies on the pathogenesis of pathogenesis of the local isolates of *Nomuraea rileyi* against *Spodoptera litura*. Sci Asia. 31: 273-276.
32. Steve, E.; M. Dave; M. El-bouhssini and Z. Sayyadi. 2007. *Beauveria bassiana* for the control of Sunn pest *Eurygaster integriceps* (Hemiptera: Scutelleridae) and aspects of the insect's daily activity relevant to amyco insecticide. Bio Control Sci. and Technol. 17(1): 63-79.
33. Thaithanan, S.; A. Bhumiratana; S. Pantuwatana and C. Wiwat. 2000. Toxicity of Local Isolates of *Nomuraea rileyi* Toward Insect Pests. 12th Annual Meeting of Thai Society for Biotechnology.
34. Toledo, A.V.; E. Virla; R.A. Humber; S.L. Paradell and C.C. Lopez Lastr. 2006. First record of *Clonostachys rosea* (Ascomycota: Hypocreales) as an entomopathogenic fungus of *Oncometopia tucumana* and *Sonesimia grossa* (Hemiptera: Cicadellidae) in Argentina. J. Invert. Pathol. 92: 7-10
35. Warhust, P. and R. Goebel. 1995. The bee book , beekeeping in the warmer areas of Australia. State of Queensland, Department of Primary Industries. pp.244.
36. Watsti, S.S. and G.C. Hartmann. 1978. Host-parasite interaction between larvae of the gypsy moth, *Lymantria dispar* (L.) (Lepidoptera :Lymantridae) and Entomogenous Fungus, *Nomuraea rileyi* (FARLOW) Samson (Moniliales: Moniliaceae) Appl. Ent. Zool. 13 (1):23-28.