

حساسية الأطوار المختلفة لدودة ورق القطن (*Spodoptera littoralis* (Boisd.))للإصابة بالفطر *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. مخبرياً

محمد أحمد، ابتسام غزال ولبنى رجب

قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية، البريد الإلكتروني: lobnarajabbassiana@gmail.com

## الملخص

أحمد، محمد، ابتسام غزال ولبنى رجب. 2017. حساسية الأطوار المختلفة لدودة ورق القطن (*Spodoptera littoralis* (Boisd.)) للإصابة بالفطر *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. مخبرياً. مجلة وقاية النبات العربية، 35(3): 131-138.

أجرى هذا البحث لتحديد أطوار دودة ورق القطن (*Spodoptera littoralis* (Boisd.)) الأكثر حساسية للإصابة بالفطر *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. استُخدمت عزلة من الفطر على شكل معلق بوعي تركيزه  $10^6$  بوغ/مل، حيث رُشَّ المعلق البوعي على كلِّ من اليرقات بالأعمار اليرقية الأول والثالث والسادس كلَّ على حده، وطوري العذارى والبالغات، بينما غُمست لطح البيض بالمعلق البوعي. بيَّنت النتائج حساسية جميع الأطوار المختبرة من دودة ورق القطن للإصابة بالفطر *B. bassiana*. تباينت الحساسية بين الأطوار المختلفة، فأظهر العمران اليرقيان الأول والثالث حساسية أعلى للفطر مع نسبة موت بلغت 100% لكل منهما في اليوم الثالث والخامس من التجربة، على التوالي، تلاهما طورا البيضة والعذراء مع نسب موت وصلت إلى 83 و58% بعد 4 و15 يوماً من المعاملة، على التوالي. كما أبدى طور البالغات حساسية واضحة تجاه هذا الفطر مع نسبة موت بلغت 32% في اليوم الخامس. بينما كانت يرقات العمر الأخير (السادس) الأقل حساسية للفطر المدروس مع نسبة موت 18% في اليوم السادس. وأظهرت النتائج ازدياد قيم الزمن القاتل النصفية  $LT_{50}$  مع ازدياد العمر اليرقي. كلمات مفتاحية: دودة ورق القطن (*Spodoptera littoralis* (Boisd.))، *Beauveria bassiana*، الفطور المرصدة للحشرات.

## المقدمة

تتميز *S. littoralis* بسرعة التكاثر، والخصوبة العالية، وتعدّ الأجيال وظهور سلالات مقاومة للمبيدات الكيميائية في كثير من الأحيان (13). دفع كل ذلك للبحث عن وسائل مكافحة تكون فعالة وآمنة بيئياً في الوقت نفسه، وتُقدّم المكافحة الحيوية بعناصرها المختلفة حلاً ناجحاً وفعال لإدارة هذه الآفة (18).

برز مؤخراً دور ممرضات الحشرات من فطور ونيماطودا وبكتيريا وفيروسات في مكافحة هذه الحشرة (21). وتُعد الفطور المرصدة للحشرات Entomopathogenic Fungi (EPF) إحدى أهم هذه المجموعات. يصل الفطر إلى هيمولف الحشرة من خلال الكيوتيكل، بينما يجب أن تمر الإصابات البكتيرية والفيروسية عبر الجهاز الهضمي وجدار القناة الهضمية (27). وبالإضافة لقدرتها على اختراق جدار جسم عوائلها، تمتلك الفطور المرصدة للحشرات ميزات واضحة مقارنة مع الممرضات الحشرية الأخرى، منذ ظهرت قدرتها على مهاجمة كل مراحل تطور الحشرات بما فيها طوري البيضة والعذراء (16). أبرز هذه الفطور هو الفطر *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil (*Ascomycota: Hypocreales*) الذي يتميز بمداه العوائل الكبير،

تُعد دودة ورق القطن (*Spodoptera littoralis* (Boisd.)) (Lepidoptera: Noctuidae) من الآفات الزراعية متعددة العوائل ذات الأهمية الاقتصادية على كثير من المحاصيل المزروعة (22)، حيث تهاجم نباتات تنتمي لأكثر من 44 فصيلة نباتية مختلفة منها الباذنجانيات، البقوليات، الصليبيات وغيرها (12). وقد سُجلت في سورية في العديد من الإحصائيات (12، 15).

تتفاوت كثافة مجتمع الحشرة والضرر إلى حدٍ كبير من سنة لأخرى (13). ينتج الضرر عن تغذية اليرقات على الأوراق، ويمكنها أن تقضي على النبات بالكامل في حال الإصابة الشديدة (17). تُعد يرقات هذه الحشرة متغذيات خارجية في معظم الحالات، لكن في بعض الأحيان تحفر داخل أجزاء النبات كالثمار، وتملؤها بالمخلفات (26)، مما يجعلها غير مناسبة للاستهلاك، ويمكن أن تحفر في الساق، وتتغذى أيضاً على البراعم والأزهار. عندما تصيب نباتات القطن فإنها تهاجم أحياناً جوزات القطن وبراعم الأزهار والسوق (15).

وانتشاره الطبيعي والجغرافي الواسع، وفاعليته العالية ضدّ العديد من الرتب الحشرية (24).

