

تقييم توافق كفاءة المبيد Coragen ومستخلص الينسون النجمي (*Illicium verum*) مع البكتيريا
Brevibacillus laterosporus ومخاليلها ضد يرقات دودة جوز القطن الشوكية
(*Earias insulana*) تحت ظروف المختبر

صالح خلف عطيه^{*}، محمد شاكر منصور وعبدالله عبد الكريم حسن

مديرية تربية صلاح الدين، وزارة التربية؛ وقسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة تكريت، العراق.

* البريد الإلكتروني للباحث المرسل: salihkhalaf92@gmail.com

الملخص

عطيه، صالح خلف، محمد شاكر منصور وعبدالله عبد الكريم حسن. 2024. تقييم توافق كفاءة المبيد Coragen ومستخلص الينسون النجمي (*Illicium verum*) مع البكتيريا *Brevibacillus laterosporus* ومخاليلها إزاء يرقات دودة جوز القطن الشوكية (*Earias insulana*) تحت ظروف المختبر. مجلة وقاية النبات العربية، 42(1): 55-66. <https://doi.org/10.22268/AJPP-001220>

أجريت هذه الدراسة لتقييم التأثير المختلط للمبيد Coragen ومستخلص الينسون النجمي (*Illicium verum*) مع البكتيريا *Brevibacillus laterosporus* ضد يرقات دودة جوز القطن الشوكية (*Earias insulana*) وتشخيصها مظهرياً وجزئياً. بينت نتائج التشخيص الجزيئي لدودة جوز القطن الشوكية المعتمدة على تتابع القواعد النروجينية للجين سايتوكروم أوكسيداز C الوحدة الثانوية I (في الميتوكوندريا) تطابقاً بلغت نسبته المنوية 99.86% للحشرة المراد تشخيصها مع تتابعات هذا الجين لدودة جوز القطن الشوكية المعزولة من الفلبين والمسجلة بالرقم العالمي JX303976.1، وسجلت الحشرة في البنك الوراثي العالمي تحت الرقم العالمي OP482241.1. أظهرت نتائج توافقية المبيد Coragen ومستخلص الينسون النجمي (*I. verum*) مع البكتيريا *B. laterosporu* زيادة ملحوظة في أعداد مستعمرات البكتيريا إذ بلغت 145.25 و 85.88 خلية بكتيرية/مل مع التركيز الموصى به وتحت الموصى به للمبيد، و 73.91، 66.08، 46.95، 30.43 و 18.26 خلية بكتيرية/مل مع مستخلص الينسون النجمي للتركيز 5، 4، 3، 2 و 1 مل/ليتر، على التوالي. أعطت تداخل معاملة البكتيريا فقط عند التركيز 10×1.9 خلية بكتيرية/مل ومبيد Coragen عند التركيز 300 جزء في المليون ومستخلص الينسون النجمي عند التركيز 5000 جزء في المليون أعلى نسب موت بلغت 70.0، 63.33، 80.0%، على التوالي، بعد خمس أيام من المعاملة. وعند استخدام نفس التراكيز أعلاها بلغت نسبة الموت بعد سبعة أيام من المعاملة 70.0، 90.0 و 80.0% على التوالي، بينما لم تسجل أي نسبة موت لمعاملة البكتيريا والمستخلص عند التركيز 10×1.9 خلية بكتيرية/مل و 1000 جزء في المليون بعد يوم واحد. بينت نتائج تداخل مخاليل تركيز المبيد مع البكتيريا والينسون (والمبيد مع الينسون فقط) عند التركيز 300 جزء في المليون حدوث أعلى نسبة موت وبلغت 100%، يليها تداخل المبيد مع البكتيريا عند 300 جزء في المليون والتي بلغت 93.33%، بينما أظهر تداخل خليط مستخلص الينسون النجمي مع البكتيريا عند التركيز 5000 جزء في المليون أقل نسبة هلاك (86.66%) بعد سبعة أيام من المعاملة. أوضحت نتائج الدراسة أن التشخيص الجزيئي لدودة جوز القطن الشوكية المدروسة قد أعطت أعلى تطابق 99.83% مع سلالة للحشرة في دولة فنلندا، ويعدّ هذا أول تشخيص جزيئي لهذه الحشرة في العراق. أظهرت نتائج التوافقية أن المبيد Coragen ومستخلص الينسون النجمي قد أعطت زيادة ملحوظة في أعداد البكتيريا *B. laterosporus*، بينما أعطت النتائج زيادة في نسب موت الحشرة بعد سبعة أيام لكل من المعاملات وخليطها، وهذا يعطي كفاءة جيدة للمبيد والمستخلص مع البكتيريا تجاه دودة جوز القطن الشوكية، وهي عناصر مهمة في الإدارة المتكاملة للآفات.

كلمات مفتاحية: بكتيريا *B. laterosporus*، مبيد Coragen، مستخلص الينسون النجمي، *I. verum*، دودة جوز القطن الشوكية، *E. insulana*.

