تقويم التلقيح بعزلات محلية من الفطر *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill. في مكافحة فراشة درنات البطاطا/البطاطس *Phthorimaea operculella* (Zeller) في الحقل

نسرين السعود[1]، دمر نمور[1] وعلي ياسين علي[2]

(1) جامعة البعث، كلية الزراعة، قسم وقاية النبات، حمص، سورية، البريد الإلكتروني: nisreensoud@gmail.com؛

doummar59@hotmail.com؛ (2) الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، مركز بحوث طرطوس،

سورية، البريد الإلكتروني: alialigermany80@gmail.com

الملخص

السعود، نسرين، دمر نمور وعلي ياسين علي. 2018. تقويم التلقيح بعزلات محلية من الفطر *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill. في مكافحة فراشة درنات البطاطا/البطاطس *Phthorimaea operculella* (Zeller) في الحقل. مجلة وقاية النبات العربية، 36(2): 126–134.

في إطار اختبار كفاءة عزلات محلية من الفطر الممرض للحشرات *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill. في المكافحة البيولوجية لفراشة درنات البطاطا/البطاطس *Phthorimaea operculella* (Zeller) تحت الظروف الحقلية، اعتمدت طريقتين في تلقيح نباتات البطاطا، الأولى رش الدرنات بالفطر قبل الزراعة بالتركيز 1×10^8 بوغة/مل، والثانية رش ورقة حقيقية واحدة من كل نبات بالتركيز المذكور نفسه وذلك باستخدام ثلاث عزلات محلية من الفطر *B. bassiana* خلال العروة الربيعية في مدينة حمص (سورية). أظهرت النتائج كفاءة العزلات في مكافحة الآفة مع تفوق نسبي للعزلة المسماة C على باقي العزلات وفق طريقتي التلقيح، بالإضافة إلى تفوق طريقة تلقيح الأوراق على طريقة تلقيح الدرنات، حيث خفضت طريقة تلقيح الأوراق نسبة الإصابة في الدرنات الناتجة عن النباتات المعاملة بمعدل 51.2%، 50.56 و 46.4% للعزلات C، B و D، على التوالي، في حين خفضت طريقة تلقيح الدرنات نسبة الإصابة بمعدل 30.36، 23.3 و 12.2% للعزلات نفسها، على التوالي. أشارت نتائج هذا البحث إلى أهمية دور العزلات المدروسة للفطر *B. bassiana* كعامل من عوامل الإدارة المتكاملة لفراشة درنات البطاطا تحت الظروف الحقلية.

كلمات مفتاحية: فراشة درنات البطاطا، *Phthorimaea operculella*، *Beauveria bassiana*، مكافحة بيولوجية.

المقدمة

شهد العقدان الأخيران من القرن الحادي والعشرين استخدام المبيدات البيولوجية في برامج الإدارة المتكاملة للآفات الضارة، وترتكز تلك المبيدات على كل من الممرضات الفيروسية الحشرية من مجموعة baculovirus (Carpio *et al.*, 2013)، والممرضات الفطرية مثل *Beauveria* sp. و *Metarhizum* sp. (السعود وآخرون، 2016؛ مهدي ومحمد، 2010).

تُعد طريقة رش المعلق البوغي للفطر على الآفات المستهدفة أو على أوراق النبات أو في التربة أكثر الطرق شيوعاً كأسلوب يؤمّن التصاق اللقاح الفطري بكيوتيكل الحشرة قبل إحداث العدوى. إلا أن أسلوب الرش يتطلب تركيزات عالية من أبواغ الفطر في الوسط المحيط ويتطلب تكلفة عالية من المستحضرات التجارية لا سيما وأنه يتطلب التكرار. لذلك لا تعتبر التطبيقات الحقلية للفطور الممرضة اقتصادية حتى الآن.

تعود الكفاءة الحقلية الضعيفة عموماً لتطبيقات الفطر *B. bassiana* إلى تأثره الكبير بالظروف البيئية كالحرارة والإشعاع الشمسي والتي تحد من فعالية الفطر حتى وإن كان العائل مناسب وشراسة الممرض عالية، مما يجعل ظروف البيوت المحمية والأماكن الظليلة أكثر ملاءمة لإحداث المرض ومكافحة الآفة من الحقول المعرضة لأشعة الشمس المباشرة (Inglis *et al.*, 1997). وبالتالي ونتيجة لجملة الظروف المعقدة من العوامل المحيطة فإن نجاح الفطر في مكافحة آفة ما بنسبة معينة في منطقة جغرافية ما لا يعني بالضرورة نجاحه بالنسبة نفسها في منطقة أخرى، إذ أن الفعالية الحقلية تختلف من منطقة بيئية إلى أخرى (Wraight *et al.*, 2000).

يعد الفطر *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Ascomycota: Hypocereales) أفضل فطر ممرض للحشرات معروف بتعايشه مع النباتات (Ormond *et al.*, 2010؛ Posada *et al.*, 2010). تمّ إدخاله ضمن النباتات كمتعايش داخلي عن طريق تلقيح

http://dx.doi.org/10.22268/AJPP-036.2.126134
© 2018 الجمعية العربية لوقاية النبات Arab Society for Plant Protection

النبات بمعلق أبواغ الفطر. يوجد عدة أساليب للتلقيح منها غمر الجذور والريزومات والدرنات (السعود وآخرون، 2016؛ Akello *et al*., 2007)، غمر البذور (Tefera & Vidal, 2009)، دهن البذور (Brownbridge *et al*., 2012)، معاملة التربة (Tefera & Vidal, 2009) وحقن الساق (Posada *et al*., 2007) أو رش الأوراق (Klieber & Reineke, 2016) أو الأزهار (Posada *et al*., 2010). فيما يخص نبات البطاطا/البطاطس فقد نجح أسلوب تلقيح الدرنات قبل الزراعة وتلقيح الأوراق بإحداث تعايش داخلي للفطر *B. bassiana* بنسب متفاوتة في الاختبارات نصف الحقلية (السعود وآخرون، 2017b). وعموماً لم يتم ملاحظة آثار جانبية سلبية لهذا التعايش على النبات المعامل (السعود وآخرون، 2017b؛ Klieber & Reineke, 2016؛ Tefera & Vidal, 2009).