يُذكر أن الفطر *B. bassiana* كان يتبع سابقاً الفطور الناقصة Deuteromycota رتبة Moniliales فصيلة Moniliaceae (10)، وذلك قبل اعتماد التصنيف الحديث القائم على البيولوجيا الجزيئية. وبالرغم من أن الحشرة قد طوّرت منظومة هائلة من الدفاعات ضدّ الكائنات الحية الدقيقة الموجودة في البيئة التي تسكن فيها، بدءاً بالكيتوتيكال المدعّم بمركبات وإفرازات مضادة للأحياء الدقيقة، زيادة التصبغ (Melanization) وترسب السيكلروتين في الكيتوتيكال، التكيفات السلوكية من اختباء ورفع درجة حرارة الجسم، والانسلاخ الذي ينظف بشكل فعال السطح الخارجي للحشرة (27). يُضاف إلى ذلك آليات الدفاع الخلوية مثل البلعمة وتضاعف خلايا هيومولف التي تحيط ببنيات الفطر بالكبسلة (9). إلا أنّ الفطر *B. bassiana* يتجنّب هذه الدفاعات من خلال سرعة الإنبات والاختراق، وزيادة المقاومة للمركبات المضادة للفطور، وزيادة إنتاج المستقبلات الثانوية بما فيها السموم والتي هدفها ليس فقط العائل ولكن كذلك الأحياء الدقيقة المنافسة، وتطوير خلايا شبيهة بالبروتوبلاست داخل الحشرة، تركيبها غير معروف تماماً، لا يستطيع هيومولف الحشرة التعرّف عليها وبالتالي مهاجمتها (27). ولا بد من الإشارة إلى أن محاولات خلايا هيومولف الحشرة لبلعمة وكبسلة الأبواغ الفطرية الغازية تكون غير فعّالة عادةً مع الفطور العالية الشراسة مثل الفطر *B. bassiana* (28). وتُعد دراسة تأثير الفطر في كافة أطوار دودة ورق القطن مخبرياً خطوة ضرورية للحصول على معلومات أولية قبل البدء بأي برنامج مكافحة للآفة.

تأتي أهمية هذا البحث من الدور الكبير الذي تقوم به الفطور في مكافحة الحيوية للآفات المختلفة، وضرورة استخدامها في برامج الإدارة المتكاملة للآفات كونها فعّالة وآمنة بيئياً، ومن انتشار الفطر *B. bassiana* ووجوده في التربة المحلية، بالإضافة لخطورة حشرة دودة ورق القطن على المحاصيل الزراعية المختلفة في ظروف الساحل السوري. لذلك جاء البحث الحالي لدراسة فعالية استخدام الفطر *B. bassiana* ضدّ الأطوار المختلفة لهذه الحشرة مخبرياً.

## مواد البحث وطرائقه

نُفذ البحث خلال عامي 2015 و2016 في مختبرات كليتي الزراعة والعلوم بجامعة تشرين.

### تربية دودة ورق القطن *S. littoralis* في المختبر

جمعت يرقات دودة ورق القطن من خلال القيام بجولات حقلية، حيث ظهرت على العديد من المحاصيل المزروعة والنباتات البرية في

الساحل السوري (جدول 1). وتم إكثارها مخبرياً على أوراق الخروع (*Ricinus communis* L.) للوصول إلى أعداد كافية لإجراء التجارب عليها.

**جدول 1.** العوائل النباتية التي وُجدت عليها حشرة *S. littoralis* في الساحل السوري

**Table 1.** Host plants of *S. littoralis* along the Syrian coast.

الفصيلة	الاسم العلمي	Name	الاسم
Family	Scientific name		
Brassicaceae	<i>Brassica oleracea</i>	Cabbage	الملفوف
Cucurbitaceae	<i>Cucumis sativus</i>	Cucumber	الخيار
Fabaceae	<i>Arachis hypogaea</i>	Peanut	القول السوداني
Fabaceae	<i>Vigna unguiculata</i>	Cowpea	اللوبياء
Fabaceae	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Dry bean	الفاصولياء
Tiliaceae	<i>Corchorus olitorius</i>		الملوخية
		Jewish mallow	
Apiaceae	<i>Petroselinum crispum</i>	Parsely	البقدونس
Portulacaceae	<i>Portulaca oleracea</i>	Purslane	البقلة/الرجلة
Amaranthaceae	<i>Amaranthus</i> sp.	Amaranth	القطيفة
Lamiaceae	<i>Mentha varidis</i>	Mint	النعناع
Solanaceae	<i>Lycopersicum esculentum</i>	Tomato	البندورة/الطماطم
Malvaceae	<i>Abelmoschus esculentus</i>	Okra	البامياء
Poaceae	-		نجليات برية
			Wild grasses

## الحصول على العزلة الفطرية من الفطر *Beauveria bassiana* وتحضير المعلق البوغي

استُخدم في هذا البحث العزلة B4 من الفطر *B. bassiana*، والتي تم عزلها من تربة مزروعة بالبقدونس خلال 2015 من منطقة بانياس في الساحل السوري، عُرلت بطريقة الجاليريا كقطع "Galleria Bait Method" الموصوفة من قبل Meyling (23) و Zimmermann (32)، وذلك بإضافة يرقات دودة الشمع الكبرى *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) بالعمر الأخير إلى عينات التربة ثم عزل الفطر من اليرقات بعد إصابتها. تم توصيف وتصنيف العزلة وفق عدد من المفاتيح التصنيفية (10، 19، 29). زُرع الفطر في أطباق بتري (9 سم) على مستنبت ديكتروز آجار البطاطا (PDA (potato dextrose agar، حُصن في الظلام عند حرارة 26±1°س لمدة أسبوعين، ثم وضعت الأطباق عند حرارة 4°س لحين الاستخدام.