المقدمة

مؤدية إلى ذبولها وتذلي أوراقها ومن ثم تجف ويسود لونها مع بقاء اليرقات داخلها، تنتقل بعدها إلى البراعم الزهرية مسببة تساقطها، وتهاجم الجوز في القطن فتتغذى لتتغذى على البذور وكذلك تفعل بثمار البامياء، وتستمر بالنمو والانسلاخ إلى أن تمر بأعمارها الخمسة (عرب وآخرون، 2018). تتناول كثير من الباحثين في مختلف أنحاء العالم مكافحة بالغات ويرقات هذه الحشرة باستعمال المبيدات الكيميائية العضوية التي تعود إلى مجاميع

تعدّ دودة جوز القطن الشوكية (*Earias insulana* Boisd.) من الآفات التي تصيب القطن والبامياء والخباز والجوت والجلجل والخنمة، حيث تصيب القمم النامية والبراعم الزهرية والأزهار، ويأتي ضرر هذه الحشرة من تغذية يرقاتها على البراعم الورقية والأنسجة النباتية والأوراق الغضة

جانبيتين بأبعاد 20×20 سم مع طبقة رقيقة من التربة مفروشة في الأسفل، ثبت عليها قطع من قماش الململ الأبيض بطول 50 سم مغطى من الأعلى بقماش الململ تحوي على قرون طازجة، وذلك حتى تضع بالغات الحشرة البيض عليه، وبالوقت نفسه هو تغذية لليرقات مع توفير الرطوبة اللازمة. بعد خروج البالغات، تمت تغذيتها بمحلول سكري تركيزه 10% ومحلول عسل وماء 5% في أنبوبة بلاستيكية حجم 10 مل. تمت تغطيته بالقطن بثبته على جدار الصندوق الزجاجي من الداخل، وبعد مرور 4-5 يوم فقس البيض إلى يرقات العمر الأول، نقلت إلى أكواب بلاستيكية خاصة لتربية اليرقات دائرية الشكل بأبعاد 7×10 سم. ثم وضعت 10 يرقات في كل علبه وتم تغيير الغذاء كل يومين أو ثلاثة أيام، وتمت مراقبتها يومياً لحين وصولها إلى العمر اليرقي الثالث وعزلها بغرض إجراء الاختبارات الحيوية عليها (الجبوري، 2019).

التشخيص المظهري والجزيئي لدودة جوز القطن الشوكية

تم التشخيص المظهري حسب كتاب مركز ومتحف التاريخ الطبيعي، جامعة بغداد بالرقم 687 في 2021/9/29، وتم تأكيد التشخيص إلى مستوى النوع باستعمال التشخيص الجزيئي (Folmer *et al.*, 1994) المعتمد على تتابع القواعد النروجينية للمورثة سايتوكروم اوكسيدز C الوحدة الثانوية 1 (في الماييتوكونديريا)، إذ تم عزل الحمض النووي DNA المجيني من جسم الحشرة كاملاً باستخدام عدة الاستخلاص (G-spin DNA extraction kit, Cat.no. 17045, iNtRON) (Biotechnology, Korea). استخدم الترحيل الكهربائي للهلام لاستخراج DNA المجيني من الحشرتين المدروستين باستخدام هلام الاجاروز 1% و بمعدل 5 فولت/سم لمدة 1.30 ساعة. تم تصوير نتائج الترحيل الكهربائي لـ DNA المجيني باستخدام كاميرا رقمية. أجري تفاعل البلمرة المتسلسل PCR لتضخيم مورثة السايتوكروم أوكسيدز (Col) الوحدة الثانوية 1 باستخدام زوج البادئات والذي يضخم قطعة من المورثة بحجم 720 زوج قاعدي (Folmer *et al.*, 1994):

'5-GGTCAACAAATCATAAAGATATTG-3' (أمامي)

'5-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3' (خلفي)

استخدمت العدة (Maxime™ PCR PreMix (i-Taq), Cat. No. 25025, Lilif diagnostics, USA) لإجراء التفاعل بحجم إجمالي 25 ميكروليتر يتكون من المواد التالية: 5 ميكروليتر Taq PCR PreMix، 1 ميكروليتر بادئ أمامي بتركيز 10 بيكومول/ميكروليتر، 1 ميكروليتر بادئ خلفي بتركيز 10 بيكومول/ميكروليتر، 1.5 ميكروليتر DNA المجيني، 16.5 ميكروليتر ماء مقطر معقم.

استخدم البرنامج التالي لإتمام التفاعل: دورة واحدة لمدة خمس دقائق عند حرارة 95°س، 35 دورة يتكون كل منها 45 ثانية عند حرارة

المبيدات الفوسفورية والبيروثريدية الكارباماتية في مكافحة ديدان جوز القطن الشوكية، إلا أن ديدان جوز القطن أظهرت مقاومتها لمعظم هذه المبيدات، فضلاً عن كلفتها العالية (Ramaubramanyam, 2004)، إضافة إلى استخدام الطرائق الزراعية، إلا أن جميع هذه الطرائق لم تحد من أضرار هذه الآفة. لذلك اتجه العالم نحو إيجاد مركبات كيميائية وحيوية صديقة للبيئة منتجة طبيعياً من الأحياء المجهرية والنباتات التي صنفت ضمن المبيدات الحيوية (Biopesticides) والتي تمتاز بأمانها العالي على الإنسان والأحياء المفيدة وسرعة تحطمها في النظام البيئي، فضلاً عن فاعليتها العالية في مكافحة مختلف الحشرات وعلى المحاصيل المختلفة ضمن برامج الإدارة المتكاملة للآفات (Aktar *et al.*, 2009؛ Huang *et al.*, 2020؛ Fernández-Ruvalcaba *et al.*, 2010). إن استعمال المركبات الطبيعية ذات الأصل النباتي (مستخلصات نباتية) يندرج ضمن الاتجاهات الحديثة التي أثبتت كفاءتها في مكافحة الآفات الحشرية. لهذه المركبات طرائق تأثير متعددة على الحشرة المستهدفة شملت السمية المباشرة، التأثير في نمو وتطور الحشرة، مانعات تغذية، التأثير في منع نضج ووضع البيوض والتأثير في خصوبة الإناث (Halawa, 2006). أظهرت البكتيريا *B. laterosporus* كفاءة عالية في مكافحة عدة رتب حشرية، منها رتبة ثنائية وغمدية ونصفية وحرشفية الأجنحة وخاصة البعوض، كما أنها تسببت في نسبة هلاك 93.33% من يرقات دودة جوز القطن الشوكية. وبعد استخدام البكتيريا الداخلية العديد من أمراض وآفات النبات (Favret & Yousten, 2011)؛ (Hassan *et al.*, 2023)؛ ونظراً لأهمية الأضرار التي تحدثها حشرة دودة جوز القطن الشوكية على نبات البامياء، فقد أجريت هذه الدراسة بهدف تقييم توافق مبيد Coragen ومستخلص الينسون النجمي (*Illicium verum*) مع البكتيريا *B. laterosporus* لمكافحة هذه الحشرة مختبرياً.

