

تقييم كفاءة الـنيماتودا الممرضة للحشرات (EPNs) في مكافحة ذبابة فاكهة البحر المتوسط (*Ceratitis capitata* Wiedemann)

نبيل أبو كف¹، مازن البودي²، ماجدة مفلح² وغادة زيني^{1*}

(1) قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية؛ (2) قسم وقاية النبات، مركز بحوث اللاذقية، الهيئة العامة للبحوث

العلمية الزراعية، اللاذقية، سورية. * البريد الإلكتروني للباحث المراسل: ghadahasanzeini@tishreen.edu.sy

الملخص

أبو كف، نبيل، مازن البودي، ماجدة مفلح وغادة زيني. 2022. تقييم كفاءة الـنيماتودا الممرضة للحشرات (EPNs) في مكافحة ذبابة فاكهة البحر المتوسط (*Ceratitis capitata* Wiedemann). مجلة وقاية النبات العربية، 40(1): 48-56. <https://doi.org/10.22268/AJPP-40.1.048056>.
تعدّ ذبابة فاكهة البحر المتوسط *Ceratitis capitata* Wiedemann 1824 (Medfly) إحدى أهم الآفات الاقتصادية على ثمار الفاكهة في جميع أنحاء العالم. استُخدمت استراتيجيات بديلة لمكافحتها ومنها الـنيماتودا الممرضة للحشرات (EPNs) التي يظهر تأثيرها كمرضات إجبارية وقاتلة عند مغادرة يرقات العمر الثالث للثمار باتجاه التربة للتغذّر. أُجري اختبار شراسة لعدة عزلات محلية من الـنيماتودا الممرضة للحشرات على العمر اليرقي الثالث لـ *C. capitata*، فأظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية بين العزلة *Heterorhabditis bacteriophora* MG2 MK474643.1 والعزلة *H. bacteriophora* SR1 MK474617.1، وتوقفت العزلة *H. bacteriophora* GA1 MK474645.1 على جميع العزلات المحلية المختبرة الأخرى بمعدل موت 69.19%. كما نُفذت تجربة نصف حقلية لتقييم كفاءتها على العمر اليرقي الثالث لذبابة الفاكهة *C. capitata* باستخدام تراكيز مختلفة من أفراد الطور المعدي (600، 300، 150 فرد معدي/سم²)، فحققت هذه العزلة المعدل الأعلى للموت (66.89%) عند التركيز 600 فرد معدي/سم²، وبلغت قيمة LC₅₀ في التربة 88 فرد معدي/سم². أظهر التحليل الإحصائي لبيانات تأثير هذه العزلة على يرقات ذبابة الفاكهة وجود فروق معنوية عند مستوى احتمال 5% بين معاملات التراكيز 600 و150 فرد معدي/سم² وبين معاملات التراكيز 300 و150 فرد معدي/سم². تؤكد هذه المعطيات إمكانية إدراج العزلات المحلية من EPNs والمتكيفة مع الظروف البيئية في برامج الإدارة المتكاملة لذبابة فاكهة البحر المتوسط كإجراء فعال لتقليص أعداد مجتمعاتها.

كلمات مفتاحية: مكافحة حيوية، *Ceratitis capitata*، *Heterorhabditis bacteriophora*، حمضيات، اللاذقية، سورية.

المقدمة

المنطقة الساحلية من سورية، حيث يتوفر 17 نوعاً نباتياً كعوائل طبيعية لها كالزفير (*Citrus aurantium*)، الكريفون (*C. paradisi*)، الكاكي (*Diospyros kaki*)، التفاح (*Malus domestica*) والكمثرى (*Pyrus communis*)، وتسبب هذه الحشرة أضراراً فادحة للعديد من أنواع الفاكهة في سورية (Ali et al., 2015). أكدّ Dias et al. (2018) أنّ مكافحة ذباب الفاكهة عادةً ما تتطلب أكثر من طريقة، ويمكن إنجازها من خلال طرائق زراعية، سلوكية، تشريعية، حيوية، ميكانيكية، تحكّم وراثي وكيميائي، وما تزال الاستراتيجية الأخيرة أكثر استعمالاً في إدارة ذباب الفاكهة (Dolinski & Lacey, 2007) لأنها تعطي نتائج فعالة وسريعة، لكنها ضارة للبيئة، مؤذية لأنواع غير المستهدفة، وتؤدي لنشوء صفة المقاومة، كما يمكن أن تفقد استمراريته في حال عدم تكرار تطبيقها (Wong et al., 1992؛ Ekesi et al., 2002). وتحدّ تشريعات معينة للتصدير أيضاً من استخدام المبيدات الحشرية على ثمار محدّدة

يعدّ ذباب الفاكهة (Diptera: Tephritidae) من الآفات الأكثر ضرراً على أشجار الفاكهة في جميع أنحاء العالم، لأنها تضع بيضها تحت قشرة الثمار مسببةً تشوهاتٍ تقلص جودة الثمار المصابة (Weems et al., 2014). تتبوأ ذبابة فاكهة البحر المتوسط *Ceratitis capitata* Wiedemann 1824 المرتبة الأولى بين الأنواع المهمة اقتصادياً من ذباب الفاكهة نظراً لتعدّد عوائلها وقدرتها العالية على التكيف مع مدى واسع من الظروف المناخية على نحوٍ أفضل مما هو عليه لدى معظم أنواع ذباب الفاكهة المدارية الأخرى (Liquido et al., 1990)، فمداها العوائل هو الأوسع لأنها تصيب أكثر من 300 نوع من أشجار الفاكهة البرية والمزروعة، الخضار واللوزيات (Leftwich et al., 2014). وقد أشار أحمد وآخرون (2001) إلى انتشارها على مدار العام في

تم رفع البيض يومياً ونقل إلى أطباق التربية التي تحتوي على بيئة النيباجين الصناعية (Ali, 2010).