يتم من خلال تعايش الفطر ضمن النبات تبادل المنفعة بينهما، حيث يقدم الفطر مصدراً لمركبات طبيعية مضادة للميكروبات وأخرى مضادة للسرطانات أو قاتلة للخلايا أو مبيدة للحشرات وبعض تلك الفطور الصديقة للنبات المتعايشة معه تنتج أو تحفز النبات على إنتاج الفيتوالكسينات والتربينات التي تحد من نمو العوامل الممرضة. في المقابل يقدم النبات حماية للفطر من التأثيرات المباشرة للعوامل البيئية (Zhao *et al*., 2011؛ Li *et al*., 2015). يمكن الاستفادة من أسلوب تطبيق تلقيح النباتات بالفطر لوقاية النباتات من الإصابات بتكلفة منخفضة مقارنة بطرق الرش العادية.

بالرغم من وجود نتائج مشجعة لإدخال الفطر *B. bassiana* إلى العديد من النباتات بغرض مكافحة الأطوار المختلفة لعدد كبير من الآفات، مثل استخدامه على نباتات الذرة في الأرجنتين بغرض مكافحة الجراد (Pelizza *et al*., 2017)، إلا أن معظمها لم يتعدَ الدراسات المخبرية أو التجارب الحقلية ضمن أصص معقمة في البيوت الزجاجية. لذلك تعتبر تطبيقات رش مستحضرات الفطر في الحقل إلى الآن محدودة على مساحات صغيرة وأعطى بعضها كفاءة في ضبط بعض مجتمعات الآفات مثل مكافحة الذبابة البيضاء *Bemisia argentifolii* (Bellows & Perring) على القرعيات بنسبة تجاوزت 90% على الحوريات (Wraight *et al*., 2000). وفي المكافحة الحقلية لخنفساء الكولورادو *Leptinotarsa decemlineata* (Say) حيث وصلت فعالية التطبيق إلى 65%عند استخدام مستحضر المستحلب الزيتي للفطر رشاً لثلاث مرات بمعدل عالي 5×10^{13} بوغة/هكتار (Wraight & Ramos, 2002). وفي مكافحة الآفات الصحية مثل الأكاروس *Ixode scapularis* (Say) المسبب للمرض الجلدي Lyma للإنسان والحيوان حيث نجح الفطر *B. bassiana* في مكافحته عند رشه على الأعشاب الخضراء بنسب تراوحت بين 74.5 و90% بحسب طريقة المعاملة وبحسب المستحضر المستخدم (Stafford & Allan, 2010)، ومؤخراً في سورية بهدف تخفيض الإصابة بحافرة أوراق البندورة/الطماطم *Tuta absoluta* تم رش أوراق كل نبات مرتين بمعدل 20 مل/نبات بالتركيز 2.5×10^{7} بوغة/مل من العزلتين EPH1 وEPA2 مما خفض معدل إصابة الأوراق 50% عن الشاهد ومعدل إصابة الثمار 90% (العيسى وآخرون، 2017).

تعد فراشة درنات البطاطا/البطاطس *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Gelechiidae: Lepidoptera) (Rondon, 2010) آفة عالمية الانتشار، تتسبب بأضرار فادحة على البطاطا في الحقل والمخزن (Das & Raman, 1994؛ Sporleder *et al*., 2008)، وتتطلب هذه الآفة تطوير أساليب مختلفة لمكافحتها أو الحد من أضرارها إلى ما دون عتبة الضرر الاقتصادي في الحقل. لقد سبق وأن أثبتت الممرضات الفطرية بما فيها *B. bassiana* فعالية في مكافحة الأطوار المختلفة لفراشة درنات البطاطا في المختبر (السعود وآخرون، 2016؛ السعود وآخرون 2017a، 2017b، 2017c؛ مهدي ومحمد، 2010) كما سبق وتمّ إثبات قابلية الفطر *B. bassiana* للتعايش ضمن نبات البطاطا المزروعة في أصص معقمة (السعود وآخرون، 2017c).

هدف هذا البحث إلى دراسة كفاءة تلقيح نباتات البطاطا بثلاث عزلات محلية من الفطر الممرض للحشرات *B. bassiana* في مكافحة فراشة درنات البطاطا تحت ظروف الحقل.

مواد البحث وطرائقه

بلغت المساحة الإجمالية لأرض التجربة 250 م^2 تمّ تقسيمها إلى ثمان قطع تجريبية صغيرة، بلغت مساحة القطعة التجريبية 10 م^2 تبعد عن بعضها مسافة 2 م، كما يوجد ممر طولي بين القطع بعرض 4 م. تمّ عمل أربعة خطوط زراعية في كل قطعة تجريبية. تمثّل النباتات المزروعة في كل خط مكرراً يتكون من 10 نباتات وبالتالي تمثّل النباتات الأربعون ضمن القطعة التجريبية كل معاملة. تمّت عمليات الخدمة بالشكل التقليدي. تم اجراء التجربة ضمن الأراضي التابعة لمركز البحوث العلمية الزراعية، حمص، سورية. تمّ تحليل تربة موقع التجربة قبل الزراعة في مختبر خصوبة التربة في كلية الزراعة بجامعة البعث لتحديد مواصفات التربة المزروعة.

تحضير الدرنات

حُضرت 320 وحدة إكثار بطاطا/البطاطس من الصنف دراجا تحتوي كل منها ما لا يقل عن ثلاثة عيون (160 وحدة لمعاملة تلقيح الأوراق و160 وحدة لمعاملة تلقيح الدرنات). تمّ غسل وحدات التقاوى بالماء العادي ثم طهرت سطحياً عن طريق تغطيسها بالكحول 75% لمدة دقيقة،

ثم بهيبوكلوريت الصوديوم 0.7% لمدة دقيقة، ثم ماء معقم على ثلاث دفعات لمدة دقيقة (Lacey, 1997).

تنمية العزلات

استخدمت في التجربة ثلاث عزلات محلية من الفطر الممرض للحشرات *B. bassiana* مأخوذة من مناطق مختلفة من سورية (جدول 1).