مواد البحث وطرائقه

مصدر وتربية دودة جوز القطن الشوكية مختبرياً

جمعت يرقات الحشرة من قرون نبات البامياء المصابة من عدة حقول في قضاء بيجي، ووضعت في علب بلاستيكية ونقلت إلى المختبر، وبعد ذلك تمت تربيتها مختبرياً عند حرارة 27±2°س ورطوبة نسبية 30-50%، في حاوية بلاستيكية بارتفاع 20 سم وطول 40 سم وعرض 30 سم مفروشة أرضيتها بطبقة رقيقة من التربة. غذيت اليرقات على قرون البامياء الطازجة حتى وصولها إلى طور العذراء، ثم نقلت العذارى إلى صندوق زجاجي بأبعاد 50×50×50 سم الذي يحتوي على فتحتين

95°س، 45 ثانية عند حرارة 58°س و 45 ثانية عند 72°س، يلي ذلك دورة أخيرة لمدة سبع دقائق عند حرارة 72°س. تم الترحيل الكهربائي ناتج تفاعل PCR على هلام الأجاروز 2% عند 5 فولت/سم² في محلول منظم TBE، لمدة 90 دقيقة، ثم تم تصوير ناتج التفاعل باستخدام عدة التوثيق.

تحليل التتابع النيوكليوتيدي

حدد التتابع النيوكليوتيدي المضمخ للمورثة COI مباشرة بعد الحصول على ناتج تضاعف المورثة عن طريق ارسال 25 ميكروليتر من ناتج التفاعل PCR Product إلى الشركة الكورية Macrogen، ثم قورنت النتائج من خلال برنامج حاسوبي على شبكة الانترنت (BLAST) مع قاعدة البيانات في الموقع العالمي للمعلومات الوراثية National Center for Biotechnology Information (NCBI) الذي يقوم بمقارنة التسلسل والتطابق للتتابع الجيني للحشرتين المراد تشخيصها ومعرفة نوعها وجنسها مقارنة مع التتابعات في قاعدة البيانات المعروفة والمشخصة مسبقاً.

المواد الكيميائية والمستخلصات النباتية

مبيد Coragen 20 SC

استخدمت المادة الفعالة كلورانترانيليبيرول انتاج شركة أف أم سي انترناشونال سوازيلاند اس ايه ار ال - فرنسا. الاستعمال الحقل الموصى به هو 15-20 مل/100 لتر ماء. حضرت التراكيز 100، 150، 200، 250 و 300 جزء في المليون والتي تم اعتمادها بعد الاختبارات الأولية على الحشرة، حيث بدأ بالتركيز الأقل حتى الأعلى بمعاملة يرقات دودة جوز القطن الشوكية.

المستخلص الكحولي لليانسون النجمي (*I. verum*)

تم شراء بذور نبات اليانسون النجمي من الأسواق المحلية. غسلت البذور بالماء لإزالة الأتربة وبعدها وضعت في فرن كهربائي عند حرارة 25°س لمدة 3 أيام، لغرض تجفيفها مع التقليب المستمر لتجنب تعفنها، وعند تمام جفافها طحنت البذور الجافة بمطحنة كهربائية وحولت إلى مسحوق ناعم وحفظت في أكياس بلاستيكية في الثلاجة لحين إجراء عملية الاستخلاص. اعتمدت طريقة Harborne (1984) لإستخلاص المواد الخام، حيث وضع 300 غ من مسحوق بذور اليانسون في أنبوبة الاستخلاص ثم وضعت في جهاز الاستخلاص (Soxhlet extractor)، بعدها أضيف 1.6 لتر من الكحول الأيثيلي بتركيز 99% ولمدة 8 ساعات عند حرارة 160°س، بعد ذلك جرى تركيز العينة في جهاز المبخر الدوار (Rotary Evaporator) عند حرارة لم تتجاوز 50°س وتحت ضغط منخفض. وبعد الحصول على محلول هلامي القوام، أضيف

1 مل من الكحول الأيثيلي ونقلت العينة إلى قنينة زجاجية معلومة الوزن ووضعت في الفرن عند حرارة 50°س للحصول على المستخلص الجاف. حفظت العينة في الثلاجة لحين الاستعمال، ثم حضرت التراكيز المطلوبة (1000، 2000، 3000، 4000 و 5000 جزء في المليون) من المستخلص للاختبارات الحيوية ضد حشرة دودة جوز القطن الشوكية.

إختبار توافقية المبيد Coragen واليانسون النجمي مع البكتيريا

B. laterosporus

حضر معلق البكتيريا عن طريق أخذ مسحة بواسطة ناقل جرثومي من مزرعة بكتيرية نشطة عمرها 24 ساعة، ثم زرعت في وسط المرق المغذي وحضنت لمدة 24 ساعة وبعد ذلك أخذ 1 مل من الوسط المغذي ووضعت في 9 مل ماء مقطر ليصبح أول تخفيف، وتستمر هذه العملية حتى الوصول لغاية التخفيف 10¹⁰×1.9 خلية بكتيرية/مل، ثم وضع 1 مل من هذا التخفيف في أطباق بتري ثم صب الوسط الغذائي المحضر مسبقاً مع إضافة المادة المضافة المختبرة بموجب التركيز المستعمل، مع تحريك الأطباق على هيئة رقم 8 لضمان تجانس توزيع عالق البكتيريا المخفف مع الوسط. أجريت ثلاثة مكررات لكل معاملة من المواد المضافة المدروسة ولكل تركيز فضلاً عن معاملة المقارنة (بدون إضافة المبيد ومستخلص)، ثم حضنت الأطباق عند حرارة 37°س لمدة 24-48 ساعة. قدرت أعداد المستعمرات بعد مدة الحضانة وذلك بضرب عدد المستعمرات مقلوب التخفيف (الجبروي، 2019). قدرت النسبة المئوية للتثبيط على المعادلة التالي:

$$\frac{\text{النسبة المئوية لنمو المستعمرات}}{\text{عدد مستعمرات الشاهد}} = \frac{\text{عدد المستعمرات المعاملة بالمبيد}}{100} \times 100\%$$

$$\text{النسبة المئوية للتثبيط} = 100 - \text{النسبة المئوية للنمو}$$

إضافة تراكيز المواد الكيميائية والمستخلصات النباتية إلى وسط النمو

للبيكتيريا *B. laterosporus*

استعملت تراكيز المبيد Coragen الموصى بها وتحت الموصى بها 0.20 و 0.10 مل/ليتر في اختبار التوافقية حسب تعليمات الشركة المصنعة، بينما استعمل مستخلص اليانسون النجمي بالتراكيز 1، 2، 3، 4 و 5 مل/ليتر الناتجة من الاختبارات الأولية ضد حشرة دودة جوز القطن الشوكية، أما البكتيريا فقد استعمل 1 مل من التركيز 10¹⁰×1.9 خلية بكتيرية/مل.

تقييم تأثير البكتيريا *B. laterosporus* في يرقات العمر الثالث لدودة

جوز القطن الشوكية

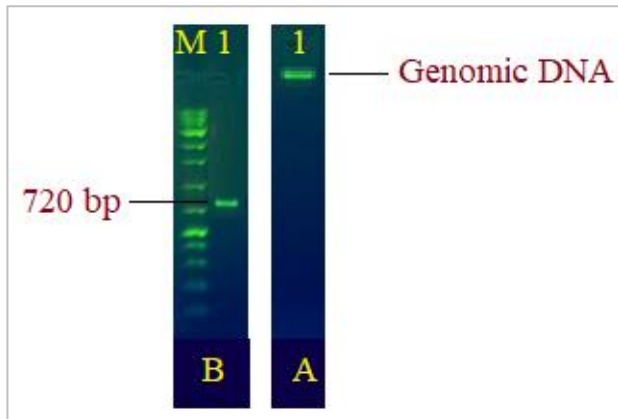
أجريت التجربة لتقييم حيوية البكتيريا *B. laterosporus* على يرقات دودة جوز القطن الشوكية باستخدام خمسة تراكيز من البكتيريا 10¹⁰×1.9،

وخلف الله، (2000)، وقد استعمل البرنامج الإحصائي S.A.S 2001. في تحليل نتائج التجارب.

النتائج والمناقشة

التشخيص الجزيئي لدودة جوز القطن الشوكية

يبين الشكل A-1 الترحيل الكهربائي للـ DNA الجينومي للحشرة *E. insulana*، إن ظهور حزمة واحدة لكل حشرة دليل كفاءة استخلاص DNA الجينومي من الحشرة، كما يبين الشكل B-1 ظهور حزمة لنتائج تقاعل PCR باستخدام البادئ الخاص بالمورثة سايتوكروم اوكسيداز C الوحدة الثانوية I بحجم جزيئي بلغ 720 زوج قاعدي، وأن الحجم الجزيئي للحشرة بلغ 720 زوج قاعدي وهذا الحجم يدل على كون العينات ضمن الحشرات (Folmer et al., 1994).



شكل 1. الترحيل الكهربائي للـ DNA الجينومي لدودة جوز القطن الشوكية *Earias insulana* في هلام الأجاروز 1% (A) و 2% (B)، M= سلم الحجم الجزيئي.

Figure 1. Electrophoresis of PCR products of genomic DNA of the insect *Earias insulana* in 1% (A) and 2% agarose (B). M= DNA molecular size ladder.

التشخيص الجزيئي لدودة جوز القطن الشوكية اعتماداً على تحليل

التتابع النيوكليوتيدي

أظهرت النتائج تحليل المورث COI مع بعض سلالات الحشرات المسجلة في البنك الوراثي العالمي أن هناك تطابقاً بلغت نسبته المئوية 99.86% لتتابعات المورثة سايتوكروم اوكسيداز C الوحدة الثانوية I للحشرة المراد تشخيصها مع تتابعات هذه المورثة للحشرة المعزولة من الفلبين والمسجلة بالرقم العالمي KF02221 وسجلت الحشرة في البنك الوراثي العالمي تحت الرقم العالمي OP482241.1. ويعد التشخيص الجزيئي باستخدام بادئ المورثة سايتوكروم اوكسيداز C الوحدة الثانوية I في الميتوكوندريا من التقنيات الدقيقة التي يمكن بواسطتها التشخيص الدقيق للحشرات على

بعد ذلك عملت ثلاثة مكررات من غذاء الحشرة (قرون البامياء) في أكواب بلاستيكية ورشت بالتراكيز المذكورة وتم حساب نسبة القتل المئوية بعد 1، 3، 5 و 7 أيام من المعاملة وصححت حسب معادلة Schneider & Orell (الجبوري والملاح، 2013).

$$\text{نسبة القتل المصححة \%} = \frac{\text{نسبة القتل في المعاملة} - \text{نسبة القتل في الشاهد}}{100} \times 100$$

تقييم تأثير المبيد Coragen مع البكتيريا *B. laterosporus* ضد يرقات العمر الثالث لدودة جوز القطن الشوكية