مصدر النيوماتودا الممرضة للحشرات وإكثارها

استُخدمت ثلاث عزلات محلية وهي *H. bacteriophora* MG2 (MK474643.1)، GA1 (MK474645.1) و *H. bacteriophora* SR1 (MK474617.1) من النيوماتودا الممرضة للحشرات (Rhabditida: Heterorhabditidae)، وهي موصفة سابقاً مورفولوجياً (أبو كف وآخرون، 2018) وجزيئياً (Zeini et al., 2019)، ومحفوفة في مخبر النيوماتودا، مركز البحوث العلمية الزراعية باللاذقية. تم إكثار عزلات EPNs بالتربية ضمن عائل حي (in-vivo) باستخدام يرقات العمر الأخير لدودة الشمع الكبرى (*Galleria mellonella*) (Lepidoptera: Pyralidae)، واستخدمت مصائد مائية للحصول على الطور المعدي الثالث. حُفظت EPNs في معلق مائي ضمن عبوات زراعة الأنسجة (Tissue culture flasks) سعة 25 مل عند حرارة 10°س لمدة لا تتجاوز الأسبوعين قبل استخدامها في التجارب، وقبل استخدامها المباشر وُضعت المعلقات لمدة ساعة واحدة بدرجة حرارة المخبر. أُحصي عدد الأفراد الحية والميتة بأخذ ثلاث عينات بحجم 50 ميكروليتر، وحُسبت النسبة المئوية للبقاء، وتم تحديد الحيوية بمراقبة حركتها النشطة.

اختبار شراسة عذّة عزلات من EPNs على العمر اليرقي الثالث لذبابة الفاكهة مخبرياً

أُجريت تجربة مخبرية باستخدام الأعمدة الرملية لتقييم قدرة الأفراد المعدية بعزلات مختلفة من النيوماتودا على إيجاد وقتل يرقات *C. capitata* في العام 2019، فتم ملء أنابيب اختبار زجاجية 15×3 سم بـ 32 غ من الرمل المعقم والمربط بـ 10% (w/v). وُضع في أسفل كل عمود 10 يرقات من *C. capitata* على عمق 8 سم. طُبقت العزلات *H. bacteriophora* GA1 MK474645.1، *H. bacteriophora* SR1 MK474617.1، *H. bacteriophora* MG2 MK474643.1 بمعدل 100 فرد معدي/0.5 مل ماء مقطر بإضافته إلى قمة كل عمود. كُزرت المعاملة 10 مرات لكل عزلة نيوماتودية. استُخدم العدد نفسه من اليرقات في معاملة الشاهد ودون إضافة النيوماتودا. أُغلفت الأنابيب بغشاء بلاستيكي (Parafilm)، ثم نُقبت باستخدام إبرة للسماح بتهوية جيدة. وُضعت الأنابيب بشكل مقلوب ضمن حوامل مناسبة ضمن حاضنة عند حرارة 28±2°س ورطوبة نسبية 80±2%، وفترة إضاءة 16:8 ساعة (ظلام: ضوء) لمدة 14 يوماً، أو حتى خروج الحشرات الكاملة لذبابة الفاكهة في معاملة الشاهد. تم إحصاء عدد الحشرات المنبثقة،

ومستخدمة تجارياً كالحمضيات، مما يخلق الحاجة لإيجاد البدائل (Barnes et al., 2015)، كما تشكل إدارة ذباب الفاكهة تحدياً لأن يرقات العمر الثالث تترك الثمار الفاسدة وتسقط إلى الأرض لتعذر في التربة، وبالتالي فإن كلاً من اليرقات والعذارى في الثمار والتربة ستكون محمية من المبيدات الحشرية المطبقة سطحياً (Heve et al., 2017)، وبذلك يمكن أن تكون النيوماتودا الممرضة للحشرات Entomopathogenic nematodes (EPNs) فعالة ضد الأطوار القاطنة في التربة لآفات حشرية متنوعة تصيب البساتين (Koppenhöfer et al., 2020) ومنها ذباب الفاكهة.

أُجري الكثير من الأبحاث والدراسات المخبرية والحقلية لتحديد تأثير أنواع وسلالات من النيوماتودا الممرضة للحشرات على أطوار نمو مختلفة من *C. capitata*، فأظهرت حساسية عالية في المغرب (Mokrini et al., 2020)، مصر (Hammad, 2014)، تركيا (Karagoz et al., 2009)، البرازيل (Rohde et al., 2012) وجنوب إفريقيا (James et al., 2018) بالإضافة إلى بلدان أخرى. وقد أثبتت النتائج أن EPNs أداة واعدة لتخفيض الطور اليرقي لمجموعات *C. capitata* بشكل فعال، ويمكن استخدامها بشكل منتظم ضمن برامج متكاملة لمكافحة ذباب الفاكهة تحت الظروف شبه الحقلية والحقلية، لكن لم يُحدد الطور الأكثر حساسية بعد، وماتزال الاختبارات مطبقة على العذارى واليرقات، إضافة لغياب التجارب المنجزة حقلياً (Minas et al., 2016). وبناءً على ذلك هدفت هذه الدراسة إلى تقييم شراسة بعض العزلات المحلية من EPNs على يرقات العمر الثالث لذبابة الفاكهة لاختيار العزلة الأكثر شراسة واستخدامها في التجربة الحقلية لتطوير استراتيجيات إدارة *C. capitata* في بساتين الحمضيات المصابة.

مواد البحث وطرائقه

مكان إجراء البحث

مخبر النيوماتودا، مركز بحوث اللاذقية، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، خلال الفترة 2019–2020، وبستان حمضيات شمال محافظة اللاذقية، سورية (35°48.962'E, 36°36.272'N).

مصدر الحشرات وتربيتها

جُمعت الثمار المصابة بذبابة الفاكهة، ووضعت على رمل ناعم معقم، ثم عُرلت العذارى بعد عدة أيام دورياً، ونقلت إلى مرطبان بلاستيكي مزود بنوافذ من الشاش. زُود المرطبان بمصدر غذائي عسل: خميرة (1:3) مع ضرورة تبديل مصادر المياه والغذاء أسبوعياً. تم الحصول على البيض في أطباق بترتي تحوي حمض كلور الماء 1% للتعقيم ضمن حاضنة عند حرارة 26°س ورطوبة 60% وفترة إضاءة 16:8 ساعة (ظلام: ضوء).

وقُدرت نسبة الموت في معاملة النيماتودا حسب ما نشر سابقاً (Minas et al., 2016).

مستوى احتمال 5% بين المعاملات باستخدام برنامج IBM-SPSS Stat. V.21

التجربة شبه الحقلية

فُقدت التجربة خلال الفترة 2020/10/20 و2020/11/8 في بستان حمضيات يبعد 13 كم عن مدينة اللاذقية، ويُنْبَع فيه الري بنظام الأحواض الدائرية، وباستخدام تصميم القطاعات العشوائية الكاملة (Randomized complete block design (RCBD) وفق أربع معاملات (معاملة التركيز المرتفع لعوامل مكافحة الحيوية 600 فرد/سم²، التركيز المتوسط بمعدل 300 فرد/سم²، التركيز المنخفض بمعدل 150 فرد/سم²، معاملة الشاهد بإضافة الماء المقطر فقط)، واستُخدمت العزلة *H. bacteriophora* GA1 (MK474645.1) لأنها كانت الأشرس في الاختبارات المخبرية.

