

التربية المخبرية لبعض عزلات النيماتودا الممرضة للحشرات على يرقات

فراشة الطحين *Ephestia kuehniella* Zell

عبد النبي بشير، أماني جاويش وخالد العسس

قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة دمشق، دمشق، سورية، البريد الإلكتروني: basherofecky@yahoo.com

المخلص

بشير، عبد النبي، أماني جاويش وخالد العسس. 2014. التربية المخبرية لبعض عزلات النيماتودا الممرضة للحشرات على يرقات فراشة الطحين *Ephestia kuehniella* Zell. مجلة وقاية النبات العربية، 32(3): 226-233.

تم اختبار إمكانية استخدام يرقات فراشة الطحين *Ephestia kuehniella* لتربية وإكثار بعض عزلات النيماتودا الممرضة للحشرات والمغزولة من ترب ريف دمشق، أجريت العدوى بالعزلات VH11 والتي تنتمي للنوع *Heterorhabditis indica*، PHA، DKH9، من الجنس *Heterorhabditis* (النوع لم يعرف) والعزلة RST من الجنس *Steinernema* (النوع لم يعرف). تم استخدام هذه العزلات بخمسة تراكيز (50، 100، 250، 500، 1000 فرد معدي/مل)، وأظهرت النتائج أن يرقات فراشة الطحين على درجة عالية من الحساسية للإصابة بالنيماتودا وأن دورة حياة النيماتودا تنتهي بوقت أقصر في يرقات فراشة الطحين بالمقارنة مع دورة حياتها داخل يرقات فراشة الشمع. كما تم تحديد الإنتاج الكمي من وحدة وزن واحدة من العائل الحشري، فكان متوسط إنتاج يرقة فراشة الشمع في وحدة الوزن 0.02 غ يتراوح بين 10-15 ألف فرد معدي، بينما تراوح متوسط إنتاج اليرقة الواحدة من فراشة الطحين بوزن 0.02 غ بين 36 و 57 ألف فرد. أي تفوقت يرقات فراشة الطحين معنوياً في الإنتاج الكمي لأفراد الطور المعدي (من وحدة الوزن 0.02 غ) على يرقات فراشة الشمع.

كلمات مفتاحية: فراشة الطحين، تربية، نيماتودا ممرضة للحشرات، مكافحة حيوية.

المقدمة

سوسة النخيل الحمراء *Rhynchophorus ferrugineus*، حفار ساق النفاح *Zeuzera pyrina*، حفار ساق الذرة الأوروبي *Pyrausta nubilalis*، دودة اللوز الأمريكية *Helicoverpa armigera*، دودة ثمار النفاح *Cydia pomonella* (1، 12).

ومن الأمور التي تجعل النيماتودا ذات خواص إيجابية كعامل مكافحة حيوية هي: أنها تمتلك مدى عوائل واسع من الآفات الحشرية، فهي آمنة الاستخدام بالنسبة للنباتات والكائنات الحية غير المستهدفة بالمكافحة، لامتلاك تأثيراً سلبياً في البيئة، سهولة التطبيق باستخدام معدات الرش العادية المستخدمة في رش المبيدات، تقتل الآفة خلال 48 ساعة، لها القدرة على إعادة دورة حياتها في البيئة وبالتالي تعد كمبيد مستمر في التربة، يمكن خلطها مع العديد من المبيدات الحيوية، قابلة للتحسين الوراثي وسهلة التربية على بيئات طبيعية وصناعية (7، 9).

من الممكن تربية أنواع الجنسين *Steinernema* و *Heterorhabditis* داخل العوائل الحشرية، ويستخدم في عملية التربية عائل مثالي يرقات دودة شمع العسل *Galleria mellonella* والتي يمكن تربيتها بسهولة في المختبر. وأهم الأنواع التي تم تربيتها مخبرياً وإنتاجها بشكل موسع على دودة شمع العسل النوعين *S. feltiae* و *H. bacteriophora* (4).

تزرع الطبيعة بالكائنات الحية المفيدة التي لها دور كبير في الحد من انتشار الآفات ووقف ضررها، وتشكل النيماتودا الممرضة للحشرات Entomopathogenic Nematodes (EPNs) جزءاً مهماً من الأعداء الطبيعية في الحد من أضرار كثير من الآفات الزراعية الحشرية والمحافظة على التوازن الطبيعي لأنواع مختلفة من مفصليات الأرجل (3). عرفت النيماتودا الممرضة للحشرات منذ القرن السابع عشر (13)، وتم إدخالها في السنوات الأخيرة في مجال المكافحة الحيوية للآفات الحشرية وبخاصة حشرات التربة والحدائق (14).

ومن نهاية فترة الستينات، السبعينيات وبداية الثمانينات من القرن الماضي (القرن العشرين) بدأت البحوث المركزة والمكثفة التي أوضحت أهمية النيماتودا الممرضة للحشرات كعامل من عوامل المكافحة الحيوية ذات الكفاءة العالية، وتزايد هذا الاهتمام حتى يومنا هذا (2، 5، 8، 10).