أجريت التجربة لتقييم المبيد Coragen مع البكتيريا *B. laterosporus* على يرقات دودة جوز القطن الشوكية تم تحضير خمسة تراكيز شملت 100، 150، 200، 250 و 300 جزء في المليون من المبيد وتركيزه 10×10^{10} خلية بكتيرية/مل من البكتيريا. بعد ذلك عوملت قرون البامياء (المعقمة سطحياً بهيبوكلووريت الصوديوم تركيز 3% ولمدة دقيقة واحدة) داخل أكواب بلاستيكية بواقع خمس قرون (بوزن 10 غ للقرن) باستعمال التراكيز أعلاه كلا على حدة، وبثلاثة مكررات، ثم نقلت إليها 10 يرقات بعمرها الثالث، وبعد ذلك تم حساب النسبة المئوية للقتل بعد 1، 3، 5 و 7 أيام من المعاملة المعاملة وصححت حسب معادلة Schneider & Orell (الجبوري والملاح، 2013).

تقييم تأثير البكتيريا *B. laterosporus* مع مستخلص الياغسون النجمي في يرقات العمر الثالث لدودة جوز القطن الشوكية

لتقييم مستخلص الياغسون النجمي مع البكتيريا *B. laterosporus* على يرقات دودة جوز القطن الشوكية تم عمل خمس تراكيز من البكتيريا 10×10^6 ، 10×10^7 ، 10×10^8 ، 10×10^9 و 10×10^{10} خلية بكتيرية/مل، وتركيز 5 مل من المستخلص بعد ذلك عوملت قرون البامياء (المعقمة سطحياً بهيبوكلووريت الصوديوم تركيز 3% ولمدة دقيقة واحدة) داخل أكواب بلاستيكية بواقع خمسة قرون (بوزن 10 غ للقرن) باستعمال التراكيز أعلاه كلا على حدة بثلاثة مكررات ثم نقلت إليها 10 يرقات بعمرها الثالث، وبعد ذلك تم حساب النسبة المئوية للقتل بعد 1، 3، 5 و 7 أيام من المعاملة المعاملة وصححت حسب معادلة Schneider & Orell (الجبوري والملاح، 2013).

التحليل الإحصائي

استخدم نظام التصميم العشوائي الكامل (C.R.D.) وقورنت المتوسطات باستخدام اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5% (الراوي

مستوى النوع وقد شخصت الدراسات السابقة أنواع كثيرة من الحشرات اعتماداً على هذه المورثة (Swamy et al., 2018).

توافقية المبيد Coragen ومستخلص اليانسون النجمي مع البكتيريا *B. laterosporus*

أظهرت نتائج هذه الدراسة (جدول 1) توافق المبيد Coragen ومستخلص اليانسون النجمي مع البكتيريا *B. laterosporus*، إذ أظهر المبيد Coragen بالتركيز تحت الموصى به أعلى نسبة زيادة في أعداد البكتيريا التي وصلت إلى 283.66%، يليها المبيد Coragen بالتركيز الموصى به بنسبة 215.00%، ومستخلص اليانسون النجمي بنسبة بلغت 200.0، 191.0، 169.33، 150.66 و 136.00% عند التراكيز 1000، 2000، 3000، 4000 و 5000 جزء في المليون، على التوالي، مقارنة مع الشاهد (بكتيريا فقط) والتي بلغت 115.66%. ويمكن تفسير ذلك بأن الزيادة الحاصلة في أعداد البكتيريا أثناء الخلط مع المواد الكيميائية والمستخلصات النباتية يعود إلى عدم تأثير هذه البكتيريا بهذه المواد، ويرجع ذلك إلى وجود المركبات القلويدية في المستخلص وكذلك المواد الكيميائية الأخرى الموجودة في المبيد مثل عنصر الكربون والكلور التي تحتاجها البكتيريا في عملية إنتاج الطاقة، كما تجعل وسط الناشر للبكتيريا قاعدياً ومناسباً لنموها وتكاثرها فضلاً عن بعض المركبات التي تستعملها البكتيريا كغذاء في نموها وتكاثرها مثل الكلايكوسيدات وسكر الكلوكوز وفيتامين C والزيوت ومركب Quercetin من الفلافونويدات.

جدول 1. توافقية مبيد Coragen ومستخلص اليانسون النجمي (*I. verum*) مع بكتيريا *B. laterosporus*

Table 1. Compatibility of Coragen and star anise, *I. verum* extract with *B. laterosporus*.

التركيز (مل/ل)	عدد المستعمرات ($10^{10}x$)	النقصان أو الزيادة (%)
Concentration (ml/L)	Number of colonies ($x10^{10}$)	Increase or decrease (%)
Coragen		
0.20	215.00 b	85.88 +
0.10	283.66 a	145.25+
اليانسون النجمي		
1	136.00 g	18.26+
2	150.66 f	30.43+
3	169.33 e	46.95+
4	191.00 d	66.08+
5	200.00 c	73.91+
الشاهد (بكتيريا فقط)		
1	115.66 h	-

القيم التي يتبعها نفس الحروف الصغيرة في نفس العمود لا يوجد بينها فرق معنوي حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.

Values followed by the same letters in the same column are not significantly different based on Duncan multiple range test at P 0.05.