حُضِر المعلق البوغي بالتركيز 10<sup>6</sup> بوغ/مل وفق ما يلي: جمعت الأبواغ الكونيدية من كل طبق في اليوم الرابع عشر من التحضين باستخدام 10 مل ماء مقطر معقم مضافاً إليه 0.05% محلول توين 80. كُشط سطح المستعمرة باستخدام إبرة معقمة للحصول على أكبر كمية ممكنة من الأبواغ. ورُشح المعلق الناتج باستخدام طبقتين من الشاش

للتهوية، بينما رُشَّت مكررات الشاهد بماء توين فقط، وحُصِّنت العلب عند حرارة  $1 \pm 26$  °س. أُخذت القراءات بعد 7 و15 يوماً من التحضين (21).

#### اختبار حساسية بالغات دودة ورق القطن للفطر *B. bassiana*

نُفذت التجربة باستخدام 10 بالغات لكل مكرر دون الأخذ بالاعتبار لجنس هذه البالغات ذكوراً أم إناثاً، و5 مكررات لكل معاملة. رُشَّت البالغات بـ 5 مل من المعلق البوغي للعزلة الفطرية بالتركيز  $10^6$  بوغ/مل، ثم وُضعت البالغات بعد رَشِّها في علب بلاستيكية سعة 500 مل مغطاة بشاش، وموضوع داخلها قطع كرتونية صغيرة لوضع البيض، وعبوات صغيرة مملوءة بمحلول سكري بتركيز 10% للتغذية، بينما رُشَّت مكررات الشاهد بماء توين فقط، وحُصِّنت العلب عند حرارة  $1 \pm 26$  °س، وأُخذت القراءات بشكل يومي (1).

#### التحليل الإحصائي

خُلَّت النتائج باستخدام البرنامج الإحصائي CoStat لحساب الفروق المعنوية بين العوامل المدروسة المختلفة باستخدام اختبار التباين One Way ANOVA عند أقل فرق معنوي (LSD) عند الاحتمال 5%. كما حُصِب الزمن القاتل النصفية  $LT_{50}$  عند مقارنة تأثير الفطر في الأعمار اليرقية المختلفة، وذلك باتباع طريقة تحليل البروبيت Probit Analysis باستخدام البرنامج الإحصائي BioStat v5.

#### النتائج والمناقشة

##### اختبار حساسية طور بيض دودة ورق القطن للفطر *B. bassiana*

بيّنت النتائج بدء فقس البيض في مكررات الشاهد منذ اليوم الثالث من بدء التجربة. وصلت نسبة الفقس في اليوم الرابع إلى 94% مقابل 17% عند المعاملة بالمعلق البوغي ذي التركيز  $10^6$  بوغ/مل للعزلة B4. تتفق هذه النتيجة مع نتائج سابقة (1)، حيث انخفضت نسبة فقس البيض المعامل بالفطر *B. bassiana* إلى 9.4 و8.7% بالنسبة للبيض بعمر 1-2 و3-4 يوماً، على التوالي. وبلغت نسب فقس البيض 10، 22 و35% عند المعاملة بالفطور الممرضة التالية *Aspergillus flavus*، *Aspergillus parasiticus* و *Penicillium falicum*، على التوالي (30)، كما برهن Al-Kherb (5) على قدرة كل من *B. bassiana* و *M. anisopliae* على قتل بيض *S. exigua* بنسب موت وصلت إلى 50 و37.6%، على التوالي.

لإزالة قطع الميسيليوم والبيئة العالقة، ثم وُضع المعلق النهائي على رَجَّاج كهربائي لمدة 10 دقائق لضمان توزيع متجانس للأبواغ. واستُخدمت شريحة مالاسيه Malassez counting chamber لحساب عدد الأبواغ باستخدام المجهر العادي بتكبير 40x.

حُصِر المعلق البوغي لكل اختبار على حده، ثم غُدِّل بإضافة محلول توين 80 للوصول إلى التركيز المطلوب ( $10^6$  بوغ/مل) وفق المعادلة: نسبة التخفيف = النسبة المحسوبة/ النسبة المطلوبة (21).

##### اختبار حساسية طور البيض من دودة ورق القطن للفطر *B. bassiana*

جُمعت لطح البيض بعمر 12-24 ساعة من أوعية التربية مع القصاصات الورقية التي وضعت عليها. تُركت على كل قصاصة لطح واحدة، وفي كل لطح تُركت 20 بيضة، وأزيل البيض الباقي واعتُبرت مكرراً. حُصِرَت 5 مكررات لكل معاملة. وغُمست كل قصاصة مع البيض في المعلق البوغي للعزلة الفطرية لمدة دقيقة واحدة، بينما غُمست مكررات الشاهد في محلول توين 80، ثم تُركت لتجف هوائياً، ثم نُقلت كل قصاصة إلى طبق بتري (9 سم) مزود بورق ترشيع مرطب، وحُصِّنت عند حرارة  $1 \pm 26$  °س. سُجِّلَت النسب المئوية للفقس بعد 2 و4 أيام من المعاملة (1).