تكونت الوحدات التجريبية من عبوات بلاستيكية سعة لتر ونصف، تمّت تعبئتها بـ 1 كغ من تربة البستان بعد تقبها من الأسفل لتصبح على تماس مباشر مع رطوبة التربة، مع ترك حيز فراغي بارتفاع 10 سم في قمتها حيث عُلقَت شرائح من مصيدة لونية لاصقة لشركة Russell IPM بهدف مراقبة وإحصاء البالغات المنبثقة من ذبابة الفاكهة. طمرت هذه العبوات تحت أشجار الحمضيات على عمق 12-14 سم، ثم أُضيفت 10 يرقات من العمر الثالث لذبابة الفاكهة *C. ceratitidis* لكل عبوة منها. أُغلقت العبوات بظن معقم، وسجلت عليها البيانات (التاريخ، المعاملة، المكرر). كان عدد القطاعات = عدد المكررات = 10، بحيث كانت كل شجرة هي قطاع يضم كامل المعاملات. أُخذت عينات تربية من كل قطاع، ثم خلطت لتشكيل عينة مركبة لتقدير محتوى التربة من الرطوبة، وللتحليل الميكانيكي والكيميائي، وسُجلت درجات الحرارة اليومية العظمى والصغرى، كما تمّ أخذ قراءات المصائد بدءاً من اليوم السابع من تنفيذ التجربة. بعد ثبات هذه القراءات رُفعت العبوات البلاستيكية من التربة وأُحصي عدد اليرقات الحية والميتة ضمن كل عبوة.

التحليل الإحصائي

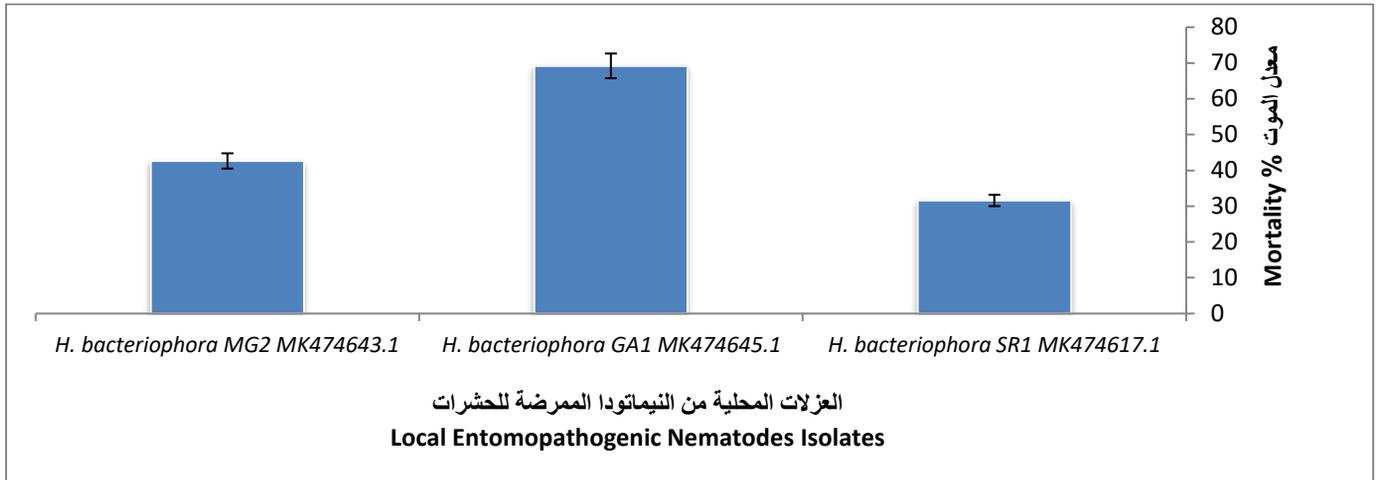
حُسبت معدلات الموت في كل معاملة وصُحّحت باستخدام معادلة Abbott (1925). استخدم تحليل البروبيت Probit analysis لتحويل النسب المئوية المصححة للموت إلى قيم احتمالية (وحدات بروبيت) وتحليل ارتباط هذه القيم مع لوغاريتم تراكيز النيماتودا والحصول على معادلة الانحدار، وحساب التركيز القاتل النصفى LC₅₀ (Finney 1952). حُلّت بيانات معدل الموت وانبثاق البالغات بتحليل التباين (ANOVA)، وحسبت المتوسطات وقيمة أقل فرق معنوي عند

النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج الاختبارات المخبرية والحقلية أن السلالات المحلية من *H. bacteriophora* لها القدرة على إصابة يرقات *C. ceratitidis*، كما بيّن الاصطفاء المخبري لسلالات الـ EPN في الأعمدة الرملية وجود اختلاف معنوي في النسب المئوية للموت البرقي، مع قيمة عليا للسلالة *H. bacteriophora* GA1 (MK474645.1).

اختبار شراسة سلالات محلية مختلفة من EPNs على يرقات *C. capitata* مخبرياً

حققت السلالات المختبرة معدلات موت مختلفة مقارنة مع الشاهد، وتراوحت بين 31.58 و69.19% (شكل 1)، وكانت القيمة الأعلى لنسبة الموت 69.19% للعزلة *H. bacteriophora* GA1 (MK474645.1)، تلتها العزلة *H. bacteriophora* MG2 (MK474643.1) وبمعدل (42.63%)، ثم للعزلة *H. bacteriophora* SR1 (MK474617.1) بمعدل (31.58%)، حيث بات من المعروف جيداً أنه يمكن للنيماتودا أن تحقق الإصابة والنمو بنجاح ضمن كثير من العوائل بأنواعها المختلفة، إلا أن سلالة و/أو نوع النيماتودا دور مهم في حدوث الإصابة والنمو المثاليين (Georgis et al., 2006). ولهذا السبب تشكل غزلة العديد من الأنواع أو السلالات المختلفة للنيماتودا ضد آفة مستهدفة محدّدة ضرورةً في تطوير أي برنامج مكافحة، إذ أن تخصص أي نوع أو سلالة على عائل محدّد يرتبط بشكل مباشر مع قدرته على الوصول إليه واختراقه، كما أنه مبني أيضاً على إمكانية النيماتودا على تجنب المنظومة المناعية للعائل باستخدام البكتريا المرافقة المتخصصة والتي تتباين في شرستها (Minas et al., 2016)، وقد أشار Lewis et al. (2006) إلى هذا التخصص كعملية معقّدة جداً تعتمد على العائل، النيماتودا والبكتريا، وتعطي توضيحاً لوجود هذا التباين في الإصابة ما بين السلالات ضمن النوع نفسه و ضد العائل نفسه. كما بيّن Rohde et al. (2012) عدم إمكانية تفسير تخصص نوع نيماتودي على عائل بناءً على تجربة واحدة، لأنّ ثمة كثير من العوامل التي تحكم العلاقة (نيماتودا-عائل)، وبالتالي فإنّ التخصص مرتبط بشكل مباشر مع فعالية النيماتودا في التموضع، إحداث الإصابة، النمو والتكاثر قبل أن يتم تحديدها بواسطة الجهاز المناعي للعائل.