تتفق هذه النتائج مع ما ذكره البلداوي (2022) الذي أشار إلى أن توافق المواد الكيميائية مثل المبيد Coragen ومواد النشاط السطحي والزيوت والمستخلصات النباتية ربما يعود إلى أن البكتيريا قد تمتلك بعض الأنزيمات التي تبيض وتحلل هذه المواد المضافة إلى نواتج ثانوي تستفاد منها البكتيريا كمصدر غذائي مهم لنموها وتكاثرها. كما أشار الرفيعي (2018) أن الزيوت النباتية (زيت النيم، زيت الخروع وزيت الحنظل) لها تأثيراً تشبيطياً في نمو وتكاثر البكتيريا وسببت زيادة في عدد مستعمرات البكتيريا *B. thuringiensis var kurstaki*، حيث تفوق زيت الحنظل بنسبة زيادة في المستعمرات بلغت 278.60%، تلاه زيت النيم كما بين إسماعيل (2017) أن مستخلصي السبجج والدفلة، وزيتي النيم والخروع كانت متوافقة مع بكتيريا الاحيائية *B. thuringiensis var. kurstaki* وزادت من عدد المستعمرات بنسب بلغت 78.95، 632.89، 314.47 و 393.42%، على التوالي.

تقييم تأثير المبيد Coragen ضد يرقات العمر الثالث لدودة جوز القطن الشوكية

بينت النتائج (جدول 2) عن وجود فروقات معنوية لنسب القتل بين متوسطات التراكيز، إذ أظهر متوسط التركيز 300 جزء في المليون أعلى نسبة قتل والتي بلغت 62.50%، يليها التركيز 250 جزء في المليون والتي بلغت 50.83%، بينما كانت أقل نسبة قتل عند متوسط التركيز 100 جزء في المليون والتي بلغت 31.66%. وأوضح تأثير متوسطات المدد الزمنية أن أعلى نسبة قتل كانت بعد 7 أيام من المعاملة والتي بلغت 55.00%، يليها متوسط المدة الزمنية بعد 5 أيام من المعاملة والتي بلغت 46.66% بينما كانت أقل نسبة قتل بعد 1 يوم واحد من المعاملة والتي بلغت 15.55%. أما التداخل بين التراكيز والمدد الزمنية فقد أظهر تداخل التركيز 300 جزء في المليون ومدة 7 أيام من المعاملة أعلى نسبة قتل والتي بلغت 90.00%، يليها نفس التركيز بعد 5 أيام من المعاملة والتي بلغت 76.66%، بينما كانت أقل نسبة قتل في التركيز 100 جزء في المليون بعد يوم واحد من المعاملة والتي بلغت 6.66%، مقارنة بالشاهد الذي لم يسجل فيه أي نسبة قتل للحشرة.

يعزى تأثير المبيد Coragen إلى ميكانيكية التأثير السام، إذ ترتبط المادة الفعالة الكلورانترانيليبيرول بمستقبل معين في العضلات يسمى مستقبلات ريانودين، مما يتسبب في تسرب الكالسيوم من خلايا العضلات، فتتوقف العضلات عن العمل بشكل طبيعي، وتصبح الحشرة مشلولة وتموت. يختلف مستقبل الريانودين في الحشرات عنه في الثدييات، حيث يرتبط الكلورانترانيليبيرول بشدة بالمستقبلات الموجودة في الحشرات وهذا يتفق مع ما ذكره البلداوي (2022) الذي بين أن مبيد Coragen (Chlorantraniliprole) قد أظهر فاعلية تأثير على يرقات العمر الرابع لعثة الشمع الكبرى.

جدول 2. تقييم تأثير المبيد Coragen ضد يرقات العمر الثالث لدودة جوز القطن الشوكية (*E. insulana*).

Table 2. Evaluation of the effect of Coragen against the third instar larvae of the cotton spiny worm, *E. insulana*.

المتوسط العام للتركيز General mean of concentration	نسبة القتل المئوية المصححة (%) Corrected mortality rate (%)				التركيز (جزء في المليون) Concentration (ppm)
	مدة التعريض (يوم) Exposure period (days)		مدة التعريض (يوم) Exposure period (days)		
	7	5	3	1	
31.66 E	50.00 efg	40.00 hij	30.00 k	6.66 Mn	100
37.50 D	50.00 cde	46.66 fgh	36.66 ljk	10.00 M	150
43.33 C	60.00 cd	53.33 efg	40.00 hij	20.00 L	200
62.50 A	73.33 b	63.33 c	43.33 hij	26.66 l	250
62.50 A	90.00 a	76.66 b	50.00 efg	33.33 Jk	300
	55.00 A	46.66 B	33.33 C	15.55 D	المتوسط العام للمدة الزمنية

General mean for the exposure period

القيم التي يتبعها الأحرف الصغيرة أو الكبيرة نفسها في ذات العمود أو الصف لا يوجد بينها فرق معنوي حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%. Values followed by the same small or capital letters in the same column or row are not significantly different based on Duncan multiple range test at P=0.05.

1000 جزء في المليون بعد يوم واحد من المعاملة والتي بلغت 0.0% فضلاً عن الشاهد الذي لم يحقق أي نسبة موت للحشرة.

يعزى ذلك إلى أن مستخلص الينسون النجمي يحتوي على مركبات كيميائية مثل الانيثول والفينولات والقلويدات وهي مركبات شديدة السمية على الحشرات مثل ricin و agglutinin فضلاً عن saponins و flavonoids و هذه المركبات تؤثر على الجهاز العصبي في الحشرات إذ يخفض من نشاط أنزيم أستيل كولين استريز (AChE) (Rizzo et al., 2020). كما أشار Wang et al. (2021) إلى وجود أربع مواد فعالة رئيسية في بذور الينسون النجمي، وهي: trans-anethole بنسبة 62.60%، estragole بنسبة 23.70%، linalool بنسبة 3.66% و limonene بنسبة 2.15%، ووجدت أنها فعالة جداً في موت كل من بالغات و يرقات خنفساء الحبوب الصدفية (*Cryptolestes ferruginous*).