##### اختبار حساسية طور اليرقة من دودة ورق القطن للفطر *B. bassiana*

أُجريت هذه التجربة على ثلاثة أعمار يرقية (الأول، الثالث، السادس (الأخير)) كل على حده. استُخدمت 10 يرقات لكل مكرر و5 مكررات لكل معاملة. رُشَّت اليرقات بالمعلق البوغي للعزلة الفطرية ورُشَّت مكررات الشاهد بمحلول توين فقط. تُركت اليرقات لتجف هوائياً ونُقلت إلى أطباق بتري (9 سم) تحوي أوراق خروج نظيفة، ماعدا العمر الأخير فقد استُخدمت له عبوات كبيرة لمحاولة تجنُّب الافتراس الذاتي والسماح بحركة اليرقات كونها بطول حوالي 5 سم. حُصِّنت عند حرارة  $1 \pm 26$  °س، وسُجِّلَت القراءات بشكل يومي مع استبدال أوراق الخروج عند الحاجة (1).

##### اختبار حساسية عذارى دودة ورق القطن للفطر *B. bassiana*

نُفذت التجربة باستخدام 10 عذارى لكل مكرر و5 مكررات لكل معاملة. اختيرت العذارى حديثة التشكل بعمر من ساعة وحتى 24 ساعة. رُشَّت بـ 5 مل من المعلق البوغي للعزلة الفطرية بالتركيز  $10^6$  بوغ/مل وذلك باستخدام مرش يدوي، ثم تُركت حتى تجف هوائياً. وُضعت كل 10 عذارى في علب بلاستيكية ارتفاعها حوالي 5.5 سم للسماح بحركة البالغات في حال خروجها، مع ورق ترشيع مرطب، وغُطِّيت العلب بشاش

كبير واكتمال دفاعات الحشرة ضد الفطر، وبالتالي زيادة قدرة الحشرة في هذا العمر على مقاومة الفطر الغازي.

وبمقارنة تأثير الفطر *B. bassiana* في الأعمار اليرقية معاً، تبين تناقص تأثير الفطر مع تقدم العمر اليرقي بسبب زيادة صلابة جدار الجسم. وبلغ الزمن القاتل النصفى 1.14، 2.92 و 8.21 يوماً للأعمار اليرقية الأولى والثالث والسادس، على التوالي (جدول 5). وقد أشار كل من Anand وآخرون (7) و Asi (8) سابقاً إلى تناقص تأثير الفطر مع تقدم العمر اليرقي.

تتفق نتائج الدراسة مع نتائج العبيدي وسمير (1) بالنسبة لتأثير الفطر في طور اليرقة والذي بلغ 100% لكل من الأعمار اليرقية الأولى والثالث والخامس بعد 14 يوماً من المعاملة. كما تتفق النتائج مع ما أشار إليه Abboud وآخرون (2) الذين بينوا فعالية هذا الفطر ضد يرقات دودة ورق القطن في الحقل بنسبة موت تجاوزت (90%)، بينما اختلفت هذه النتائج مع Amer وآخرون (6) حيث لم يُبد الفطر عند استخدامه بتركيزات عالية تأثيراً ملحوظاً في يرقات دودة ورق القطن بالعمر الثاني، ويعود هذا التباين لتفاوت شراسة العزلات الفطرية فيما بينها وتأثير البيئة التي عُزل منها الفطر.

**جدول 3.** متوسط نسب الموت (%) التي سببتها العزلة B4 ليرقات العمر الثالث من دودة ورق القطن تحت ظروف المختبر.

**Table 3.** Average mortality rate caused by *B. bassiana* isolate B4 to the third instar larvae of *S. littoralis* under laboratory conditions.

متوسط نسب الموت (%) ± الانحراف المعياري Average mortality rate ±SD		الزمن بعد المعاملة Days post treatment	
الشاهد Control	العزلة B4 Isolate B4	اليوم الأول 1 <sup>st</sup> day	اليوم الثاني 2 <sup>nd</sup> day
0±0.00	4±5.47	اليوم الثالث 3 <sup>rd</sup> day	اليوم الرابع 4 <sup>th</sup> day
0±0.00	34±11.41	اليوم الخامس 5 <sup>th</sup> day	المتوسط
2±4.47	42±10.95		
2±4.44	74±11.40		
4±5.47	100±0.00		
1.6±3.74 b	50.8±34.87 a		

**اختبار حساسية عذارى دودة ورق القطن للفطر *B. bassiana***

بين اختبار الفروق المعنوية LSD عند مستوى الاحتمال 5% وجود فروق معنوية بين معاملة العذارى بالفطر المدروس ومعاملة الشاهد. وبلغت نسبة خروج البالغات 42% عند المعاملة بالعزلة B4 مقابل 100% للشاهد، مما يدل على كفاءة العزلة المستخدمة في مكافحة طور العذارى (جدول 6). وتجلت أعراض الإصابة بعد موت العذارى بتغيير اللون وخروج نموات الفطر من بين حلقات الجسم. وقد لوحظ تغيير اللون بعد الموت مباشرةً أما ظهور نموات الفطر خارجياً فكان بعد حوالي 4-6 أيام

**اختبار حساسية طور اليرقة من دودة ورق القطن للفطر *B. bassiana***

**يرقات العمر الأول -** بينت النتائج فعالية عالية للفطر *B. bassiana* في قتل يرقات العمر الأول، وشراسة عالية للعزلة المستخدمة B4 (جدول 1). بلغت نسبة الموت 100% في اليوم الثالث للمعاملة. ويبدو أن يرقات العمر الأول كانت حساسة للإصابة الفطرية، ولم تتشكل لديها بعد آليات المقاومة الكافية لصد الهجوم الفطري، وكيوتيكلاها غير متصلب بشكل كافٍ، لاسيما بأن المعاملة جرت وهي حديثة الخروج من البيضة، أبدى الفطر *B. bassiana* نفس الفعالية بنسبة موت 100% ليرقات العمر الأول للنوع *S. exigua* (5).