حضرت مادة العدوى في غرفة العزل. حيث نميت العزلات على مستنبت Malt extract agar (MEA) ضمن أطباق بتري (بقطر 9 سم). ووضعت في حاضنة مظلمة عند 25 °س. حُصدت الأبواغ من الأطباق بعد أسبوعين، وذلك بإضافة 5 مل ماء معقم لكل طبق ومن ثم تم ترشيح محتويات الطبق عبر 3 طبقات من الشاش. أضيف 5 مل ماء معقم أخرى فوق الشاش لضمان الحصول على الأبواغ بالكامل (Lacey, 1997). اعتُبر الراشح الناتج هو المحلول الأساس الذي أُضيف له توين 80 بمعدل 0.05%.

تمّ تحديد تركيز المحلول الأساس لكل عزلة في واحد مل باستخدام شريحة عد الأبواغ Neubauer improved (Inglis *et al*., 1997) وضُبطت التركيزات في العزلات الثلاث لتكون 1×10^8 بوغة/مل، وهو التركيز الموصى به سابقاً (Gurulingappa *et al.*, 2010؛ Russo *et al*., 2015) وأضيف إليها توين 80 بمعدل 0.05%. أما الشاهد فكان عبارة عن ماء معقم مع توين 80 بمعدل 0.05%.

جدول 1. العزلات المحلية من الفطر الممرض للحشرات *B. bassiana* ومصادرها وأماكن عزلها.

Table 1. Native isolates of the entomopathogenic fungi *B. bassiana* and their sources and isolation sites.

اسم العزلة ورمزها Isolate name & code	المصدر Source	مكان العزل Isolation site
اللاذقية-B Lattakia-B	مركز الأعداء الحيوية، اللاذقية Biological Enemies Center, Lattakia	من تربة بستان حمضيات في اللاذقية Soil of citrus orchad, Lattakia
حلب-C Aleppo-C	المركز الدولي للبحوث الزراعية في المناطق الجافة (ايكاردا)، حلب International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), Aleppo	معزولة من حشرات السونة في حلب Isolated from dead sunn pest *Eurygaster integriceps*, Aleppo
دمشق-D Damscus-D	مركز التقانة الحيوية، دمشق Biotechnology Center, Damascus	معزولة من حشرات السونة في دمشق Isolated from dead sunn pest *Eurygaster integriceps*, Damascus

تمّ إجراء اختبار إنبات للعزلات الثلاث بأخذ 5 ميكرو ليتر من التركيز 10^4 بوغة/مل لكل عزلة وتوزيعها على ثلاث دفعات ضمن طبق بتري صغير (بقطر 5 سم) فيه مستنبت آغار–آغار، ثم غُطيت المكررات الثلاثة بساترات (cover glass) فوق نقاط المعلق، ثم غطيت الأطباق ووضعت في حجرة مظلمة عند حرارة المختبر 28±2 °س وفي اليوم التالي، تمّ عد الأبواغ المنتشة من 100 بوغة تحت كل ساترة بعد تلوينها بأزرق القطن، ثم حسب متوسط نسب الإنبات تحت الساترات الثلاث في الطبق الخاص بكل عزلة.

المعاملات الحقلية

تمت زراعة التقاوي ضمن القطع التجريبية المخصصة لها يدوياً على الجهة الجنوبية للخط بعمق يعادل ضعف حجم التقاوي وذلك بتاريخ 2017/3/24. زُرعت 160 وحدة إكثار خاصة بطريقة تلقيح الأوراق بعد تطهيرها سطحياً حيث تم توزيعها على أربع قطع تجريبية عشوائية بمعدل 40 وحدة إكثار للمعاملة الواحدة. تضمنت المعاملات رش النباتات بعمر شهرين بالتركيز 1×10^8 بوغة/مل من كل عزلة من العزلات الثلاثة المدروسة، وذلك على أكبر ورقة حقيقية من بين 3–5 أوراق سفلية للمجموع الخضري (Klieber & Reineke, 2016). وكان معدل الرش (حجم سائل الرش المطبق) 1.25 مل/الورقة. تمّ الرش على السطح السفلي للورقة لحفظ الرطوبة. أما الشاهد فقد تم رشه بالمعدل والأسلوب نفسه من الماء المعقم مضافاً له توين 80 بتركيز 0.05%.

كما تمت زراعة 160 وحدة إكثار خاصة بطريقة تلقيح الدرنات بالفطر قبل الزراعة. تم توزيع الوحدات على أربع قطع تجريبية موزعة عشوائياً وبمعدل 40 وحدة إكثار/المعاملة وتضمنت المعاملات التركيز 1×10^8 بوغة/مل من كل عزلة من العزلات الثلاث المدروسة. أما الشاهد فتمت معاملته بالماء. تمّ رش وحدات إكثار كل معاملة (40 وحدة) ضمن كيس نايلون خاص بها بمعدل 50 مل من المعلق البوغي مع الخلط الجيد، أما الشاهد فقد تمت معاملته بالمعدل والأسلوب نفسه من الماء المعقم مضافاً له توين 80 بتركيز 0.05%. حُفظت أكياس وحدات الإكثار بعد المعاملة بأبواغ الفطر في الظلام لمدة 90 دقيقة قبل زراعتها في الحقل.

تمّ الحصول على المعطيات المناخية من حرارة ورطوبة من شهر الزراعة إلى شهر الحصاد من محطة الأرصاد الجوية الموجودة بجوار مركز البحوث (محطة أرصاد حمص).

تمت خدمة التربة فى المعاملات التجريبية دون إضافة أي مواد عضوية أو كيميائية للتسميد تجنباً لاحتمالات تأثيرها في حيوية الفطر. كما تمّ تحضين النباتات مرتين خلال الموسم. وفي نهاية الموسم تمّ

تعطيش النباتات قبل القطاف، وتمّ قلع الدرنات الناتجة آلياً بتاريخ 2017/7/8 بواسطة سكة قلاعة بارتفاع 40 سم.