تستخدم حالياً النيماتودا الممرضة للحشرات بنجاح لمكافحة بعض الآفات الحشرية التي تنتمي لرتب مختلفة مثل الديدان القارضة *Euxoa segetum*، الديدان البيضاء *Polyphylla phollo*، الحالوش *Agriotes lineatus*، الديدان السلكية *Gryllotalpa gryllotalpa*

وحيث أن استخدام النيماتودا الممرضة للحشرات حقلياً يتطلب إنتاجها بشكل كمي، فقد كان من المفيد إلقاء مزيد من الضوء على هذا الجانب، ولذلك فقد هدف هذا البحث إلى دراسة إمكانية التربية لبعض عزلات النيماتودا الممرضة للحشرات والمستخلصة من البيئة السورية وبتراكيز مختلفة على يرقات فراشة الطحين *Ephestia kuehniella*.

مواد البحث وطرائقه

تم تنفيذ البحث في مركز بحوث ودراسات مكافحة الحبيوية في كلية الزراعة، جامعة دمشق في عام 2010.

مصدر يرقات فراشة الشمع

تم الحصول على بيوض فراشة الشمع من أقراص شمع نحل مصابة، ثم وزعت قطع الشمع المصابة على أوعية بلاستيكية سعة 2.5 كغ تحتوي على البيئة المغذية المؤلفة من 400 غ دقيق ذرة، 200 غ دقيق قمح، 100 غ حليب مجفف، 50 غ خميرة جافة، 100 غ عسل نحل، 150 غ غليسيرين. خلطت المكونات الجافة أولاً ثم أضيفت إليها المكونات السائلة وخلطت معها حتى أصبحت عجينة متماسكة. تم تغطية الأوعية بغطائها البلاستيكي بعد تنقيته بعدة ثغوب للتهوية. وضعت هذه الأوعية في حاضنة عند 30° س ورطوبة نسبية 65%، وبعد حوالي 4-5 أسابيع تم الحصول على يرقات دودة الشمع بالعمر الأخير واستخدم قسم منها في الكشف عن وجود النيماتودا الممرضة للحشرات في عينات التربة والقسم الآخر وضع في أوعية بلاستيكية جديدة مغطاة بقطعة شاش مزدوجة حتى تكمل دورة حياتها ويتم الحصول على البيوض من جديد، حيث تقوم الفراشات الملقحة بوضع البيوض على قطعة الشاش (7).

مصدر يرقات فراشة الطحين

تم الحصول على يرقات فراشة الطحين *Ephestia kuehniella* (Pyralidae: Lepidoptera) من مختبر الطفيليات في مركز بحوث ودراسات مكافحة الحبيوية التابع لكلية الزراعة في جامعة دمشق.

إكثار عزلات النيماتودا وتحضير التراكيز

أجريت عدوى ليرقات فراشة الشمع بالعزلات المدروسة حيث أضيف محلول النيماتودا إلى أطباق بتري فيها ورق ترشيح وتم إكثار سلالات النيماتودا على يرقات فراشة الشمع وذلك بإجراء عدوى ضمن أطباق بتري وضع فيها ورق ترشيح تم ترطيبه بمحلول النيماتودا ثم أضيفت

لها يرقات فراشة الشمع، وبعد موت اليرقات تم الحصول على أفراد النيماتودا وذلك باتباع تقنية المصيدة المائية (مصيدة وايت) (16).

بعد عزل أفراد النيماتودا، حضرت التراكيز المطلوبة حيث وضع محلول النيماتودا في كأس زجاجي بحجم 100 مل، تم تحريك المحلول بواسطة قضيب زجاجي حتى يتجانس ومن ثم أخذ بالمصاصة حجم امل من المحلول وضعت في زجاجة ساعة تحت مكبرة ضوئية وتم حساب وعد أفراد النيماتودا الفعالة ضمن هذا الحجم. كررت عملية العد ثلاث مرات وأجريت التخفيفات اللازمة بإضافة الماء المقطر والفورمالين بنسبة 0.1% لحين الحصول على التركيز المطلوب.

إكثار الطور المعدي من اليرقات

أجريت العدوى بالعزلات: VH11 من النوع *H.indica*، PHA، DKH9، من الجنس *Heterorhabditis* والعزلة RST من الجنس *Steinernema* وجهزت خمسة تراكيز لكل عزلة (50، 100، 250، 500، 1000 فرد معدي/مل).

استخدمت أطباق بتري بقطر 15 سم، وضع في قاعدة كل منها ورقة ترشيح، أضيف اللقاح المعدي من يرقات النيماتودا بالتراكيز المطلوبة وبكمية 5 مل معلق/طبق. وضع بعد ذلك 10 يرقات بالعمر الأخير من فراشة الطحين لكل طبق. أغلقت الأطباق وسجلت عليها البيانات اللازمة، ثم وضعت في الحاضنة عند 25° س. نفذت التجربة ذاتها باستخدام يرقات الطور الأخير من دودة شمع العسل للمقارنة. نفذت التجربة بثلاثة مكررات لكل عزلة نيماتودية مختبرة. عدت يرقات الحشرات الميتة بعد 1، 2، 3، 4 و5 أيام. وحسبت النسبة المئوية للحشرات الميتة عند مستويي 50% و100%.