**يرقات العمر الثالث -** أدى استخدام العزلة B4 إلى موت يرقات العمر الثالث لدودة ورق القطن *S. littoralis* بنسبة وصلت إلى 100% في اليوم الخامس بعد المعاملة (جدول 2). لوحظ ارتباط نسبة الموت بالزمن فزادت نسبة الموت بشكل خطي مع الزمن، وظهر ذلك واضحاً من قيمة معامل الارتباط  $R^2$  الذي بلغ 0.977 (شكل 1).

**جدول 2.** تأثير العزلة B4 بالتركيز  $10^6$  بوغ/مل في العمر اليرقي الأول لدودة ورق القطن *S. littoralis* تحت ظروف المختبر.

**Table 2.** Effect of the *B. bassiana* isolate B4, with concentration of  $10^6$  spores/ml on the first instar larvae of *S. littoralis* under laboratory conditions.

متوسط نسب الموت (%) ± SD Average mortality % ± SD			
اليوم الأول بعد المعاملة 1 <sup>st</sup> day post treatment	اليوم الثاني بعد المعاملة 2 <sup>nd</sup> day post treatment	اليوم الثالث بعد المعاملة 3 <sup>rd</sup> day post treatment	المعاملة Treatment
38±8.37 a	72±8.37 a	100±0.00 a	العزلة B4 Isolate B4
0±0.00 b	4±5.47 b	8±4.47 b	الشاهد Control

**يرقات العمر السادس -** أظهرت النتائج (جدول 4) وجود تأثير بسيط للفطر *B. bassiana* في يرقات العمر السادس لدودة ورق القطن بالمقارنة مع تأثيره في الأعمار الأخرى المدروسة (الأول والثالث) بالرغم من وجود فرق معنوي مع الشاهد، وبلغت نسبة الموت 18% فقط في اليوم السادس والأخير من المعاملة، وأنهت التجربة في هذا اليوم بسبب نجاح الأفراد الأخرى في الوصول إلى ما قبل العذارى. وبمتابعة هذه الأفراد لاحقاً تبين أنها استطاعت إكمال دورة حياتها وإعطاء جيل تالٍ. ويعود السبب في ضعف تأثير الفطر في هذا العمر اليرقي إلى تصلب جدار الجسم بشكل

ويبدو أن طور العذراء لدودة ورق القطن حساس للممرضات الفطرية الأخرى. فقد وجد Abou-Bakr (3) أن نسبة موت عذارى هذه الحشرة بالفطر *Metarhizium anisopliae* (Ascomycota: Hypocreales) بلغت 44.68% بعد 4 أسابيع من المعاملة. وتوصل Anand وآخرون (7) إلى أنه عند استخدام الفطر *M. anisopliae* ضد عذارى *S. litura* وصلت نسبة الموت إلى 85.5% عند التركيز  $10^8$  بوغ/مل، بينما مع النوع *Cordyceps cardinalis* (Ascomycota: Hypocreales) بلغت 57.3%. كما وجد El-Kataty (14) أن الفطر *Aspergillus flavus* أدى إلى موت عذارى دودة ورق القطن بنسبة 100%. وتوصل Salama و Shoukamy (30) أيضاً إلى النتيجة نفسها، كذلك بيّنوا قدرة الفطر *Penicillium falicum* على قتل عذارى هذه الحشرة إذا ما استُخدم بتركيزات عالية.

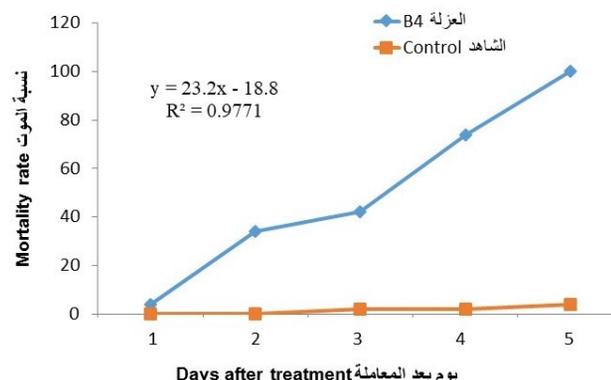
**جدول 5.** تأثير المعلق البوغي للعزلة B4 بالتركيز  $10^6$  بوغ/مل في الأعمار اليرقية المختلفة لدودة ورق القطن *S. littoralis* تحت ظروف المختبر.

**Table 5.** Effect of the *B. bassiana* isolate B4, at the concentration of  $10^6$  spores/ml on different larval instars of *S. littoralis* under laboratory conditions.