العدوى بفراشة درنات البطاطا/البطاطس

تُركت نباتات التجربة لتصاب طبيعياً بفراشة درنات البطاطا دون تدخل. سجلت أعداد الأوراق الحقيقية المصابة بالآفة تحت ظروف العدوى الطبيعية بعد شهرين ونصف من تاريخ الزراعة وذلك في تجربتي التلقيح بنفس الوقت والذي صادف بعد أسبوعين من رش أوراق نباتات البطاطا بالمعلق البوغي للفطر وأُخذت القراءات لمرة واحدة فقط، كما سُجلت بعد الحصاد أوزان وأعداد الدرنات السليمة في كل مكرر من أجل تقدير الإنتاجية وأعداد الدرنات المصابة في كل معاملة من أجل حساب النسبة المئوية للإصابة من المعادلة التالية:

$$\text{النسبة المئوية للإصابة} = \frac{\text{عدد الدرنات المصابة في المكرر}}{\text{عدد درنات المكرر}} \times 100$$

سُجلت أيضاً أعداد الثقوب على كل درنة مصابة من درنات المكرر من أجل حساب شدة الإصابة باستخدام مقياس خماسي من T0 إلى T4: حيث أن T0= درنات خالية من الإصابة، T1= درنات فيها إصابة واحدة، T2= درنات فيها إصابتين، T3= درنات فيها ثلاث إصابات، T4= درنات فيها أربع إصابات أو أكثر وحولت هذه الإصابة وتكرارها على الدرنات إلى النسبة المئوية لتقدير شدة الإصابة وفق المعادلة التالية (McKinney & Davis, 1925):

$$\text{شدة الإصابة} = \frac{(N0xT0)+(N1xT1)+(N2xT2)+(N3xT3)+(N4xT4)}{NxT4} \times 100$$

حيث أن N0= عدد الدرنات التي لا يوجد فيها إصابة، N1= عدد الدرنات التي فيها إصابة واحدة، N2= عدد الدرنات التي فيها إصابتين، N3= عدد الدرنات التي فيها ثلاث إصابات، N4= عدد الدرنات التي فيها أربع إصابات، أما N= عدد الدرنات الكلي في المكرر.

التحليل الاحصائي

استخدم برنامج SPSS لتحليل النتائج حيث دُرست معنوية الفروق بين المتوسطات بتحليل One-way ANOVA عند مستوى احتمال 5%، وعند وجود فروق معنوية استخدم اختبار Tukey لفرز المتوسطات التي تختلف عن بعضها.

النتائج

تمّ التأكُّد من حيوية أبواغ العزلات المدروسة باختبار إنباتها قبل تطبيقها كلقاح فطري، حيث تجاوزت نسبة الأبواغ المنتشة 90%، وهي نسبة كافية لإجراء الاختبارات الحيوية. وبينت نتائج تحليل التربة أنها خفيفة القلوية pH=7.5 وفقيرة بكربونات الكالسيوم (2.19%) وهي تربة غير مالحة (الناقلية الكهربائية= 101 µs/سم) وتناسب زراعة معظم الخضروات. يلخص شكل 1 المعطيات المناخية في موسم 2017.

تقويم كفاءة العزلات في المكافحة

تمّ تقويم الكفاءة الحقلية للعزلات المحلية الثلاث بالتركيز المدروس (1×10^8 بوغة/مل) في مكافحة فراشة درنات البطاطا وفق طريقتي التلقيح المتبعتين. درست الكفاءة من خلال دراسة تأثيرات المعاملة بأبواغ الفطر في كل طريقة في الإنتاجية من الدرنات (وزناً) وفي نسبة الإصابة وشدتها على الدرنات.

كفاءة تلقيح الأوراق بأبواغ الفطر *B. bassiana*

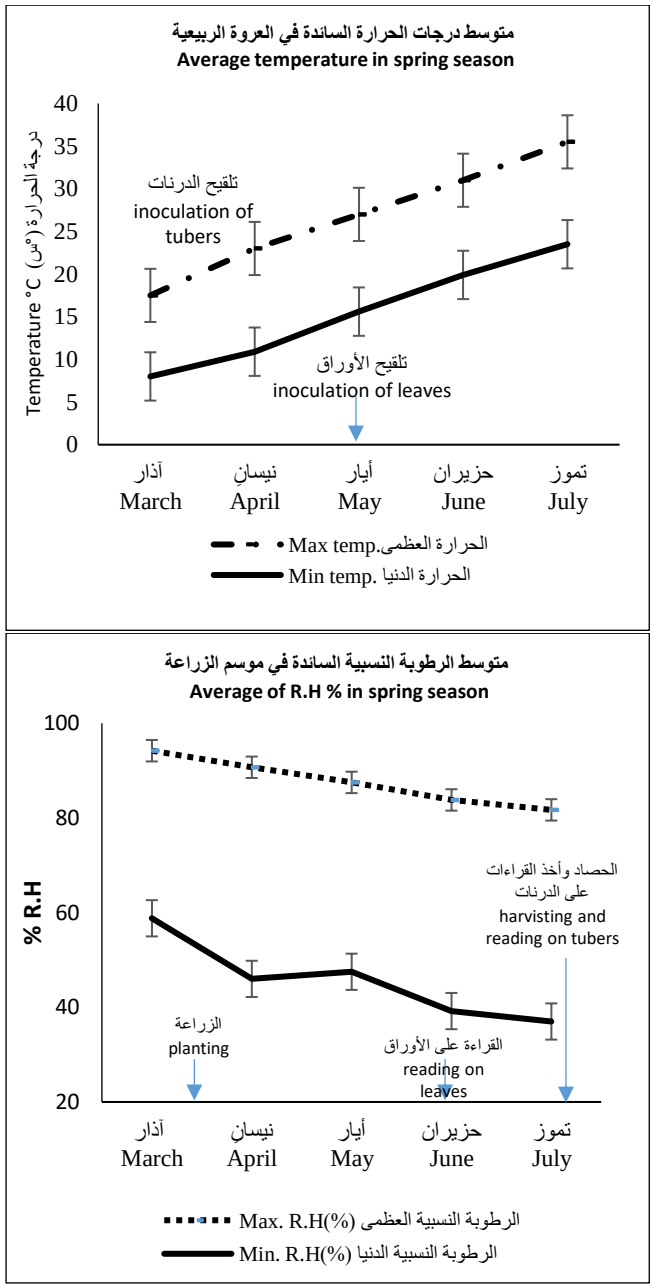
لم يلاحظ أي تأثير لهذه الطريقة في إنتاجية النباتات المعاملة في حين انخفضت نسبة وشدة الإصابة بفراشة درنات البطاطا على الدرنات الناتجة منها. أظهرت نتائج التحليل الاحصائي (جدول 2) عدم وجود فروق معنوية في إنتاجية النباتات (وزن الدرنات الناتجة) بين العزلات كلها والشاهد. حيث لم يلاحظ تأثير واضح لتلقيح نباتات البطاطا بالفطر في متوسط وزن الدرنات الناتجة ($F_{(3,12)}=1.43$, $p=0.28$). عند مقارنة العزلات الثلاث فيما بينها ومع الشاهد حققت النباتات المعاملة بالعزلة C أعلى متوسط إنتاجية لمجمل نباتات المكرر (2.73 كغ) تلتها النباتات المعاملة بالعزلة D (2.1 كغ) في حين أعطت العزلةB أقل إنتاجية بين العزلات الثلاث (0.8 كغ)، أما الشاهد فقد أعطى 2.28 كغ.