تم استخلاص يرقات النيماتودا من الحشرات الميتة باستخدام تقنية المصيدة المائية، حيث عدت يوماً بدءاً من خروج أفراد الطور المعدي من اليرقات وحتى نهاية خروجها، وسجلت النتائج في جداول خاصة. تم تحليل النتائج إحصائياً باستخدام برنامج SPSS 19.

النتائج والمناقشة

تحديد الوقت اللازم لقتل 50% و100% من الحشرات

أوضحت نتائج الدراسة مايلي:

- العزلة RST من الجنس *Steinernema*: تراوح الوقت اللازم لقتل 50% من يرقات فراشة الطحين بين 1 و3 أيام حيث انخفضت المدة بزيادة التركيز، وتراوح الوقت اللازم لقتل 100% من هذه اليرقات بين 2 و5 أيام، مقارنة بيرقات فراشة الشمع التي احتاجت 1-2 يوم

لقتل 50% من اليرقات و 2-3 أيام لقتل 100% من يرقات الحشرة.

- العزلة VH11 من النوع *Heterorhabditis indica*: تراوح الوقت اللازم لقتل 50% من يرقات فراشة الطحين 1-3 أيام ومن 2-5 أيام لقتل جميع اليرقات، في حين احتاجت يرقات فراشة الشمع من 1 إلى 2 يوم لقتل نصف عددها ومن 2-4 أيام لقتل كل اليرقات.
- العزلة PHA من الجنس *Heterorhabditis*: تراوحت الفترة لقتل نصف يرقات فراشة الطحين 1-3 أيام و 2-5 أيام لقتل كل اليرقات، في حين نفق نصف عدد يرقات فراشة الشمع خلال 1-2 يوم ونفقت كل اليرقات خلال 2-3 أيام.
- العزلة DKH من الجنس *Heterorhabditis*: احتاجت النيماتودا إلى 1-3 أيام لقتل نصف عدد يرقات فراشة الطحين وإلى 2-4 أيام لقتل كل اليرقات، مقارنة بـ 1-2 يوم لقتل نصف عدد يرقات فراشة الشمع و 2-3 أيام لقتل كل اليرقات (جدول 1). بالنتيجة كانت يرقات فراشة الطحين على درجة عالية من الحساسية للإصابة بالنيماتودا وقاربت بحساسيتها يرقات فراشة الشمع.

تحديد الفترة اللازمة لخروج الأطوار المعديّة من اليرقات المصابة والفترة التي استمرت فيها بالخروج

بينت النتائج تفاوت هذه الفترة باختلاف العائل وباختلاف العزلة المستخدمة في إعداد هذا العائل وكانت كالتالي:

- العزلة RST من الجنس *Steinernema*: خرجت أفراد الطور المعدي من يرقات فراشة الطحين بعد 6 أيام من نفوق الحشرة واستمر خروجها 15 يوماً، وخرجت هذه الأفراد بعد 7 أيام من عدوى يرقات فراشة الشمع واستمر خروجها 20 يوماً. أشارت نتائج التحليل الإحصائي بالنسبة لوقت خروج أفراد النيماتودا عدم وجود فروق معنوية بين التراكيز بالنسبة لكل عائل على حدة وأيضاً عدم وجود فروق معنوية بين العائلين، أما بالنسبة للوقت الذي استمرت فيه بالخروج فكانت هناك فروق معنوية عند مستوى احتمال 0.01، حيث تفوقت فراشة الشمع على فراشة الطحين بالنسبة لطول الفترة التي استمرت فيها خروج يرقات النيماتودا من الحشرات الميتة.
- العزلة VH11 من النوع *Heterorhabditis indica*: خرجت الأطوار المعديّة من يرقات فراشة الطحين بعد 12 يوماً من نفوقها واستمر خروجها 10 أيام، أما يرقات فراشة الشمع فخرجت منها الأفراد بعد 13 يوماً واستمر خروجها 15 يوماً. وبينت نتائج التحليل الإحصائي بالنسبة لوقت خروج أفراد النيماتودا عدم وجود فروق معنوية بين التراكيز المختلفة بالنسبة لكل عائل على حدة وأيضاً عدم وجود فروق معنوية بين العائلين، أما بالنسبة للوقت الذي

استمرت فيه بالخروج فقد كانت هناك فروق معنوية عند مستوى احتمال 0.01، وتفوقت فراشة الشمع على فراشة الطحين من حيث طول الفترة التي خرجت خلالها أفراد النيماتودا منها، وكانت هناك فروق معنوية أيضاً بين التراكيز بالنسبة لفراشة الطحين حيث تفوقت التراكيز 100، 250، 500، 1000 فرد معدي/مل، على التراكيز 50 فرد معدي/مل حيث كانت فترة خروج أفراد النيماتودا عند هذا التراكيز أقصرها (جدول 2).