تقييم تأثير حيوية البكتيريا *B. laterosporus* ضد يرقات الطور الثالث لدودة جوز القطن الشوكية

أظهرت النتائج (جدول 4) عن وجود فروقات معنوية لنسب القتل بين متوسطات التراكيز، حيث أظهر متوسط التركيز 10×1.9 خلية بكتيرية/مل أعلى نسبة موت والتي بلغت 47.50%، يليها التركيز 10×1.9 خلية بكتيرية/مل والتي بلغت 40.00%، بينما أظهر متوسط التركيز 10×1.9 خلية بكتيرية/مل أقل نسبة موت والتي بلغت 22.50%. وأوضحت متوسطات المدد الزمنية بعد 7 أيام من المعاملة أعلى نسبة موت والتي بلغت 45.00%، يليها متوسط المدة الزمنية بعد 5 أيام من المعاملة والتي بلغت 37.00% بينما كانت أقل نسبة موت عند المدة الزمنية ليوم واحد والتي بلغت 7.77%. كما أظهر تداخل التركيز 10×1.9 خلية بكتيرية/مل بعد 7 أيام من المعاملة أعلى نسبة هلاك والتي بلغت 70.00%، يليها التركيز نفسه بعد 5 أيام من المعاملة

قد يرجع ذلك إلى كون المبيد قد أدخل حديثاً ولم تتعرض له بعد أجيال الحشرة ولم تتطور مقاومة ضد فعل هذه المجموعة الكيميائية الجديدة (الأميدات)، فضلاً عن كونه مبيدًا انتخابياً متخصصاً على حشرات رتبة حرشغية الأجنحة وله آلية تأثير جديدة إذ ينشط مستقبلات الريانودين (Ryanodine receptor) في خلايا عضلات الحشرات مما يؤدي إلى تحرير غير منضبط لأيونات الكالسيوم يفضي لاستفادها وبالتالي عدم تقصص العضلة وتوقفها وإحداث شلل عضلي سريع واختلال وظيفي وتوقف اليرقات عن التغذية والشلل الكامل للجسم، وأخيراً الموت. كما أشار Kataria & Singh (2022) في دراسته لمكافحة دودة جوز القطن المرقطة (*E. vitella*) بثلاثة مبيدات حشرية، بينت النتائج أنه بعد 8.7 أيام من المعاملة انخفضت نسبة الإصابة بالحشرة من 14.28 إلى 0.0% للمبيدات أعلاه.

تقييم تأثير مستخلص الينسون النجمي ضد يرقات العمر الثالث لدودة جوز القطن الشوكية

أوضحت النتائج (جدول 3) عن وجود فروقات معنوية لنسب الموت بين متوسطات التراكيز، حيث أظهر متوسط التركيز 5000 جزء في المليون أعلى نسبة موت والتي بلغت 54.16% يليه التركيز 4000 جزء في المليون والتي بلغت 45.83%، بينما كانت أقل نسبة موت عند متوسط التركيز 1000 جزء في المليون والتي بلغت 26.66%. أعطت مدة 7 أيام من المعاملة أعلى نسبة موت والتي بلغت 51.66%، يليها متوسط مدة التعرض 5 أيام والتي بلغت 43.33%، بينما كانت أقل نسبة موت بعد مدة يوم واحد والتي بلغت 10.0%. أما التداخل بين التراكيز والمدد الزمنية فقد أظهر تداخل التركيز 5000 مغ/ل بعد 7 أيام من المعاملة أعلى نسبة موت والتي بلغت 0.008%، يليها نفس التركيز بعد 5 أيام من المعاملة والتي بلغت 70.00% بينما كانت أقل نسبة موت في التركيز

بمستقبلات خاصة في جدران خلايا معدة الحشرة، كما ذكر (Berry, 2012) بأن البكتيريا *B. laterosporus* تعد عاملاً حيوياً فعالاً ضد عدة آفات حشرية تعود إلى رتب حشرية مختلفة، حيث يتم إنتاجها مبيدات حشرية جديدة فعالة ومتوافقة مع البيئة للسيطرة على مجموعة من الآفات الحشرية وناقلات الأمراض وبخاصة البعوض، كما بين الجبوري (2019) أن آلية التأثير السام للبكتيريا *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* عند تغذية الحشرة على الغذاء المعامل بالبكتيريا يؤدي إلى نمو السبورات وتضاعفها داخل القناة الهضمية الوسطى للحشرة المعروفة بالبلورات البيروتينية السامة المؤثرة على بطانة القناة الهضمية ومحدثة تقوب في جدارها مما يؤدي إلى موت اليرقة، فضلاً عن التشوه والانكماش وطول مدة الطور اليرقي وقلة الحركة وعدم التعذر.

والتي بلغت 63.33%، بينما كانت أقل نسبة موت في معاملة التركيز 1.9×10^6 بعد يوم واحد من المعاملة والتي بلغت 0.0%، مقارنة بالشاهد الذي لم يحقق أي نسبة موت للحشرة. يعزى ذلك أن تأثير البكتيريا *B. laterosporus* على الطور الثالث لدودة جوز القطن الشوكية يرجع إلى آلية التأثير السام لهذه البكتيريا والناجمة من السموم الداخلية (Endotoxins) التي تغزو خلايا القناة الهضمية الوسطى وفي النهاية تحلل هذه الخلايا وتنتشر خلال الجدار القاعدي وتملاً التجويف الحشوي لليرقة مؤدية إلى موت اليرقات فضلاً عن التشوهات التي تظهر على الحشرة عند تحولها للطور اللاحق، وهذا يتفق ما جاء به Hassan et al. (2023) أن معاملة يرقات حشرة دودة جوز القطن الشوكية بخلايا البكتيريا *B. laterosporus* قد أعطت نسب موت 66.66%، بينما عند المعاملة بالراشح البكتيري أعطت نسب موت 93.33%، وهذا يعود إلى ميكانيكية التأثير السام لكلٍ من خلايا وسموم هذه البكتيريا والتي ترتبط

جدول 3. تقييم تأثير مستخلص البانسون النجمي (*I. verum*) ضد يرقات العمر الثالث لدودة جوز القطن الشوكية (*E. insulana*).