كما بينت النتائج (جدول 2) كفاءة طريقة تلقيح أوراق نباتات البطاطا بالعزلات المحلية الثلاثة المدروسة في تخفيض نسبة الإصابة بفراشة درنات البطاطا على الدرنات المتشكلة منها، حيث انخفضت نسبة الإصابة إلى 39.1 % بعد المعاملة بالعزلة C وإلى 43.94 و39.7% بعد المعاملة بالعزلتين D وB على التوالي، مقابل 90.3% في معاملة الشاهد، أي أن العزلات نجحت في تخفيض نسبة الإصابة عن الشاهد بمعدل 51.2، 46.4، 50.56 % للعزلات C، D و B، على التوالي.

كما بينت النتائج كفاءة تلقيح أوراق البطاطا بالفطر في تخفيض شدة الإصابة حيث وصلت شدة الإصابة إلى 34.8، 39.6، 34.8% لكل من العزلات C، D، B، على التوالي، مقابل 58% للشاهد. أي أن

تلقيح أوراق النباتات بالفطر لمرة واحدة قد خفّض شدة الإصابة ما بين 18.4% (العزلة D) و23.2% (العزلتين B و C) (جدول 2).

لم تظهر نتائج التحليل الاحصائي فروقاً معنوية في نسب الإصابة بين العزلات، ولكنها أظهرت فروقاً معنوية جداً بين العزلات والشاهد، بينما لم يكن هنالك فروق معنوية في شدة الإصابة بين المعاملات والشاهد.



شكل 1. درجات الحرارة والرطوبة النسبية السائدة في الموسم الربيعي 2017.

Figure 1. Temperature and relative humidity prevailed in the spring 2017 season.

كفاءة تلقيح التقاوى بأبواغ الفطر *B. bassiana*

أظهرت نتائج تلقيح تقاوى البطاطا بالمعلق البوغي للعزلات المحلية للفطر *B. bassiana* دوراً ظاهرياً في زيادة إنتاج النباتات الناتجة من الدرنات ودوراً واضحاً في تخفيض نسبة الإصابة وشدتها على الدرنات الناتجة.

بيّنت النتائج (جدول 3) تأثير تلقيح درنات البطاطا قبل الزراعة بالعزلات المحلية للفطر *B. bassiana* في متوسط وزن درنات البطاطا الناتجة والتي كانت 1.13، 1.3 و 1.68 كغ للعزلات B، C و D، على التوالي، مقابل 0.93 كغ في الشاهد. ولم تظهر نتائج التحليل الاحصائي أية فروق معنوية بين أوزان الدرنات الناتجة عن العزلات والشاهد.

كما يتضح من النتائج (جدول 3) كفاءة تلقيح الدرنات بالعزلات المحلية للفطر *B. Bassiana* في تخفيض نسبة الإصابة وشدتها حيث كان متوسط نسبة الإصابة 28.3، 46.5 و 48.58% للعزلات C، D و B على التوالي، مقابل 58.7% للشاهد. كما بلغ متوسط شدة الإصابة 18.8، 42.58 و 25.8% للعزلات C، D و B، على التوالي، مقابل 50.8% للشاهد. وبذلك تكون العزلة C قد تفوقت على باقي العزلات ونجحت في تخفيض نسبة الإصابة عن الشاهد بمعدل 30.36% وشدة الإصابة بمعدل 32.1%. أظهرت نتائج التحليل الإحصائي فروقاً معنوية جداً في نسب الإصابة وشدتها بين المعاملات. تساوت العزلتان C وB وتفوقتا على كل من العزلة D والشاهد. ولم تظهر نتائج التحليل الإحصائي أي فروق معنوية في نسب إصابة الأوراق بالفراشة في كل المعاملات.

المناقشة

يعد العمل المنجز في هذا البحث الأول من نوعه في سورية من حيث التطبيق الحقلي لطرق تلقيح نباتات البطاطا بالفطر *B. bassiana* بغرض الحد من الإصابة من فراشة درنات البطاطا في الحقل، وذلك بالاعتماد على عزلات محلية للفطر المدروس وليس على مستحضرات تجارية.

أظهرت نتائج هذا البحث بأن تلقيح نباتات البطاطا بالفطر *B. bassiana* أعطى نتائج جيدة في مكافحة فراشة درنات البطاطا من خلال تخفيض نسبة الإصابة وشدتها في الدرنات الناتجة عن نباتات بطاطا ملقحة به، نظراً لقدرة العزلات المحلية للفطر *B. bassiana* على إصابة الأطوار المختلفة لفراشة درنات البطاطا والتي تمّ اثباتها مخبرياً (السعود وآخرون، 2016، 2017a) ولدخول الفطر إلى أنسجة نباتات البطاطا المعاملة به والتعايش ضمنها ومن ثم إصابة يرقات فراشة درنات البطاطا المتغذية على تلك النباتات (السعود وآخرون، 2017b، 2017c). إنّ كفاءة تلقيح أجزاء نباتية معينة بالفطر ولمرة واحدة كانت قريبة من كفاءة بعض مستحضراته التجارية في مكافحة بعض الآفات بالرش المتكرر لكامل المجموع الخضري بمعدلات متوسطة، وهذا ما يعطي

نتائج هذا البحث أهمية بيئية واقتصادية كبيرة. حيث أن تطبيق التلقيح بالفطر يعتمد على معدلات تطبيق منخفضة بتراكيز عالية يمكنه أن يعطي نتائج تغني عن الرش الكامل والمتكرر لبعض المستحضرات التجارية للفطر بمعدلات تطبيق عالية مثل الرش الكامل المتكرر للفطر *B. bassiana* بالتركيز المتوسط 2.5×10^{13} كونيديا/هكتار لمكافحة خنفساء الكلورادو (Wraight & Ramos, 2002) حيث أن مستحضر المستحلب للمعلق البوغي ES والذي أعطى أفضل نتيجة للرش الحقلي الكامل على المجموع الخضري لثلاث مرات بفاصل 3 أيام لم يحقق كفاءة تزيد على 43% في تخفيض مجتمع الآفة. وحقق مستحضر البودرة القابلة للبلل WP كفاءة 20%.