- العزلة PHA من الجنس *Heterorhabditis*: خرجت الأفراد المعديّة بعد 7 أيام من نفوق يرقات فراشة الطحين واستمر خروجها 15 يوماً، في حين خرجت هذه الأفراد بعد 8 أيام من نفوق يرقات فراشة الشمع واستمر خروجها 23 يوماً. وتبين نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية بين التراكيز بالنسبة لكل عائل على حدة وأيضاً عدم وجود فروق معنوية بين العائلين هذا بالنسبة لوقت خروج أفراد النيماتودا أما بالنسبة للوقت الذي استمرت فيه بالخروج فقد كانت هناك فروق معنوية على مستوى 0.01 حيث تفوقت فراشة الشمع على فراشة الطحين واستمر خروج أفراد النيماتودا منها فترة أطول (جدول 2).

- العزلة DKH من الجنس *Heterorhabditis*: خرجت الأفراد المعديّة من يرقات فراشة الطحين بعد 10 أيام من الموت واستمر خروجها 12 يوماً، أما بالنسبة ليرقات فراشة الشمع فكان خروج الأفراد بعد 13 يوماً من النفوق واستمر خروجها 20 يوماً. وبينت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية على مستوى احتمال 0.01 بالنسبة لوقت خروج أفراد النيماتودا حيث احتاجت فراشة الشمع لوقت أطول كي تخرج أفراد النيماتودا منها وكانت هناك فروق معنوية بين التراكيز بالنسبة لفراشة الطحين حيث تفوقت التراكيز 50، 100، 500 فرد معدي/مل على التراكيز 250، 1000 فرد معدي/مل وخرجت الأفراد منها بعد نفوقها بوقت قصير. كما بينت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية للوقت الذي استمرت فيه الأفراد بالخروج فقد تفوقت فراشة الشمع معنوياً من حيث فترة الخروج، وكانت هناك فروق معنوية أيضاً بين التراكيز بالنسبة لفراشة الشمع فقد تفوقت التراكيز 50، 100، 500، 1000 فرد معدي/مل على التراكيز 250 فرد معدي/مل حيث سمح هذا التراكيز لأقصر فترة خروج يرقات النيماتودا الممرضة من جسم العائل (جدول 2).

وتظهر مجمل البيانات أن دورة حياة النيماتودا تنتهي بوقت أقصر عند يرقات فراشة الطحين بالمقارنة مع يرقات فراشة الشمع وهذا موضح في الشكل 1 الذي يبين دينامية الحياة لعزلات النيماتودا ضمن العائلين المختلفين.

Table 1. Time required to kill 50% and 100% of the larvae of *Galleria mellonella* and *Ephestia kuehniella*.

| 100% (يوم) | | 50% (يوم) | | isolates |
|--|----------------------------|---|----------------------------|----------|
| Average time required to kill 100% (day) | | Average time required to kill 50% (day) | | |
| Wax moth | فراشة الطحين Flour moth | Wax moth | فراشة الطحين Flour moth | |
| 2 | 3 | 1 | 2 | RST |
| 3 | 3 | 1 | 2 | VH11 |
| 2 | 3 | 1 | 2 | PHA |
| 2 | 3 | 1 | 2 | DKH |

2. التباين بين يرقات فراشة الشمع ويرقات فراشة الطحين في وقت خروج أفراد الطور المعدي والوقت الذي استمرت فيه بالخروج من العائل.

Table 2. Difference between larvae of *Galleria mellonella* and larvae of *Ephestia kuehniella* for the time and duration required for emergence of infective juveniles out of the host.

| الوقت اللازم لبدء خروج الأفراد (يوم) | | | | الوقت الذي استمر فيه خروج الأفراد | | | | العائل/التركيز (فرد /) Host/concentration (no of infective juveniles/ml) |
|--|----------|---------|----------|--|---------|--------|----------|--|
| Time required for emergence of infective juveniles out of the host | | | | Time of continued emergence of infective juveniles out of the host | | | | |
| DKH | PHA | RST | VH11 | DKH | PHA | RST | VH11 | |
| | | | | | | | | فراشة الطحين |
| 10.00 bc | 8.00 c | 12.33 a | 16.00 b | 6.00 a | 15.67 b | 6.33 a | 12.00 c | 50 |
| 10.00 bc | 9.67 bc | 12.00 a | 15.00 b | 5.67 a | 15.67 b | 7.00 a | 12.33 c | 100 |
| 9.33 c | 10.67 b | 12.33 a | 16.00 b | 5.33 a | 15.67 b | 7.67 a | 12.00 c | 250 |
| 10.00 bc | 10.67 b | 11.33 a | 15.67 b | 5.00 a | 15.00 b | 7.00 a | 11.67 c | 500 |
| 9.33 c | 10.33 bc | 12.33 a | 15.00 b | 5.33 a | 14.33 b | 6.33 a | 12.67 c | 1000 |
| | | | | | | | | Wax moth |
| 12.00 ab | 15.33 a | 13.33 a | 18.00 ab | 6.67 a | 23.33 a | 8.33 a | 19.67 ab | 50 |
| 12.00 ab | 15.00 a | 12.33 a | 18.33 ab | 5.67 a | 23.33 a | 8.00 a | 21.00 a | 100 |
| 12.33 a | 15.33 a | 13.00 a | 18.33 ab | 6.67 a | 23.67 a | 8.67 a | 18.67 b | 250 |
| 12.00 ab | 15.00 a | 12.33 a | 20.00 a | 6.00 a | 23.33 a | 8.00 a | 19.67 ab | 500 |
| 12.67 a | 15.33 a | 12.67 a | 19.67 a | 6.67 a | 22.67 a | 7.67 a | 19.67 ab | 1000 |