شكل 1. معدل موت يرقات العمر الثالث لـ *C. capitata* بعد تعرضها لـ 10 أفراد من الطور المعدي/يرقة من العزلات من *H. bacteriophora* SR1 MK474617.1، *H. bacteriophora* GA1 MK474645.1 و *H. bacteriophora* MG2 MK474643.1

Figure 1. Mortality rates of third stage larvae of *Ceratitis capitata* following exposure to 10 infective juveniles/larva of *H. bacteriophora* SR1 MK474617.1, *H. bacteriophora* GA1 MK474645.1 and *H. bacteriophora* MG2 MK474643.1

لدراسات سابقة عديدة سلطت الضوء على فعالية EPN كأعداء طبيعية لـ *C. capitata*، وقد ازدادت نسبة الموت مع زيادة تراكيز معلقات الـ *H. bacteriophora*، فتحققت نسبة الموت الأعلى 66.89% عند التركيز الأعلى (600 فرد/سم²)، تليها نسب موت 65.87% و 53.56% عند التركيزين 300 و 150 فرد/سم² على التوالي. والجدير بالذكر أن الحساسية العالية لليرقات تجاه الـ *H. bacteriophora* الممرضة للحشرات قد ترتبط بالحركة النشطة لهذا الطور، مع زيادة انطلاق غاز ثاني أكسيد الكربون مما يسهم في جذب الـ *H. bacteriophora*، كما أن كبر حجم الفتحات الطبيعية لجسم اليرقة، إضافة لانخفاض مستوى تصلب أنسجة الجسم تعدّ عوامل إضافية تسهل إصابة الـ *Heterorhabditis* من الجنس الممرضة للحشرات من الجنس *Heterorhabditis* لعوائلها (Rohde et al., 2012).

أجريت العديد من الدراسات حول تركيز أفراد الطور المعدي من EPN لمكافحة أنواع عديدة من ذباب الفاكهة Tephritid (Langford et al., 2014)، فقد يتباين تأثير تركيز المعلق المائي تبعاً لنوع أو سلالة الـ *H. bacteriophora*، الآفة الحشرية المستهدفة، والعوامل البيئية الأخرى كتركيب التربة أو مستويات الرطوبة (Lankin et al., 2020). وفي دراسة أجراها Lindegren et al. (1990) تبين أن فعالية النوع *S. carpocapsae* عند التركيز 5000 IJs/سم² كانت أعلى مقارنة مع 150-500 IJs/سم² ضد يرقات العمر الأخير من *C. capitata* في الحقل، بينما حققت *S. carpocapsae* و *S. feltiae* فعالية أكبر من *S. intermedium* عند تطبيق التركيزات 100-50 IJs/سم² على يرقات العمر الثالث لذبابة الكرز *R. indifferens* تحت الظروف الحقلية، لكن فعاليتها جميعاً كانت أخفض مما هي عليه في التجارب المخبرية (Yee & Lacey, 2003).

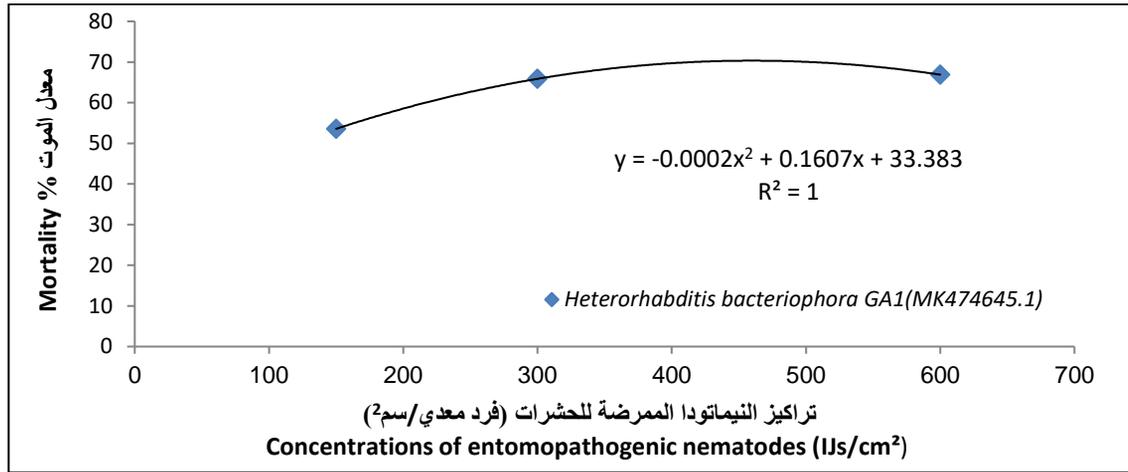
يمكن أن تتباين معدلات الموت في اختبارات الشراسة حسب الوسط الذي طُبّق فيه الاختبار، ففي مصر حدّد Hammad (2014) شراسة نوعين من الـ *H. bacteriophora* (*Steinernema carpocapsae* (All) و *H. bacteriophora* (HP88) على العمر اليرقي الثالث لـ *C. capitata* خلال ثلاثة أوساط (ورق الترشيح، تربة، تربة مضاف لها سماد) مخبرياً، فحقق النوع *H. bacteriophora* (HP88) معدلات متباينة من الموت اليرقي 40.74، 25.37 و 29.63% في الأوساط السابقة على التوالي، بينما كان النوع *S. carpocapsae* أكثر شراسة في جميع الأوساط، فحقق معدلات موت 46.30، 48.33 و 34.63%، على التوالي، إضافة إلى أنه أعطى معدل موت 78.15% عند استخدام التركيز 7000 فرد معدي/مل من المعلق الـ *H. bacteriophora*.