أظهرت نتائج طريقة تلقيح الأوراق في هذا البحث إصابة أوراق النباتات المعاملة بنفس معدلات إصابة الشاهد بالآفة، مما يدل على أن إصابة النباتات بالآفة حدثت قبل عملية الإلقاح. في المقابل عند مقارنة نسب الإصابة على الأوراق بطريقتي الإلقاح (على الأوراق وعلى الدرنات) تبين أن معدلات إصابة الأوراق للنبات المعاملة بطريقة إلقاح الأوراق كانت أعلى مما هو عليه عند النباتات الناتجة عن طريقة إلقاح الدرنات، بما فيها الشاهد. تؤكد هذه النتائج أن النباتات الناتجة عن معاملة الدرنات بالفطر الممرض للحشرات اكتسبت قدرة لحماية المجموع الخضري، بسبب نجاح الفطر *B. bassiana* بالوصول من التقاوي المعاملة إلى المجموع الخضري، وتتفق هذه النتيجة مع نتائج دراسات سابقة عن قابلية التعايش لهذا الفطر على نباتات عدة مثل القهوة والقطن (Behie *et al*., 2015) مما يقي النبات من الإصابة الحشرية. تعززت هذه النتيجة بالملاحظة الحقلية عن النمو الخضري المميز لنباتات البطاطا الناتجة عن تلقيح الدرنات مقارنة مع غيرها من نباتات البطاطا وانخفاض أعراض إصابتها بأمراض فطرية مثل اللفحة المبكرة التي يسببها الفطر *Alternaria solani* واللفحة المتأخرة التي يسببها الفطر *Phytophtora infestans*.

جدول 2. متوسطات أوزان الدرنات الناتجة ونسب وشدة الإصابة بفراشة درنات البطاطا بعد تلقيح الأوراق بالعزلات المحلية للفطر *B. bassiana*.

Table 2. Average weights, infection and severity rates of potato tubers after leaf inoculation with the local isolates of *B. bassiana*.

اسم العزلة Isolate name	النباتات المصابة Infected plants (%)	وزن درنات /10 نباتات ± الخطأ القياسي Tubers weight/10 plants ± SE	نسبة الإصابة على الدرنات (%) ± الخطأ القياسي Infection rate of tubers (10%) ± SE	معدل تخفيض نسبة الإصابة Reduction of infection rate	شدة الإصابة Severity of infection rate	معدل تخفيض شدة الإصابة Reduction of infection severity rate
شاهد Control	a 14.0±30.00	a 1.07±2.28	a 4.1±90.3	-------	a 16.1±58	-------
B	a 14.0±30.00	a 0.09±0.8	b 6.2±39.7	50.56	a 7.4±34.8	23.2
C	a 14.0±30.00	a 0.72±2.73	b 6.2±39.1	51.20	a 5.7±34.8	23.2
D	a 14.0±00.30	a 0.4±2.1	b 6.7±43.94	46.40	a 7.1±39.6	18.4
LSD	43.17	2.07	18.11	---	30.7	----

المتوسطات التي يتبعها نفس الأحرف الصغيرة في نفس العمود لا تختلف عن بعضها معنويا عند مستوى احتمال 5%.

Means followed by the same small letters in the same column are not significantly different at *P*=0.05.

جدول 3. متوسطات أوزان الدرنات ونسب وشدة الإصابة بفراشة درنات البطاطا بعد معاملة التقاوي بالعزلات المحلية الثلاث للفطر *B. bassiana*.

Table 3. Average tuber weights, infection and severity of tuber infection after tuber inoculation with the three local isolates of *B. bassiana*.

اسم العزلة Isolate name	النباتات المصابة Infected plants %	وزن درنات 10 نباتات±الخطأ القياسي weight of tubers/10 plants ±SE	نسبة الإصابة على الدرنات (%) ± الخطأ القياسي Tubers infection rate (%) ±SE	معدل تخفيض نسبة الإصابة Reduction of infection rate	شدة الإصابة Severity of infection rate	معدل تخفيض شدة الإصابة Reduction of infection severity rate
شاهد Control	a 2.4±20.76	a 0.38±0.93	a 3.40±58.70	-----	a 3.7±50.80	------
B	a 3.75±19.01	a 0.18±1.30	ab 5.00±48.58	23.30	ab 7.1±25.80	25.0
C	a 0.89±21.54	a 0.50±1.13	b 1.50±28.30	30.36	b 1.6±18.80	32.1
D	a 1.98±14.84	a 0.17±1.68	a 1.80±46.50	12.20	a 1.5±42.58	8.2
LSD	7.63	1.04	9.97	-----	12.75	------

المتوسطات التي يتبعها نفس الأحرف الصغيرة في نفس العمود لا تختلف عن بعضها معنويا عند مستوى احتمال 5%.

Means followed by the same small letters in the same column are not significantly different at *P*=0.05.

على الرغم من الكفاءة النسبية للعزلات بطريقة إلقاح الدرنات في الحقل إلا أن نسبة وشدة الإصابة على الدرنات الناتجة عن نباتات ملقحة بمعظم العزلات تشير إلى ضعف نسبة وصول الفطر إلى الدرنات الجديدة المتشكلة، قياساً بطريقة إلقاح الأوراق حيث نجح الفطر باختراق الأوراق الملقحة وانتقل إلى الدرنات الجديدة المتشكلة بنسب أعلى عند كل العزلات مما أدى إلى وقايتها بشكل أفضل من الإصابة بالآفة. تتفق هذه النتيجة مع ما جاء في بحث سابق (السعود وآخرون، 2017c) عن قابلية فطر *B. bassiana* للتعايش مع نباتات البطاطا، حيث ذُكر أن نسب استعمار الفطر *B. bassiana* لنباتات البطاطا تختلف باختلاف طريقة المعاملة، وهي 50% في طريقة إلقاح التقاوي قبل الزراعة و100% بطريقة معاملة الأوراق مما يعطي فرصة أكبر للطريقة الثانية بتحقيق وقاية من الآفة المراد مكافحتها. يضاف إلى ذلك التأثير التلامسي الذي تضيفه طريقة رش الأوراق على الحشرات الكاملة أثناء حركتها على الأوراق لوضع البيض، وعلى اليرقات لا سيما حديثة الفقس والتي بينت الدراسات السابقة أنها الأطوار الأكثر حساسية للإصابة (السعود وآخرون، 2016؛ مهدي ومحمد، 2010).