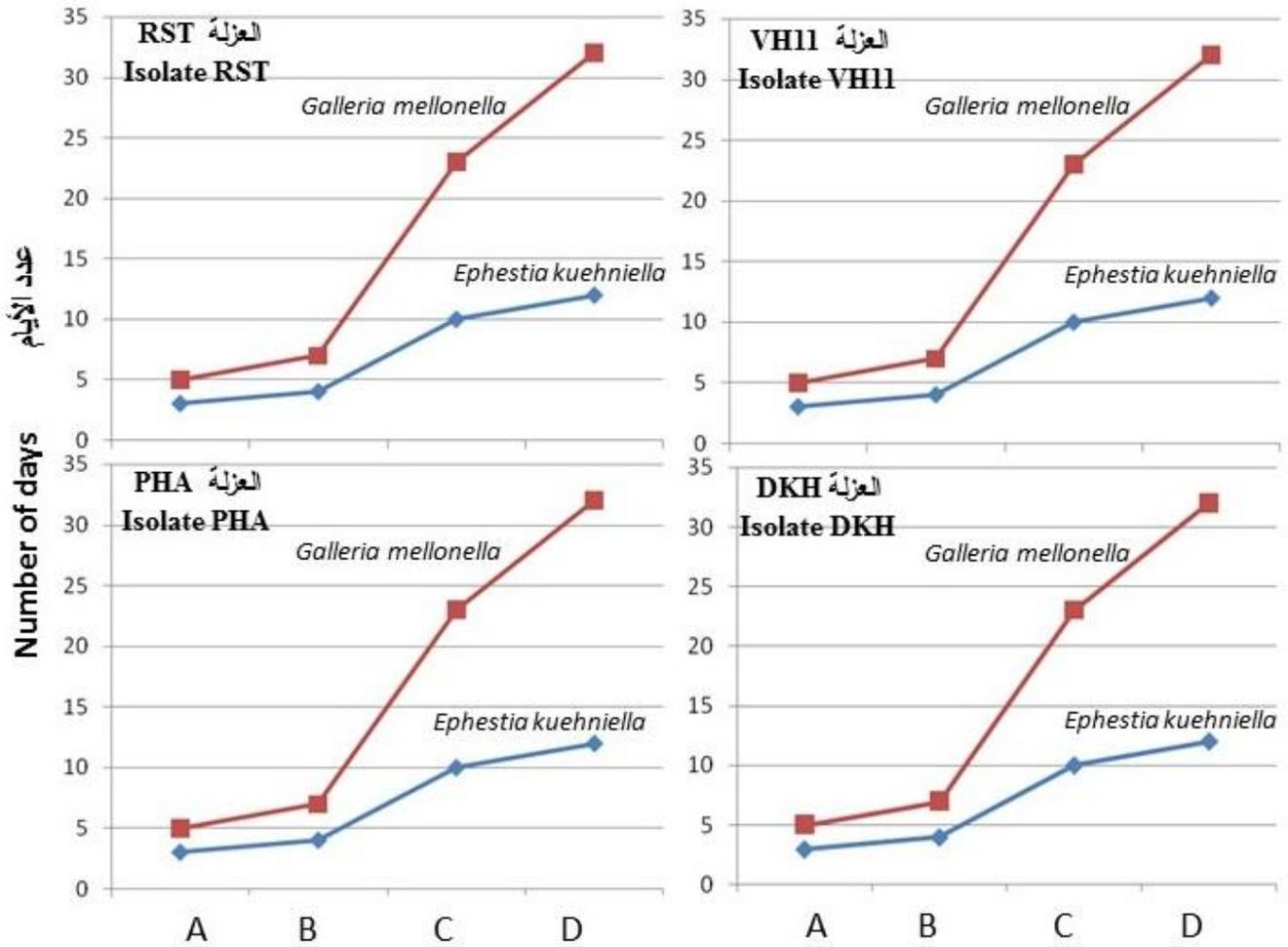
القيم المتبوعة بأحرف متشابهة (عمودياً) لا توجد فروق معنوية بينها عند مستوى احتمال 0.01

Values followed by the same letter in the same column are not significantly different at P= 0.01

- العزلة VH11 من النوع *Heterorhabditis*: تراوح عدد الأفراد المعدية الخارجة من يرقات فراشة الشمع بين 86-134 ألف طور معدي/مل، ولم يكن هناك فروق معنوية بين التراكيز.
- العزلة PHA من الجنس *Heterorhabditis*: تراوح عدد أفراد الطور المعدية الخارجة من يرقات فراشة الشمع المعدة بهذه العزلة في حدود 76-115 ألف فرد معدي/يرقة وكانت هناك فروق معنوية بين التراكيز حيث تفوق التركيزان 500 و 1000 فرد معدي/مل على باقي التراكيز.
- العزلة DKH من الجنس *Heterorhabditis*: تراوح عدد الأفراد الخارجة من يرقات فراشة الشمع المعدة بهذه العزلة في حدود 121-86 ألف فرد/يرقة، وكان هناك فروق معنوية بين التراكيز حيث تفوقت التراكيز 250، 500، 1000 فرد معدي/مل معنوياً على باقي التراكيز (جدول 3).