ورغم وجود عوامل شراسة أخرى مساهمة في قتل العائل الحشري بواسطة الـ *H. bacteriophora*، إلا أن سمية البكتريا المتعايشة مع هذه الـ *H. bacteriophora* قد تكون عاملاً حاسماً أيضاً في موت العائل (Zadji et al., 2014).

التجربة شبه الحقلية

تباينت فعالية الـ *H. bacteriophora* الممرضة للحشرات في مكافحة يرقات العمر الثالث لـ *C. capitata* باختلاف التراكيز المطبقة في المعاملات (شكل 2)، وأظهرت نتائج التحليل الإحصائي تفوق معاملة التركيز الأعلى (600 IJs/سم²) معنوياً على معاملات التركيزين (300 و 150 IJs/سم²).

أظهرت النتائج أن يرقات العمر الثالث لذبابة الفاكهة *C. capitata* كانت حساسة بشكل كبير للعزلة المحلية *H. bacteriophora* GA1 (MK474645.1)، وهذا يؤكد تقارير



شكل 2. معدل موت يرقات العمر الثالث لـ *C. capitata* عند معاملتها بتركيزات مختلفة من IJs لـ *H. bacteriophora* GA1 MK474645.1 في الحقل. **Figure 2.** Mortality rates of *C. capitata* (3rd instar) following exposure to *H. bacteriophora* GA1 MK474645.1 at different concentrations (600, 300 and 150 IJs/cm²).

أو غير قادرة على الحركة بحرية عند مستويات الرطوبة العالية (Grant & Villani 2003).

سُجلت درجات الحرارة اليومية العظمى ضمن المدى 21-35°س ودرجات الحرارة الصغرى ضمن المدى 12-20°س (جدول 1)، حيث تشكل درجة الحرارة عاملاً مهماً من بين العوامل غير الحيوية في تحديد ملائمة EPNs كعوامل مكافحة حيوية، فتؤثر على حركة الـنيماتودا، تنظيم نموها، استمراريتها، بقائها وتكاثرها بطرائق متعددة (Griffin 1993؛ Grewal et al. 1994؛ Aatif et al., 2020)؛ (Koppenhöfer & Kaya, 1999)، ويتفاوت تأثيرها أيضاً حسب نوع وعزلة الـنيماتودا لقدرتها على التأقلم مع الظروف البيئية السائدة (Pervez et al., 2008)، فمن المعروف أن أنواع الجنس *Heterorhabditis* متكيفة مع مستويات درجات الحرارة الدافئة (Grewal et al., 1994)، وتعطي معدلات إصابة عالية عند حرارة تفوق 30°س (El-Khoury et al., 2018). بشكل عام، إن الحرارة المثلى لـ EPNs هي 25°س كتقدير نسبي، إلا أن بعض السلالات قد تواجه درجات أعلى من 40°س دون أيّ تكيف أو انتخاب وراثي (Koppenhöfer, 2000؛ Ulu & Susurluk, 2014). وقد أشارت جاويش وآخرون (2010) في دراسة مخبرية لتأثير درجات الحرارة في فاعلية بعض العزلات المحلية من الـنيماتودا الممرضة للحشرات المستخلصة من ترب بعض بساتين الفاكهة في ريف دمشق أن درجة الحرارة 25°س هي الدرجة المثلى لجميع العزلات المستخدمة من حيث معدل الموت، وحققت العزلات التابعة للجنس *Heterorhabditis* عند الدرجة 30°س المعدل الأعلى للموت، وكانت الأسرع في دورة حياتها، وأعطت أعلى كثافة لأفراد الطور المعدي عند تطبيقها على يرقات العمر الأخير لدودة الشمع *G. mellonella*.

بلغت قيمة التركيز القاتل النصفى LC₅₀ في التربة 88 IJs/سم² وفق هذه الدراسة، بينما سجل Toledo وآخرون (2005) القيمة LC₅₀=49 IJs/سم² للنوع *H. bacteriophora* على يرقات العمر الثالث لذبابة فاكهة غرب الهند *Anastrepha obliqua*، ووُجد في دراسة أخرى أن LC₅₀ لـ *H. bacteriophora* على *A. serpentina* تعادل 36 IJs/سم² (Toledo et al., 2006)، وقد عزي Barbosa-Negrison وآخرون (2009) هذه النتائج إلى اختلاف طرائق العمل، وأشاروا إلى أن *H. bacteriophora* كانت غير فعالة على ذباب الفاكهة *A. fraterculus* حيث LC₅₀=229 IJs/سم²، ولكن أدائها كان أفضل من النوع *S. riobrave* حيث LC₅₀=347 IJs/سم²، وفي دراسة قام بها Minas وآخرون (2016) بلغ معدل الموت ليرقات *C. capitata* ما يعادل 81.5% و100% عند تطبيق السلالة *H. baujardi* LPP7 بتركيزات 273.0 و552.6 IJs/سم²، على التوالي.

أظهرت معطيات تحليل تربة بستان الحمضيات الذي نفذت فيه التجربة أن درجة الحموضة كانت 8.1، المادة العضوية 6.12 غ/100 غ، ودرجة الملوحة 0.38 ds/m، وبنيتها 29% رمل، 30% سلت و41% طين. وقد أشار Kapranas et al. (2017) إلى تأثير خصائص التربة (تركيبها واندماج جزيئاتها) على انتشار أفراد الطور المعدي للـنيماتودا، كما أنها ستؤثر على بقاء وشراسة الـنيماتودا، إلى جانب المقاييس البيئية الأخرى كدرجة الحرارة، نوع الغطاء النباتي والرطوبة (Labaude & Griffin, 2018).

قُدِّرَت رطوبة التربة في بستان التجربة بـ25%، وقد طبقت رية سطحية بالأحواض الدائرية في اليوم العاشر من بدء التجربة كعمليات خدمة للبستان، وتعدّ الرطوبة المتغير الأكثر تأثيراً في أداء وبقاء الـنيماتودا، فقد تصبح ساكنة عند مستوى منخفض جداً من رطوبة التربة،

Table 1. Daily maximum and minimum temperatures recorded at the study site during the time of the experiment.