يُضاف إلى ما سبق التأثير اللاحق على معدلات البقاء عند فراشات الجيل الأول الناتج عن اليرقات التي تغذت على النباتات المعاملة بالفطر والذي تمّ إثباته على بق العنب الدقيقي *Planococcus ficus* وعلى حافرة أوراق البندورة/الطماطم *Tuta absoluta* كما تمّ إثباته على فراشة درنات البطاطا (السعود وآخرون، 2017b؛ Klieber & Reineke, 2016)، حيث يمكن أن تكون آلية تأثير الفطر *B. bassiana* المتعايش ضمن النبات على الحشرة ليست بالقتل المباشر وإنما من خلال آلية التضاد الحيوي أو التنفير الغذائي (Vega, 2008). بحيث يجعل الفطر طعم النبات غير مستساغ من قبل الحشرة Unpalatable (Azevedo *et al*., 2000) وينتج عن ذلك جيل أول ضعيف. نتيجة هذا البحث يمكن تحديد العزلة الأفضل من بين عزلات الفطر المدروسة وهي العزلة C.

أظهرت نتائج هذا البحث أن طريقة إلقاح نباتات البطاطا بالعزلات المحلية للفطر الممرض للحشرات *B. bassiana* لها تأثير في فعالية مكافحة فراشة درنات البطاطا *P. operculella* في الحقل، مما يشجع على استخدام أسلوب الإلقاح مع الأساليب الأخرى مستقبلاً في برنامج الإدارة المتكاملة لآفات البطاطا في حقول البطاطا بعد تعزيز النتائج بتجارب على مستوى أوسع.

Abstract

Al-Saoud, N., D. Nammour and A.Y. Ali. 2018. Evaluation of inoculation with local isolates of *Beauveria bassiana* on the potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller) in the field. Arab Journal of Plant Protection, 36(2): 126-134.

To improve field biological control of potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller), the efficacy of three Syrian isolates of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo)Vuill., at concentration of 1×10^8 spores/ml, were evaluated in Homs (Syria). The inoculum was applied by employing two methods; in the first method tubers were sprayed with the concentration of 1×10^8 spore/ml before planting, whereas in the second method, one true leaf of each plant was sprayed with the same spores concentration mentioned above. Results obtained showed efficacy of all isolates in controlling the pest, with some superiority of isolate C, when using both inoculation methods. In addition to the superiority of leaf inoculation, infection rate was reduced in the tubers formed in treated plants by 51.2, 50.56 and 46.4% for isolates C, B and D, respectively. Tubers inoculation method reduced the infection rate to 30.36, 23.35 and 12.25% for the same isolates, respectively. This study demonstrated the efficacy of *B. bassiana* fungus as an important component in the integrated pest management of potato tuber moth under field conditions.

Keywords: *Beauveria bassiana*, Biological control, *Phthorimaea operculella*, potato tuber moth.

Corresponding author: ***Nisreen Houssain Alsaoud, Albaath University, Faculty of Agriculture, Plant Protection Department, Homs, Syria, Email: nisreensoud@gmail.com***

المراجع

السعود، نسرين، دمر نمور وعلي ياسين علي. 2016. حساسية بالغات عثة درنات البطاطا *Phthorimaea operculella* لعزلات محلية من الفطر الممرض *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill. مجلة جامعة البعث، 38: 115–144.

السعود، نسرين، دمر نمور وعلي ياسين علي. 2017a. حساسية بيض عثة درنات البطاطا *Phthorimaea operculella* لعزلات محلية من الفطر الممرض *Beauveria bassiana*. مجلة وقاية النبات العربية، 35: 110-116.
http://dx.doi.org/10.22268/AJPP-035.2.110116

السعود، نسرين، دمر نمور وعلي ياسين علي. 2017b. كفاءة عزلة محلية شرسة من الفطر الممرض *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill. متعايشة داخلياً مع النبات في مكافحة يرقات فراشة درنات البطاطا(Zeller) *Phthorimaea operculella*. مجلة جامعة البعث، 39:11-38.

السعود، نسرين، دمر نمور وعلي ياسين علي. 2017c. قابلية التعايش الداخلي للفطر *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuill. في نبات البطاطا *Solanum tuberosum* L. مجلة جامعة البعث، 39: 139–168.

References

العيسى، زياد، عبد الناصر تريسي، فاتح خطيب ومصطفى البوحسيني. 2017. فعالية الفطر *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillumin الممرض للحشرات إزاء حشرةحافرة أوراق البندورة/الطماطم *Tuta absoluta*. مجلة وقاية النبات العربية، 35: 103-109. http://dx.doi.org/10.22268/AJPP-035.2.103109

مهدي، فيحاء عبود وحسام الدين عبد الله محمد. 2010. استعمال الفطر الأحيائي *Beauveria bassiana* (Bulsamo) في مكافحة عثة درنات البطاطا بالمختبر. مجلة الأنبار للعلوم الزراعية، 8: 334-341.