نسب موت اليرقات (%) ± الانحراف المعياري			يوماً بعد المعاملة Days post treatment
Average mortality rate ±SD			
الطور اليرقي			المتوسط Average LT <sub>50</sub>
السادس 6 <sup>th</sup>	الثالث 3 <sup>rd</sup>	الأول 1 <sup>st</sup>	
0±0.00	4±5.47	38±8.37	1
0±0.00	34±11.41	72±8.37	2
0±0.00	42±10.95	100±0.00	3
8±7.12	74±11.40	100±0.00	4
12±8.36	100±0.00	100±0.00	5
18±4.47	100±0.00	100±0.00	6
6.33 c	59 b	85 a	
8.21 a	2.92 b	1.14 b	

**اختبار حساسية بالغات دودة ورق القطن للفطر *B. bassiana***  
تبيّن من النتائج قدرة الفطر *B. bassiana* على التأثير في بالغات دودة ورق القطن *S. littoralis* بفرق معنوي عن الشاهد. فكانت البالغات في مكررات الشاهد نشطة الحركة وتقوم بالتزاوج ووضع البيض، بينما لوحظ بأن البالغات التي رُشّت بالمعلق البوغي للعزلة B4 كانت قليلة النشاط ومعدّلات التزاوج ووضع البيض أقل بدرجة كبيرة. وتبيّن لاحقاً أنّ معظم البيض الذي وُضع لم يفقس، بالتالي أثر الفطر على العمليات الحيوية للبالغات.

من الموت بحسب الرطوبة المتوافرة. وبمتابعة الأفراد التي نجحت في الوصول إلى طور البالغة في معاملة الفطر، تبيّن أنها مشوهة الشكل أو غير مكتملة النمو، ولم تستطع إكمال دورة حياتها فلم يحدث تزاوج ووضع بيض. ويعود ذلك لتأثير الفطر وغزوه لأعضائها الداخلية، بعكس البالغات المنبتقة من معاملة الشاهد التي كانت طبيعية وحدث تزاوج ووضع بيض.



**شكل 1.** العلاقة بين الزمن ومتوسط نسب الموت (%) التي سببتها العزلة B4 ليرقات العمر الثالث من دودة ورق القطن تحت ظروف المختبر.

**Figure 1.** The correlation between time and average mortality rate, caused by *B. bassiana* isolate B4 to the third instar larvae of *S. littoralis* under laboratory conditions.

**جدول 4.** متوسط نسب الموت (%) التي سببتها العزلة B4 ليرقات العمر السادس من دودة ورق القطن تحت ظروف المختبر.

**Table 4.** Average mortality rate caused by *B. bassiana* isolate B4 to the sixth instar larvae of *S. littoralis* under laboratory conditions.

متوسط نسب الموت (%) ± الانحراف المعياري			الزمن بعد المعاملة (يوم) Days post treatment
Average mortality rate ± SD			
الشاهد Control	العزلة B4 Isolate B4		
0±0.00	0±0.00		1 <sup>st</sup> day
0±0.00	0±0.00		2 <sup>nd</sup> day
0±0.00	0±0.00		3 <sup>rd</sup> day
0±0.00	8±7.12		4 <sup>th</sup> day
0±0.00	12±8.36		5 <sup>th</sup> day
0±0.00	18±4.47		6 <sup>th</sup> day
0±0.00b	6.33±4.23a		Average

تتفق نتائج هذا البحث مع نتائج العبيدي وسمير (1) التي بلغت فيها نسبة خروج البالغات 50% بعد 15 يوماً من معاملة العذارى بالفطر *B. bassiana*، بينما وجد Vijjayavani وآخرون (31) أنّ عذارى *Spodoptera litura* أبدت حساسية مرتفعة للفطر *B. bassiana* مع نسبة موت 100% وLT<sub>50</sub> وصل إلى 5.1 يوماً.

أظهر طور البالغات حساسية واضحة تجاه هذا الفطر، بينما كانت يرقات العمر الأخير الأقل حساسية للفطر المدروس. حيث بلغت نسبة الموت (%) في اليوم الأخير للعذراء 58%، للبالغة 32%، للبيض 83%، ويرقات عمر أول وعمر ثالث 100% ويرقات عمر ثالث 18%. وقد لاحظ Asi (8) عدم تساوي أطوار *S. litura* كذلك في حساسيتها للفطر *B. bassiana*، فكان البيض واليرقات هي الأكثر حساسية، بينما سجلت العذارى حساسية منخفضة. وبين Kaur وآخرون (20) التأثير المعنوي للفطر *B. bassiana* في الأعمار اليرقية الثاني والثالث والرابع وفي طوري العذراء والبالغة وفسس البيض لحشرة *S. litura*.

ظهر الاختلاف الكبير في حساسية أطوار دودة ورق القطن تجاه الممرضات الفطرية في دراسة سابقة (4)، فقد تبين التأثير القاتل للفطر *Trichoderma harzianum* في يرقات *S. littoralis* بنسبة موت بلغت 80% بعد 5 أيام من المعاملة، بينما لم يكن له أي تأثير في طور العذراء (0%)، وبالعكس أبدى الفطر *Aspergillus flavus* فعالية عالية على عذارى دودة ورق القطن بنسبة موت 100% مقابل 0% على طور اليرقة. وتشير الدراسات المختلفة إلى أن حساسية أطوار أي حشرة للممرضات الفطرية يختلف تبعاً للفطر ونوع الحشرة، ففي بعض الحالات تكون الأطوار غير الكاملة أكثر حساسية من الكاملة وفي حالات أخرى نجد العكس، على سبيل المثال: اليرقات الفتية من حفار ساق الذرة الأوروبي *Ostrinia nubilalis* أكثر حساسية للفطر *B. bassiana* من اليرقات الأكبر عمراً، بالمقابل بالغات تريس الأزهار الغربي *Frankliniella occidentalis* كانت أكثر حساسية للفطر *Verticillium lecanii* من الحوريات (11).

وسجل سابقاً (25) حساسية كل أطوار *S. litura* للفطر *Nomuraea rileyi* وبيننا في هذه الدراسة تزايد قيم  $LC_{50}$  و  $LT_{50}$  مع تزايد العمر اليرقي.