تحديد الكثافة العددية لأفراد الطور المعدي الخارجة من فراشة الطحين وفراشة الشمع

- دلت نتائج التحليل الإحصائي على اختلاف كثافة أعداد أفراد الطور المعدية باختلاف العائل والعزلة والتركيز المستخدم في العدوى من كل عزلة وكانت النتائج عند فراشة الشمع كالتالي:
- العزلة RST من الجنس *Steinernema*: تراوحت كثافة الأطوار المعدية الخارجة من يرقة فراشة الشمع في حدود 91-123 ألف فرد معدي/مل حسب التركيز المستخدم في الإعداد حيث ازداد العدد مع زيادة التركيز، وتفوقت التراكيز 250-500-1000 فرد معدي/مل معنوياً على باقي التراكيز حيث أعطت يرقات فراشة الشمع عند هذه التراكيز الكثافة العددية الأعلى من الطور المعدية.



1. دينامية عزلات الـنيماتودا ضمن عائلتين مختلفين. A= 50% من اليرقات، B=

100% من اليرقات، C= وقت خروج أفراد الطور المعدي من اليرقات، D= الفترة التي استمرت بها أفراد الـنيماتودا بالخروج من اليرقة.

Figure 1. Dynamics of the entomopathogenic nematode isolates in two different hosts. A= the time required to kill 50% of larvae, B= the time required to kill 100% of larvae, C= the time of emergence of infective juveniles out of larva, D= the time of continued emergence of infective juveniles out of larvae.

- العزلة PHA من الجنس *Heterorhabditis*: بلغ عدد الأفراد الناتجة عنها في حدود 31-57 ألف فرد معدي/يرقة وكانت هناك فروق معنوية بين التراكيز وتفق التركيزان 500 و 1000 فرد معدي/مل على باقي التراكيز.

- العزلة DKH من الجنس *Heterorhabditis*: كان عدد الأفراد في حدود 36-51 ألف فرد معدي من اليرقة الواحدة، وكانت هناك فروق معنوية بين التراكيز حيث تفوق التركيزان 500 و 1000 فرد معدي/مل معنوياً على التركيز 250 فرد معدي/مل وتفق هذا الأخير على باقي التراكيز (جدول 3).

ومن ناحية أخرى لم تشر نتائج التحليل الإحصائي إلى معنوية الفروق بين أعداد أفراد الطور المعدي الخارجة من يرقات فراشة الشمع

أما بالنسبة ليرقات فراشة الطحين فكانت النتائج كالتالي :

- العزلة RST من الجنس *Steinernema*: تراوحت أعداد أفراد الطور المعدي في حدود 32-54 ألف فرد معدي/مل/يرقة وكانت هناك فروق معنوية بين التراكيز حيث تفوق التركيزان 500 و 1000 فرد معدي/مل معنوياً على باقي التراكيز وأعطت اليرقات المصابة عندها أعلى عدد.

- العزلة VH11 من النوع *Heterorhabditis indica*: بلغ عدد الأفراد المعداة 20-36 ألف فرد معدي/يرقة وكانت هناك فروق معنوية بين التراكيز حيث تفوق التركيزان 500 و 1000 فرد معدي/مل على باقي التراكيز كما تفوقت التراكيز 100 و 250 فرد معدي/مل على التركيز 50 فرد معدي/مل.

العائلين وبالتالي تحديد إمكانية التربية على عائل آخر، حيث تم أخذ متوسط أوزان 30 يرقة من يرقات فراشة الشمع فكان مساوياً 0.17 غ لليرقة الواحدة، كما أخذ متوسط أوزان 30 يرقة من يرقات فراشة الطحين وكان مساوياً 0.02 غ لليرقة الواحدة ثم تم حساب عدد أفراد الطور المعدي الخارجة من 0.02 غ من وزن يرقة فراشة الشمع وهو المعادل لوزن يرقة فراشة الطحين (0.02 غ)، ويبين جدول 4 الإنتاج العددي ليرقة فراشة الشمع من الطور المعدي من وحدة الوزن 0.02 غ وأيضاً من 1 غ.

المعدة بالعزلات الأربع المختلفة. بينما تفوقت العزلات DKH، PHA و RST معنوياً على العزلة VH11 وذلك عند استخدام هذه العزلات على يرقات فراشة الطحين.

واستناداً إلى الدراسات المرجعية ذات الصلة والتي تشير إلى اختلاف عدد أفراد الطور المعدي المتحرر من يرقات الحشرات الميته باختلاف عزلة ونوع النيما تودا ونوع العائل وحجمه وحساسية العائل للنيما تودا (6، 11، 15) ومن أجل تحديد الإنتاج الكمي من وحدة وزن واحدة من العائل الحشري قمنا بتوحيد وزن العائل لنستطيع المقارنة بين

3. الكثافة العددية

() .