Akello, J., **T. Dubois**, **C.S. Gold**, **D. Coyne**, **J. Nakavuma and P. Paparu**. 2007. *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin as an endophyte in tissue culture banana (*Musa spp.)*. Journal of Invertebrate Pathology, 96: 34-42. https://doi.org/10.1016/j.jip.2007.02.004

Azevedo, J.L., **W. Maccheroni Jr**, **J.O. Pereira and W.L. de Araújo**. 2000. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. Electronic Journal of Biotechnology, 3: 15-16. https://doi.org/10.2225/vol3-issue1-fulltext-4

Behie, S.W., **S.J. Jones and M.J. Bidochka**. 2015. Plant tissue localization of the endophytic insect pathogenic fungi *Metarhizium* and *Beauveria*. Fungal Ecology, 13:112–119. https://doi.org/10.1016/j.funeco.2014.08.001

Brownbridge, M., **S.D. Reay**, **T.L. Nelson and T.R. Glare**. 2012. Persistence of *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) as an endophyte following inoculation of radiata pine seed and seedlings. Biological Control, 61: 194-200. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.01.002

Carpio, C., **O. Dangles**, **S. Dupas**, **X. Léry**, **M. López-Ferber**, **K. Orbe**, **D. Páez**, **F. Rebaudo**, **A. Santillán**, **B. Yangari and J.L. Zeddam**. 2013. Development of a viral biopesticide for the control of the Guatemala potato tuber moth *Tecia solanivora*. Journal of Invertebrate Pathology, 112:184-191. https://doi.org/10.1016/j.jip.2012.11.014

Das, G.P. and K.V. Raman. 1994. Alternate hosts of the potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller). Crop Protection, 13: 83-86. https://doi.org/10.1016/0261-2194(94)90155-4

Gurulingappa, P., **G.A. Sword**, **G. Murdoch and P.A. McGee**. 2010. Colonization of crop plants by fungal entomopathogens and their effects on two insect pests when in planta. Biological Control, 55: 34-41. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2010.06.011

Inglis, G.D., **D.L. Johnson and M.S. Goettel**. 1997. Effects of temperature and sunlight on mycosis (*Beauveria bassiana*) (Hyphomycetes: Sympodulosporae) of grasshoppers under field conditions. Environmental Entomology, 26: 400–409. https://doi.org/10.1093/ee/26.2.400

Klieber, J. and A. Reineke. 2016. The entomopathogen *Beauveria bassiana* has epiphytic and endophytic activity against the tomato leaf miner *Tuta absoluta*. Journal of Applied Entomology, 140: 565-644. http://doi.wiley.com/10.1111/jen.12287

Lacey, L.A. 1997. Manual of Techniques in Invertebrate Pathology. Academic Press, USA. 513 pp.

Li, R., **C. Tee**, **Y. Jiang**, **X. Jiang**, **P.N. Venkatesh**, **R. Sarojam and J. Ye**. 2015. A terpenoid phytoalexin plays a role in basal defense of Nicotiana benthamiana against Potato virus X. Scientific Reports 5.

McKinney, H.H. and R.J. Davis. 1925. Influence of soil temperature and moisture on infection of young wheat plants by *Ophiobolus graminis*. Journal of Agricultural Research, 31: 827-840.

Ormond, E.L., **A.P.M. Thomas**, **P.J.A. Pugh**, **J.K. Pell and H.E. Roy**. 2010. A fungal pathogen in time and space: the population dynamics of *Beauveria bassiana* in a conifer forest: Population dynamics of a fungal entomopathogen. FEMS Microbiology Ecology, 74: 146–154. http://doi.wiley.com/10.1111/j.1574-6941.2010.00939.x

Pelizza, S.A., **Y. Mariottini**, **L.M. Russo**, **M.F. Vianna**, **A.C. Scorsetti and C.E. Lange**. 2017. *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) Introduced as an Endophyte in Corn Plants and Its Effects on Consumption, Reproductive Capacity, and Food Preference of *Dichroplus maculipennis* (Orthoptera: Acrididae: Melanoplinae). Journal of Insect Science, 17: 1-6. https://doi.org/10.1093/jisesa/iex024

Posada, F., **M.C. Aime**, **S.W. Peterson**, **S.A. Rehner and F.E. Vega**. 2007. Inoculation of coffee plants with the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales). Mycological Research, 111: 748-757. https://doi.org/10.1016/j.mycres.2007.03.006

Posada, F.J., **F.C. Chaves**, **T.J. Gianfagna**, **M. Pava-Ripoll and P. Hebbar**. 2010. Establishment of the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* as an endophyte in cocoa pods (*Theobroma cacao* L.). Revista U.D.C.A Actualidad & amp. Divulgación Científica, 13: 71-78. https://doi.org/10.3852/mycologia.97.6.1195

Rondon, S.I. 2010. The potato tuber worm: A literature review of its biology, ecology and control. American Journal of Potato Research, 87: 149-166. https://doi.org/10.1007/s12230-009-9123-x

Russo, M.L., **S.A. Pelizza**, **M.N. Cabello**, **S.A. Stenglein and A.C. Scorsetti**. 2015. Endophytic colonisation of tobacco, corn, wheat and soybeans by the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota, Hypocreales). Biocontrol Science and Technology, 25: 475-480. http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09583157.2014.982511

Sporleder, M., **O. Zegarra**, **E.M.R. Cauti and J. Kroschel**. 2008. Effects of temperature on the activity and kinetics of the granulovirus infecting the potato tuber moth *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae). Journal of Biological Control, 44: 286-295. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2007.10.021

Wraight, S.P., **R.I. Carruthers, S.T. Jaronski, C.A. Bradley**, **C.J. Garza and S. Galaini-Wraight**. 2000. Evaluation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* for microbial control of the silverleaf whitefly *Bemisia argentifolii*. Biological Control, 17: 203-217. https://doi.org/10.1006/bcon.1999.0799

Wraight, S.P. and M.E. Ramos. 2002. Application parameters affecting field efficacy of *Beauveria bassiana* foliar treatments against Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*. Biological Control, 23: 164-178. https://doi.org/10.1006/bcon.2001.1004

Zhao, J., **T. Shan**, **Y. Mou and L. Zhou**. 2011. Plant-derived bioactive compounds produced by endophytic fungi. Mini Reviews in Medicinal Chemistry, 11: 159-168. https://doi.org/10.2174/138955711794519492

Stafford, K.C. and S.A. Allan. 2010. Field applications of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* F52 (Hypocreales: Clavicipitaceae) for the control of *Ixodes scapularis* (Acari: Ixodidae). Journal of Medical Entomology, 47: 1107-1115. https://doi.org/10.1603/ME10019

Tefera, T. and S. Vidal. 2009. Effect of inoculation method and plant growth medium on endophytic colonization of sorghum by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. BioControl, 54: 663-669. https://doi.org/10.1007/s10526-009-9216-y

Vega, F.E. 2008. Insect pathology and fungal endophytes. Journal of Invertebrate Pathology, 98: 277-279. https://doi.org/10.1016/j.jip.2008.01.008

Received: February 23, 2018; Accepted: May 29, 2018

تاريخ الاستلام: 2018/2/23؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2018/5/29