**جدول 6.** متوسط النسب المئوية لخروج البالغات عند معاملة عذارى *S. littoralis* بالمعلق البوغي للفطر *B. bassiana* بالتركيز  $10^6$  بوغ/مل (N=50) تحت ظروف المختبر.

**Table 6.** Average adults' emergence rate from *S. littoralis* pupae treated with the *B. bassiana* concentration of  $10^6$  spore/ml under laboratory conditions (N=50).

متوسط خروج البالغات (%) ± الإرتداد المعياري		
Average adult emergence rate ±SD		
المعاملة	بعد 9 يوم من المعاملة	بعد 15 يوم من المعاملة
Treatment	9 days post treatment	15 days post treatment
العزلة B4 Isolate B4	10±7.07b	42±8.36b
الشاهد Control	30±10a	100±0a

بدأ موت البالغات بعد 3 أيام من بدء التجربة وبلغ 20%، وفي اليوم الخامس وصل إلى 32% مقارنة مع 0% في مكررات الشاهد. ولم تتوافق نسب الموت هذه مع نسب الموت في تجربة العبيدي وسيمير (1) التي وصلت إلى 83% في اليوم الخامس. وبالرغم من أن نسب موت البالغات لم تكن مرتفعة نسبياً في الدراسة الحالية، إلا أنه يعتقد بأن تأثير الفطر كان معنوياً في هذا الطور، كون الهدف من أي مكافحة يكون تخفيف الضرر الناتج عن الآفة قدر الإمكان وليس الموت بحد ذاته، وهذا الهدف محقق من خلال تأثير الفطر *B. bassiana* في العمليات الأساسية التي تستهدف البالغات لأجلها وهي وضع البيض الملقح، وكما ذكرنا من خلال متابعة البيض الذي وضع في هذه التجربة ومراقبته لمدة بعد انتهاء التجربة تبين بأن معظمه لم يفسد وبالتالي انخفض مجتمع الحشرة للجيل القادم بشكل ملحوظ.

أظهرت النتائج اختلاف أطوار دودة ورق القطن في حساسيتها تجاه الفطر *B. bassiana*، حيث أبدت الأعمار اليرقية الأولى حساسية أعلى للفطر مقارنةً بالأطوار الأخرى، تلاها طورا البيضة والعذراء. كما

## Abstract

Ahmad, M., I. Gazal and L. Rajab. 2017. Susceptibility of different stages of the cotton leaf worm *Spodoptera littoralis* (Boisd.) to the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. under laboratory conditions. Arab Journal of Plant Protection, 35(3): 131-138.

This study was conducted to identify the most susceptible stages of the cotton leaf worm *Spodoptera littoralis* (Boisd.) to the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. Conidial suspension from the fungal isolate was prepared as a spores suspension at concentration of  $10^6$  spores/ml. The suspension was sprayed separately on each of the larvae (1<sup>st</sup>, 3<sup>rd</sup>, and 6<sup>th</sup> instars), pupae and adults. Whereas, egg-masses were only dipped in the suspension. Results showed that the fungus *B. bassiana* was able to infect all the tested stages of the cotton leaf worm. Both the 1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> instar larvae showed high susceptibility to infection with 100% mortality. In addition, eggs and pupae mortality reached 83 and 58% after four and 15 days, respectively. Mortality of adults reached 32% on the 5<sup>th</sup> day, whereas the 6<sup>th</sup> instar larvae showed less susceptibility to fungal infection with 18% mortality. The values of lethal time 50 ( $LT_{50}$ ) increased with the increased age of larvae.

**Keywords:** *Spodoptera littoralis*, *Beauveria bassiana*, entomopathogenic fungi.

**Corresponding author:** Lobna Rajab, Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria, Email: lobnarajabbassiana@gmail.com