Date التاريخ																		درجات الحرارة Temperatures					
November 2020						تشرين الثاني/نوفمبر 2020						October 2020							تشرين الأول/أكتوبر 2020				
8	7	6	5	4	3	2	1	31	30	29	28	27	26	25	24	23	22	21	20	العظمى			
27	30	22	21	18	24	26	25	25	27	25	27	28	33	32	35	30	26	29	28	Maximum			
12	19	14	13	15	15	18	15	15	17	17	18	20	17	18	18	15	18	17	17	الصغرى			
																		Minimum					

بناءً لما تقدم، يمكننا القول بأنه نتج عن تطبيق النيماتودا *H. bacteriophora* انبثاق منخفض لذبابه الفاكهة، وبذلك فإن تطبيق EPNs قد يكون إجراءً فعالاً لكبح مجتمعات ذبابه الفاكهة. تؤكد هذه الدراسة على إمكانية إدراج العزلات المحلية من النيماتودا الممرضة للحشرات والمتكيفة مع الظروف البيئية في برامج الإدارة المتكاملة لذبابه الفاكهة البحر المتوسط. كما بينت هذه الدراسة سهولة استخدام EPNs في برامج الإدارة المتكاملة لذبابه الفاكهة، والعمل على تعزيز جمع وغربلة المزيد من سلالات وأنواع EPNs لاختيار السلالات الأكثر شراسة للتجارب الحقلية، إضافة إلى ضرورة توصيف بيولوجيا النيماتودا الشرسة بعد التطبيق، وكذلك أدائها عند الدمج مع مواد كيميائية زراعية وعوامل مكافحة حيوية أخرى.

ويمكن أن تتعلّق الاختلافات في نسب الموت بين أنواع أو سلالات النيماتودا باستراتيجية البحث عن العائل، إضافة إلى سلوك يرقات العمر الثالث لـ *C. capitata*؛ فيتبع النوع *H. bacteriophora* سلوك البحث والتجول، وكان أكثر فعالية في إصابة العوائل غير المتحركة (يرقات دودة الشمع الكبرى *G. mellonella* المحفوظة في أقفاص) مقارنة مع العوائل المتحركة، بينما لوحظ خلاف ذلك لدى النوع *S. carpocapsae* (Bal & Grewal, 2015). إن الأنواع المحلية من النيماتودا جديرة بالاهتمام، فهي متكيفة مع الظروف المحلية بما فيها الآفة نفسها، كما يفضل استخدام هذه الأنواع المحلية بغرض تقليص المخاطر البيئية.

Abstract

Abo Kaf, N., M. Al-Body, M. Mofleh and Gh. Zeini. 2022. Assessment of *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) Against *Ceratitis capitata* Wiedemann. Arab Journal of Plant Protection, 40(1): 48-56. <https://doi.org/10.22268/AJPP-40.1.048056>

The Mediterranean fruit fly (Medfly), *Ceratitis capitata* Wiedemann is the most cosmopolitan and invasive among all species in the family Tephritidae. Concerns related to insecticides misuse create an opportunity for the development and use of biocontrol agents such as the entomopathogenic nematodes (EPNs). Virulence assays performed using several native isolates of EPNs against 3rd instar larvae (L3) of *C. capitata* showed no significant differences between *H. bacteriophora* SR1 MK474617.1 and *H. bacteriophora* MG2 MK474643.1. The highest mean mortality value reached by *H. bacteriophora* GA1 MK474645.1 was 69.19%. An experiment carried out under semi-field conditions to evaluate the effect of *H. bacteriophora* GA1(MK474645.1) isolate on the 3rd instar larvae of medfly showed that inoculation with different concentrations of infective juvenile (IJ) (600, 300, 150 IJ/cm²) caused the highest larval mortality rate (66.89%) at 600 IJ/cm², with a LC₅₀ value of 88 IJ/cm² in soil. Statistical analysis of the effect of *H. bacteriophora* on mortality exhibited significant differences ($p \leq 0.05$) when applied at concentrations of 600 IJs and 150 IJs. These findings suggest that application of EPNs could be an effective option to suppress *C. capitata* populations and it can be included as an effective component in integrated pest management (IPM) programmes against Medfly.

Keywords: Biological control, *Ceratitis capitata*, *Heterorhabditis bacteriophora*, Citrus Lattakia, Syria.

Affiliation of authors: N. Abo Kaf¹, M. Body², M. Mofleh² and Gh. Zeini^{1*}. (1) Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Lattakia, Syria; (2) Plant Protection Department, Lattakia Research Center, General Authority for Agricultural Scientific Research, Lattakia, Syria. *Email of corresponding author: ghadahasanzeini@tishreen.edu.sy

References

أحمد، أحمد، ماجدة مفلح واسكندر عجان. 2001. علاقة ذبابه الفاكهة (Diptera: Tephritidae) *Ceratitis capitata* (Wiedman) مع عوائلها النباتية في الساحل السوري. مجلة وقاية النبات العربية، 19(1): 27-34.

[Ahmad, M., M. Mofleh and I. Ajjan. 2001. The relationships between Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* Wiedmann (Diptera: Tephritidae) and its host plants in the coastal region of Syria. Arab Journal of Plant Protection, 19(1): 27-34. (In Arabic)]

أبو كف، نبيل، غادة زيني، مازن البودي وماجدة مفلح. 2018. الوجود الطبيعي للنيماتودا الممرضة للحشرات في بساتين الحمضيات في محافظة اللاذقية، سورية. مجلة جامعة تشرين. سلسلة العلوم البيولوجية، 40(5): 31-47.

[Abo Kaf, N., M. Al-Body, M. Mofleh and Gh. Zeini. 2018. Natural Occurrence of Entomopathogenic Nematodes (EPNs) in Citrus Orchards in Lattakia Governorate, Syria. Tishreen University Journal for Research and Scientific Studies - Biological Sciences Series, 40(5): 31-47. (In Arabic).]