Table 3. Numerical density for numbers of infective juvenile emerging from larva of host (number in thousands)

| الكثافة العددية لأفراد الطور المعدي الخارجة من يرقات العائل (العدد بالآلاف) | | | | العائل/التركيز (فرد معدي /) Host/concentration (no. of infective juveniles/ml) |
|---|-----------|----------|----------|--|
| numerical density For numbers of infective juvenile emerging from larva of host (number in thousands) | | | | |
| DKH | PHA | VH11 | RST | فراشة الطحين Flour moth |
| c 36.00 | c 31.67 | c 20.00 | b 32.33 | 50 |
| c 38.33 | b 38.00 | bc 27.00 | b 35.00 | 100 |
| b 43.33 | b 43.33 | bc 27.33 | b 36.67 | 250 |
| a 48.33 | a 51.67 | ab 35.00 | a 46.67 | 500 |
| a 51.67 | a 57.33 | a 36.66 | a 54.67 | 1000 |
| Wax moth | | | | |
| b 86.67 | d 76.33 | a 86.67 | b 91.67 | 100 |
| b 87.33 | cd 86.67 | a 95.00 | b 98.33 | 250 |
| a 111.67 | bc 91.67 | a 102.00 | a 113.33 | 500 |
| a 115.00 | ab 101.66 | a 123.33 | a 116.67 | 1000 |
| a 121.67 | a 115.00 | a 134.00 | a 123.33 | 100 |

نفسه يوجد بينها فروق معنوية عند مستوى 0.01

القيم المتبوعة

Values followed by the same letters in the same row are not significantly different at P= 0.01.

4. الكثافة العددية المنتجة من 1 و 0.02 من يرقة فراشة الشمع.

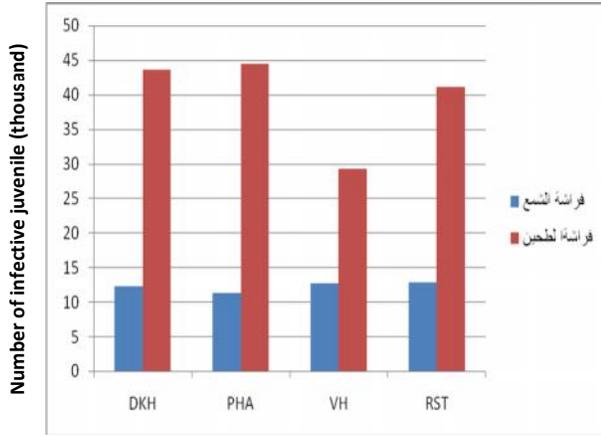
Table 4. The number of infective juveniles produced from 1 g and 0.02 g of *Galleria mellonella*.

| الكثافة العددية المنتجة من 1 غ من يرقة | | | | الكثافة العددية المنتجة من 0.02 غ من يرقة فراشة الشمع | | | | التركيز Concentrations |
|---|--------|--------|--------|--|-------|-------|--------|---------------------------|
| The number of infective juveniles produced from 1 g of <i>Galleria mellonella</i> | | | | The number of infective juveniles produced from 0.02 g of <i>Galleria mellonella</i> . | | | | |
| DKH | PHA | VH | RST | DKH | PHA | VH11 | RST | |
| 509.82 | 449.00 | 509.82 | 539.23 | 10.19 | 8.98 | 10.19 | 10.78 | 50 |
| 513.70 | 509.82 | 558.82 | 578.41 | 10.27 | 10.19 | 11.17 | 11.56 | 100 |
| 656.88 | 362.76 | 600.00 | 666.60 | 13.13 | 10.78 | 12.00 | 13.33 | 250 |
| 676.47 | 598.00 | 725.47 | 686.29 | 13.52 | 11.96 | 14.50 | 13.72 | 500 |
| 715.70 | 676.47 | 788.23 | 600.00 | 14.31 | 13.52 | 15.76 | 145.00 | 1000 |

There are no significant differences between isolates at P= 0.01.

0.01

لا توجد فروق معنوية بين العزلات



2. التباين بين إنتاجية يرقة فرانسة الطحين و يرقة فرانسة الشمع من نيماتودا

Figure 2. The production of nematode infective juveniles in the larvae of *Ephestia kuehniella* as compared to those produced in *Galleria mellonella*.

وتشير نتائج تحليل التباين إلى معنوية الفروق في الإنتاج الكمي لأفراد الطور المعدي الناتجة من العائلين حيث تفوقت يرقات فرانسة الطحين في إنتاجيتها لهذه الأفراد معنوياً على يرقات فرانسة الشمع وذلك عند وحدة الوزن 0.02 غ (شكل 2). وبما أن يرقات فرانسة الطحين تربي بشكل كمي في مختبر الطفيليات في مركز بحوث ودراسات مكافحة الحبيوية وهي موجودة بأعداد كبيرة فيمكن استخدامها كعائل بديل لتربية وإنتاج النيماتودا الممرضة للحشرات بعد دراسة الجدوى الاقتصادية. وتجدر الإشارة هنا إلى أن هذا التقويم قد يكون الأول في مجال دراسات النيماتودا الممرضة للحشرات على المستوى العالمي ولا توجد دراسات مرجعية في هذا المجال. ويوضح الشكل 2 الفرق بين إنتاجية يرقة فرانسة الطحين و يرقة فرانسة الشمع من الطور المعدي للنيماتودا.