## References

14. **El-Katatny, M.H.** 2010. Virulence potential of some fungal isolates and their control promise against the Egyptian cotton leaf worm, *Spodoptera littoralis*. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 43: 332-356.
15. **EPPO.** 1997. *Spodoptera littoralis* and *Spodoptera litura*. Data Sheets on Quarantine Pests. Prepared by CABI and EPPO for the EU under Contract 90/399003. 7 pp.
16. **Ferron, P.** 1978. Biological control of insect pests by entomopathogenic fungi. Annual Review of Entomology, 23: 409-442.
17. **Hill, D.S.** 2008. Pests of Crops in Warmer Climates and Their Control. Springer Science + Business Media, B.V. United Kingdom. 704 pp.
18. **Hosny, M.M., C.P. Topper, G.G. Moawad and G.B. El-Saadany.** 1986. Economic damage threshold of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera: Noctuidae) on cotton in Egypt. Crop Protection, 5: 100-104.
19. **Humber, R.A.** 1997. Fungi: identification. Pages 153–185. In: Manual of Techniques in Insect Pathology. L.A. Lacey (ed.). Academic Press. New York. 409 pp.
20. **Kaur, S., H.P. Kaur, K. Kaur and A. Kaur.** 2011. Effect of different concentrations of *Beauveria bassiana* on development and reproductive potential of *Spodoptera litura* (Fabricius). Journal of Biopesticides, 4: 161-168.
21. **Lacey, L.A.** 2012. Manual of Techniques in invertebrate pathology. Second edition, Academic Press, USA. 484 pp.
22. **Lafontaine, J.D. and B.C. Schmidt.** 2010. Annotated check list of the Noctuoidea (Insecta, Lepidoptera) of North America north of Mexico. ZooKeys 40: 1-239.
23. **Meyling, N.V.** 2007. Methods for isolation of Entomopathogenic fungi from the soil environment. Manual for isolation of soil borne entomopathogenic fungi. Department of Ecology, Faculty of Life Sciences, University of Copenhagen, Denmark. 18 pp.
24. **Meyling, N.V. and J. Eilenberg.** 2007. Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: Potential for conservation biological control. Biological Control, 43, 145-155.
25. **Namasivayam, S.K.R. and A.R.S. Bharani.** 2015. Biocontrol potential of entomopathogenic fungi *Nomuraea rileyi* (f.) Samson against major groundnut defoliator *Spodoptera litura* (fab.) Lepidoptera; Noctuidae. Advances in Plants & Agriculture Research, 2: 1-5.
26. **OEPP/EPPO Bulletin.** 2015. *Spodoptera littoralis*, *Spodoptera litura*, *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera eridania*. Diagnostic, 45, 410–444.
27. **Ortiz-Urquiza, A. and N.O. Keyhani.** 2013. Action on the surface: Entomopathogenic fungi versus the insect cuticle. Insects, 4, 357-374.
28. **Pendland, J. C., S.Y. Hung and D.C. Boucias.** 1993. Evasion of host defense by in vivo-produced
1. **العبيدي، شيماء حميد وصالح حسن سمير.** 2011. كفاءة الفطر *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. في مكافحة الإحباتية لدودة ورق القطن (*Spodoptera littoralis* (Boisd.)) مجلة وقاية النبات العربية، 29: 77-82.
2. **Aboud, R., A.M. Mouhanna, E. Choueiri and B. El Rahbana.** 2012. Assessment of the effectiveness of *Beauveria bassiana* fungus in controlling insects under greenhouse, field and laboratory conditions. Persian Gulf Crop Protection, 1: 36-44.
3. **Abou-Bakr, H.** 1997. *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin, a potential entomogenous fungus for controlling cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (Boisd.) in clover fields. Egyptian Journal Biological Pest Control, 7: 111-114.
4. **Ahmed, A.M. and M.H. El-Katatny.** 2007. Entomopathogenic fungi as biopesticides against the Egyptian cotton leaf worm, *Spodoptera littoralis*: between biocontrol promise and immune-limitation. Journal of the Egyptian Society of Toxicology, 37: 39-51.
5. **Al-Kherb, W.A.** 2014. Virulence bio-assay efficiency of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* for the biological control of *Spodoptera exigua* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae) eggs and the 1st instar larvae. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 8: 313-323.
6. **Amer, M.M., T.I. El-Sayed, H.K. Bakheit, S.A. Moustafa and Y.A. El-Sayed.** 2008. Pathogenicity and genetic variability of five entomopathogenic fungi against *Spodoptera littoralis*. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 4: 354-367.
7. **Anand, R., B. Prasad and B.N. Tiwary.** 2009. Relative susceptibility of *Spodoptera litura* pupae to selected entomopathogenic fungi. BioControl, 54: 85-92.
8. **Asi, M.R.** 2012. Bioefficacy of entomopathogenic fungi and their combinations with selective insecticides against *Spodoptera litura* F. (Lepidoptera: Noctuidae) on cotton. Ph.D. thesis, University of Agriculture Faisalabad Pakistan. 130 pp.
9. **Augustyniuk-Kram, A.** 2011. The parasite-host system as exemplified by the interactions between entomopathogenic fungi and insects. Studia Ecologiae et Bioethicae UKSM, 9: 51-68.
10. **Barron, G.L.** 1972. The Genera of Hyphomycetes from Soil. Robert E. Krieger Publishing Company, USA, 364.
11. **Butt, T.M., C. Jackson and N. Magan.** 2001. Fungi as biocontrol agents progress, problems and potential. Biddles Ltd, UK, 390 pp.
12. **CABI (CAB International).** 2014. Datasheet on *Spodoptera littoralis*. Crop protection compendium. 230 pp.
13. **EFSA Panel on Plant Health.** 2015. Scientific Opinion on the pest categorisation of *Spodoptera littoralis*. EFSA Journal, 13: 3987, 26 pp.

Science & Therapy, July 15-17, 2013 Courtyard by Marriott Philadelphia Downtown, USA. Journal of Nutrition & Food Sciences 3: 211

31. **Vijayavani, S., K.R.K. Reddy and G.B.V.N. Murthy.** 2009. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Euteromycotina: Hyphomycetes) strains on *Spodoptera litura* (Fab.). Journal of Biopesticides, 2: 205-207.
32. **Zimmermann, G.** 1986. The 'Galleria bait method' for detection of entomopathogenic fungi in soil. Journal of Applied Entomology, 102: 213-215.
29. **Rehner, S.A., A.M. Minnis, G.H. Sung, J.J. Luangsa-ard, L. Devotto and R.A. Humber.** 2011. Phylogeny and systematics of the anamorphic, entomopathogenic genus *Beauveria*. Mycologia, 103: 1055-1073.
30. **Salama, Z.A. and M.A. Shoukamy.** 2013. Use of entomopathogenic fungi for control of the Egyptian cotton leaf worm, *Spodoptera littoralis*. 2<sup>nd</sup> International Conference and Exhibition on Nutritional

Received: July 25, 2017; Accepted: October 4, 2017

تاريخ الاستلام: 2017/7/25؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2017/10/4