- Dolinski, C. and L.A. Lacey.** 2007. Microbial control of Arthropod pests of tropical tree fruits. *Neotropical Entomology*, 36(2): 161-179.
<https://doi.org/10.1590/s1519-566x2007000200001>
- Ekesi, S., N. K. Maniania, and S. A. Lux.** 2002. Mortality in three African tephritid fruit fly puparia and adults caused by the entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. *Biocontrol Science and Technology*, 12(1): 7-17.
<https://doi.org/10.1080/09583150120093077>
- El-Khoury, Y., M. Oreste, E. Noujeim, N. Nemer and E. Tarasco.** 2018. Effect of temperature on the pathogenicity of Mediterranean native entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae) from natural ecosystems. *Redia*, 101: 123-127.
<https://doi.org/10.19263/REDIA-101.18.16>
- Finney, D.J. (ed).** 1952. Probit Analysis. 2nd edition. Cambridge, England. Cambridge University Press. New York, USA, 318 pp.
<https://doi.org/10.1002/jps.3030411125>
- Georgis, R., A.M. Koppenhöfer, L.A. Lacey, G. Bélair, L.W. Duncan, P.S. Grewal, M. Samish, L. Tan, P. Torr and R.W.H.M. van Tol.** 2006. Successes and failures in the use of parasitic nematodes for pest control. *Biological Control*, 38(1): 103-123.
<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2005.11.005>
- Grant, J.A. and M.G. Villani.** 2003. Effects of soil rehydration on the virulence of entomopathogenic nematodes. *Environmental Entomology*, 32(5): 983-991. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-32.5.983>
- Grewal, P.S., S. Selvan and R. Gaugler.** 1994. Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes: niche breadth for infection, establishment, and reproduction. *Journal of Thermal Biology*, 19(4): 245-253.
[https://doi.org/10.1016/0306-4565\(94\)90047-7](https://doi.org/10.1016/0306-4565(94)90047-7)
- Griffin, C.T.** 1993. Temperature responses of entomopathogenic nematodes for the success of biological control programs. Pages 101-111. In: *Nematodes and the biological control of insect pests*. R.A. Bedding, R.J. Akhurst and H.K. Kaya (eds.). CSIRO Publications, East Melbourne, Australia. 266 pp.
- Hammad, S.A.** 2014. Virulence of Entomopathogenic Nematodes to *Ceratitidis capitata* (Wied.) (Diptera: Tephritidae). *Journal of Production and Development*, 19(2): 199-214.
- Heve, W.K., F.E. El-Borai, D. Carrillo and L.W. Duncan.** 2017. Biological control potential of entomopathogenic nematodes for management of Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa* Loew (Tephritidae). *Pest Management Science*, 73(6): 1220-1228. <https://doi.org/10.1002/ps.4447>
- James, M., A.P. Malan and P. Addison.** 2018. Surveying and screening South African entomopathogenic nematodes for the control of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Wiedemann). *Crop Protection*, 105: 41-48.
<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.11.008>
- جاويش، أماني، عبد النبي بشير وخالد العسس.** 2010. دراسة مخبرية لتأثير درجات الحرارة في فاعلية بعض عزلات النيماطودا الممرضة للحشرات من الجنسين *Heterorhabditis* و *Steinernema* المستخلصة من ترب بعض بساتين الفاكهة في ريف دمشق. *المجلة العربية للبيانات الجافة*، 6(2): 78-88.
- [Jawish, A., A. Basheer and K.M. Al-Assas.** 2010. *The Impact of Different Temperature Levels on Pathogenic Efficacy for some Strain Entomopathogenic Nematodes Isolated from some Orchards in Damascus Countryside. The Arab Journal for Arid Environments*, 6 (2): 78-88. (In Arabic).]
- Aatif, H.M., M.S. Hanif, M. Raheel, M. Ferhan, M.Z. Mansha, A.A. Khan, M.I. Ullah, Q. Shakeel and S. Ali.** 2020. Temperature dependent virulence of the entomopathogenic nematodes against immatures of the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* Hendel (Diptera: Tephritidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 30: 42.
<https://doi.org/10.1186/s41938-020-00248-7>
- Abbott, W.S.** 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18(2): 265-267.
<https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>
- Ali, Y.A.** 2010. Studies on the effectiveness of entomopathogenic fungi in integrated pest management using the fruit flies *Ceratitidis capitata* and *Rhagoletis cerasi* (Diptera:Tephritidae) as examples. PhD Dissertation. Division Phytomedicine. Humboldt University, Berlin. 153 pp.
- Ali, Y.A., A.M. Ahmad and J.A. Amar.** 2015. Hymenopteran parasitoids (Figitidae and Pteromalidae) of *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) on loquat and guava in Tartous, Syria. *Biocontrol Science and Technology*, 25(2): 223-228.
<https://doi.org/10.1080/09583157.2014.964662>
- Bal, H.K and P.S. Grewal.** 2015. Lateral dispersal and foraging behavior of entomopathogenic nematodes in the absence and presence of mobile and non-mobile hosts. *PLoS ONE*, 10(6): e0129887.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0129887>
- Barbosa-Negrisoni, C.R.C., M.S. Garcia, C. Dolinski, A.S.Jr. Negrisoni, D. Bernardi and D.E. Nava.** 2009. Efficacy of indigenous entomopathogenic nematodes (Rhabditidae: Heterorhabditidae, Steinernematidae), from Rio Grande do Sul Brazil, against *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) in peach orchards. *Journal of Invertebrate Pathology*, 102(1): 6-13. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.05.005>
- Barnes, B.N., J.H. Hofmeyr, S. Groenewald, D.E. Conlong and M. Wohlfarter.** 2015. The sterile insect technique in agricultural crops in South Africa: a metamorphosis, but will it fly? *African Entomology*, 23(1): 1-18. <https://doi.org/10.4001/003.023.0103>
- Dias, N.P., M.J Zotti, P. Montoya, I.R. Carvalho and D.E. Nava.** 2018. Fruit fly management research: A systematic review of monitoring and control tactics in the world. *Crop Protection*, 112: 187-200.
<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2018.05.019>