Abstract

Basheer, A.M., A.A. Jawish and K. Al-Assas. 2014. Laboratory rearing of entomopathogenic nematodes on Mediterranean flour moth *Ephestia kuehniella* Zell. Arab Journal of Plant Protection, 32(3): 226-233.

The potential use of Mediterranean flour moth *Ephestia kuehniella* larvae for the rearing and propagation of some entomopathogenic nematode isolates collected from Damascus province soils was investigated. Four nematode isolates were used: VH11 (*Heterorhabditisindica*), PHA and DKH9 of *Heterorhabditis* sp. and RST of *Steinernema* sp. These isolates were used in five concentrations (1000, 500, 250, 100, 50 infective individuals/ml). The results showed that *Ephestia kuehniella* was very sensitive to nematode infection, and the entomopathogenic nematode life cycle in it was shorter than that in larvae of wax moth. The quantitative production was identified as the number of nematodes in a fixed weight (0.02g) of insect host. The average production of wax larvae ranged between 10 and 15 thousand individuals in wax moth larva, and 36-57 thousands in *Ephestia kuehniella*. The flour moth larvae significantly produced more infective individuals than larvae of wax moth.

Keywords: Mediterranean flour moth, rearing, entomopathogenic nematode, biological control.

Corresponding author: A. M. Basheer, Department of Plant protection, Faculty of Agriculture, Damascus University, Damascus, Syria, Email: basherofecky@yahoo.com

References

1. Akhurst, R.J. 1986. *Xenorhabdus nematophilus* spp. *poinari*: its interaction with insect pathogenic nematodes. Systematic and Applied Microbiolog, 8:142-147.
2. Bedding, R., R. Akurst and H. Kaya (eds). 1993. Nematodes and the Biological control of insect Pests. East Melbourne. Australia. CSIRO Publications. 13: 129-135.
3. Burnell, A.M. and P. Stock. 2000. *Heterorhabditis*, *Steinernema* and their symbionts-lethal pathogens of insects. Nematology, 2:31-42
4. Dutky, S.R., J.V. Thompson and G.E. Cantwell. 1964. A technique for the mass propagation of the DD – 136 nematode. Journal of Insect Pathology, 6: 417-422.
5. Gaugler, R., P. Grewal, H.K. Kaya and D. Smith – Fiola. 2000. Quality assessment of commercially produced entomopathogenic nematodes. Biological Control, 17: 100-109.
6. Grewal, P.S., E.E. Lewis, R. Gaugler and J.F. Campbell. 1994. Host finding behavior as a predictor of foraging strategy in entomopathogenic nematodes. Parasitology, 108: 207-215.
7. Han, R. and R. Ehlers. 2000. Pathogenicity, development, and reproduction of *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae* under axenic *in vivo* conditions. Journal of Invertebrate Pathology, 77: 55-58
8. Kaya, H.K. and R. Gaugler. 1993. Entomopathogenic nematodes. Annual Review of Entomology, 38: 181-206.
9. Kaya, H.K., K. Evans, D.L. Trudgill and J.M. Webster (eds). 1993. Entomogenous and entomopathogenic nematodes in biological control. Pages 565-591. In: Plant Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture. CAB International, Wallingford, UK.

المراجع

10. **Kaya, H.K. and A.M. Koppenhofer.** 2004. Biological control of insect and other invertebrates with nematodes. Pages 1083-1132. In: Nematology: Advances and Perspective. Z.X. Chen, S.Y. Chen and D.W. Dixon (eds.). Vol. 2, Nematode Management and Utilization. CABI Publishing, Walling., UK.
11. **Lewis, E.E., P.S. Grewal and S. Sardanell.** 2001. Interactions between the *Steinernema feltiae* – *Xanorhabdus bovienii* insect pathogen complex and the root- knot nematode *Meloidogyne incognita*. Biological Control, 21:55-65.
12. **Mracek, Z. and G. Jenser.**1988. First report on entomogenous nematodes of the families Steinernematidae and Heterorhabditidae from Hungary. Actaphytopathologica et Entomologica Hungaricae, 23: 153-156.
13. **Nickle, W.R.** 1984. History, development, and importance of insect nematology. Pages 627-653. In: Plant and insect nematodes. W.R. Nickle (ed). New York: Macel Dekker.
14. **Tanada, Y. and H.K. Kaya.** 1993. Insect Pathology. Academic Press. San Diego, CA. 666 pp.
15. **Ünlü, I.O. and N. Ozer.** 2003. Evaluation of the reproduction potential and competition between two entomopathogenic nematodes, *Steinernema feltiae* Filipjev, 1934 (Rhabditida: Steinernematidae) and *Heterorhabditis bacteriophora*, Poinar 1976 (Rhabditida: Heterorhabditidae). Turkish Journal of Biology, 27: 149-155.
16. **White, G.F.** 1927. A method for obtaining infective nematode larvae from culture. Science, 66: 302-303

Received: May 2, 2012; Accepted: July 10, 2013

تاريخ الاستلام: 2012/5/2؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2013/7/10