- Liquido, N.J., R.T. Cunningham and S. Nakagawa.** 1990. Host plants of mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) on the Island of Hawaii (1949-1985 Survey). *Journal of Economic Entomology*, 83(5): 1863-1878. <https://doi.org/10.1093/jee/83.5.1863>
- Minas, R.S., R.M. Souza, C. Dolinski, R.S. Carvalho and R.S. Burla.** 2016. Potential of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae) to control Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) soil stages. *Nematoda*, 3: e02016. <http://dx.doi.org/10.4322/nematoda.02016>
- Mokrini, F., S.E Laasli, Y. Benseddik, A.B Joutei, A. Blenzar, H. Lakhal, M. Sbaghi, M. Imren, G. Özer, T. Paulitz, R. Lahlali and A.A Dababat.** 2020. Potential of Moroccan entomopathogenic nematodes for the control of the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae). *Scientific Reports*, 10(1): 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76170-7>
- Pervez, R., S.S. Ali and R. Ahmad.** 2008. Effect of temperatures on the emergence of entomopathogenic nematodes. *International Journal of Nematology*, 18(1): 25-28.
- Rohde, C., A.M. Junior, M.A.T. Silva and F.D Carvalho.** 2012. Effect of *Heterorhabditis* sp. and *Steinernema carpocapsae* applied in different periods of soil infestation with larvae of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Brazilian Journal of Applied Technology for Agricultural Science*, Guarapuava-PR, 5(3): 79-84. <https://doi.org/10.5777/paet.v5i3.1647>
- Toledo, J., J.E. Ibarra, P. Liedo, A. Gómez, M.A. Rasgado and T. Williams.** 2005. Infection of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) larvae by *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) under laboratory and field conditions. *Biocontrol Science and Technology*, 15(6): 627-634. <https://doi.org/10.1080/09583150500089049>
- Toledo, J., M.A. Rasgado, E.J. Ibarra, A. Gómez, P. Liedo and T. Williams.** 2006. Infection of *Anastrepha ludens* following soil applications of *Heterorhabditis bacteriophora* in a mango orchard. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 119(2): 155-162. <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2006.00412.x>
- Ulu, T.C. and I.A. Susurluk.** 2014. Heat and desiccation tolerances of *Heterorhabditis bacteriophora* strains and relationships between their tolerances and some bio-ecological characteristics. *Invertebrate Survey Journal*, 11: 4-10.
- Weems, H.V., Jr., J.B Heppner, T.R Fasulo and J.L. Nation.** 2014. Caribbean fruit fly (*Anastrepha suspensa* Loew) (Insecta: Diptera: Tephritidae). *Featured Creatures EENY-196: July Reviews*, Gainesville, FL: UF/IFAS. 7 pp. <https://doi.org/10.32473/edis-in353-2001>
- Wong, T.T.Y., M.M Ramadan, J.C Herr and D.O. McInnis.** 1992. Suppression of a Mediterranean Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) population with concurrent parasitoid and sterile fly releases in Kula, Maui, Hawaii. *Journal of Economic Entomology*, 85(5): 1671-1681. <https://doi.org/10.1093/jee/85.5.1671>
- Kapranas, A., A.M.D. Maher and C.T. Griffin.** 2017. The influence of organic matter content and media compaction on the dispersal of entomopathogenic nematodes with different foraging strategies. *Parasitology*, 144(14): 1956-1963. <http://doi.org/10.1017/S0031182017001317>
- Karagoz, M., B. Gulcu, C. Hazir, H.K. Kaya and S. Hazir.** 2009. Biological control potential of Turkish entomopathogenic nematodes against the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *Phytoparasitica*, 37: 153. <https://doi.org/10.1007/s12600-008-0020-5>
- Koppenhöfer, A.M.** 2000. Nematodes. Pages 283-301. In: *Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology*. L.A. Lacey and H.K. Kaya (eds.). Kluwer-Academic Press, Dordrecht, The Netherlands, 868 pp. <https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5933-9>
- Koppenhöfer, A.M. and H.K. Kaya.** 1999. Ecological characterization of *Steinernema rarum*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 73(1): 120-128. <https://doi.org/10.1006/jipa.1998.4822>
- Koppenhöfer, A.M., D.I. Shapiro-Ilan and I. Hiltbold.** 2020. Entomopathogenic Nematodes in Sustainable Food Production. *Frontiers in Sustainable Food Systems*. 4: 125. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00125>
- Labaude, S. and C. Griffin.** 2018. Transmission success of entomopathogenic nematodes used in pest control. *Insects*, 9: 72. <https://doi.org/10.3390/insects9020072>
- Langford, E.A., U.N. Nielsen, S.N. Johnson and M. Riegler.** 2014. Susceptibility of Queensland fruit fly, *Bactrocera tryoni* (Froggatt) (Diptera: Tephritidae), to entomopathogenic nematodes. *Biological Control*, 69: 34-39. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2013.10.009>
- Lankin, G., G. Vidal-Retes, G. Allende, C. Castaneda-Alvarez, E. San-Blas and E. Aballay.** 2020. Soil texture, infective juvenile concentration, and soil organic matter influence the efficacy of *Steinernema feltiae* isolate Lican Ray. *Journal of Nematology*, 52: 1-11. <https://doi.org/10.21307/jofnem-2020-007>
- Leftwich, P.T., M. Koukidou, P. Rempoulakis, H.F Gong, A. Zacharopoulou, G. Fu, T. Chapman, A. Economopoulos, J. Vontas and L. Alphey.** 2014. Genetic elimination of field-cage populations of Mediterranean fruit flies. *Proceedings of the Royal Society B*, 281: 20141372. <https://doi.org/10.1098/rspb.2014.1372>
- Lewis, E.E., J. Campbell, C. Griffin, H. Kaya and A. Peters.** 2006. Behavioral ecology of entomopathogenic nematodes. *Biological Control*, 38(1): 66-79. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2005.11.007>
- Lindgren, J.E., T.T. Wong and D.O. McInnis.** 1990. Response of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) to the entomogenous nematode *Steinernema feltiae* in field tests in Hawaii. *Environmental Entomology*, 19(2): 383-386. <https://doi.org/10.1093/ee/19.2.383>

Zeini, Gh., N. Abo Kaf, M. Al-Body and M. Mofleh. 2019. Molecular characterization of several isolates of entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (Rhabditida, Heterorhabditidae) from soil of citrus orchards in Latakia, Syria. SSRG International Journal of Agriculture and Environmental Science, 6(2): 70-74.
<https://doi.org/10.14445/23942568/IJAES-V6I2P113>

Yee, W. and L.A. Lacey. 2003. Stage-specific mortality of *Rhagoletis indifferens* (Diptera: Tephritidae) exposed to three species of *Steinernema* nematodes. Biological Control, 27(3): 349-335.

[https://doi.org/10.1016/S1049-9644\(03\)00029-X](https://doi.org/10.1016/S1049-9644(03)00029-X)

Zadji, L., H. Baimey, L. Afouda, M. Moens and W. Decraemer. 2014. Effectiveness of different *Heterorhabditis* isolates from Benin for biocontrol of the subterranean termite, *Macrotermes bellicosus* (Isoptera: Macrotermitinae), in laboratory trials. Nematology, 16(10): 109-120.

<https://doi.org/10.1163/15685411-00002749>

Received: July 27, 2021; Accepted: December 29, 2021

تاريخ الاستلام: 2021/7/27؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2021/12/29