Table 3. Evaluation of the effect of star anise *I. verum* extract against the third instar larvae of the cotton spiny worm, *E. insulana*.

المتوسط العام للتركيز General mean of concentration	نسبة القتل المنوية المصححة (%) (%) Corrected mortality rate (%) (%)				التركيز (جزء في المليون) Concentration (ppm)
	مدة التعريض (يوم) (يوم) Exposure period (days)				
	7	5	3	1	
26.66 E	50.00 e	36.66 f	20.00 h	0.00 j	1000
31.66 D	53.33 e	40.00 f	26.66 g	6.66 ij	2000
38.33 C	60.00 d	50.00 e	33.33 f	10.00 I	3000
45.83 B	66.66 cd	63.33 cd	36.66 f	16.66 h	4000
54.16 A	80.00 a	70.00 b	40.00 f	26.66 g	5000
	51.66 A	43.33 B	26.11 C	10.00 D	المتوسط العام للمدة الزمنية

General mean for the exposure period

القيم التي يتبعها نفس الأحرف الصغيرة أو الكبيرة في نفس العمود أو الصف لا يوجد بينها فرق معنوي حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.
Values followed by the same small or capital letters in the same column or row are not significantly different based on Duncan multiple range test at P=0.05.

جدول 4. تقييم تأثير حيوية البكتيريا *B. laterosporus* ضد يرقات العمر الثالث لدودة جوز القطن الشوكية (*E. insulana*).

Table 4. Evaluation of the effect of *B. laterosporus* viability against the third instar larvae of the cotton spiny bollworm, *E. insulana*.

المتوسط العام للتركيز General mean of concentration	نسبة القتل المنوية المصححة (%) (%) Corrected mortality rate (%) (%)				التركيز (خلية بكتيرية/مل) Concentration (CFU/ml)
	مدة التعريض (أيام) (أيام) Exposure period (days)				
	7	5	3	1	
22.50 E	43.33 def	30.00 hi	16.66 jkl	0.00 m	1.9×10^6
27.50 D	46.66 cde	36.66 fgh	23.33 ij	3.33 m	1.9×10^7
32.50 C	50.00 c	40.00 efg	30.00 hi	10.00 l	1.9×10^8
40.00 B	60.00 b	53.33 c	33.33 gh	13.33 kl	1.9×10^9
47.50 A	70.00 a	63.33 b	36.66 fgh	20.00 Jk	1.9×10^{10}
	45.00 A	37.00 B	23.33 C	7.77 D	المتوسط العام للمدة الزمنية

General mean for the exposure period

القيم التي يتبعها نفس الأحرف الصغيرة أو الكبيرة في نفس العمود أو الصف لا يوجد بينها فرق معنوي حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.
Values followed by the same small or capital letters in the same column or row are not significantly different based on Duncan's multiple range test at P=0.05.

تقييم تأثير المبيد Coragen مع البكتيريا *B. laterosporus* ضد يرقات العمر الثالث لدودة جوز القطن الشوكية

بينت النتائج (جدول 5) عن وجود فروقات معنوية لنسب هلاك بين متوسطات التراكيز، حيث أظهر متوسط التركيز 300 جزء في المليون أعلى نسبة موت والتي بلغت 65.83%، يليها التركيز 250 جزء في المليون والتي بلغت 55.00%، بينما كانت أقل نسبة موت عند متوسط التركيز 100 جزء في المليون والتي بلغت 37.50%. وأظهرت متوسطات المدد الزمنية بعد 7 أيام من المعاملة أعلى نسبة موت والتي بلغت 59.44%، يليها متوسط المدة الزمنية بعد 5 أيام من المعاملة والتي بلغت 52.22%، بينما كانت أقل نسبة موت عند المدة الزمنية يوم واحد والتي بلغت 18.33%. أما التداخل بين التراكيز والمدد الزمنية فقد أظهر تداخل التركيز 300 جزء في المليون بعد 7 أيام من المعاملة أعلى نسبة موت والتي بلغت 93.33%، يليها التركيز نفسه بعد 5 أيام من المعاملة والتي بلغت 80.00%، بينما كانت أقل نسبة موت عند استخدام التركيز 100 جزء في المليون بعد 1 يوم من المعاملة والتي بلغت 10.0%، مقارنة بمعاملة الشاهد التي لم تحقق أي نسبة موت للحشرة.

يعزى تأثير خليط المبيد Coragen مع البكتيريا *B. laterosporus* إلى حدوث عملية تنشيط وتآزر بين المبيد والبكتيريا مما يؤدي إلى نسبة موت عالية نتيجة ميكانيكية تأثير كل من المبيد والعامل الحيوي البكتيريا ضد يرقات حشرة دودة جوز القطن الشوكية حيث أن المبيد يؤثر على الجهاز العصبي في الحشرة مؤدياً إلى عدم نقل الإشارة العصبية نتيجة ارتباط مادة الكلورانتراينيلبيرول بمستقبل ريانودين كما أن بكتيريا BI تحدث تسمم في معدة الحشرة نتيجة إفرازها للسموم الداخلية، وهذا يتفق مع ما أشار إليه الطائي والملاح (2011) عند دراستهم تأثير خليط من المبيد Runner (منظم النمو للحشرات) وسلالتي البكتيريا *B. thuringiensis* var. *kurstaki* و *B. thuringiensis* var. *alesti* ودورها في زيادة نسبة موت دودة درنات البطاطا/البطاطس (*Phthorinaea operculella*).

تقييم تأثير مستخلص اليانسون النجمي مع البكتيريا *B. laterosporus* ضد يرقات العمر الثالث لدودة جوز القطن الشوكية أظهرت النتائج (جدول 6) عن وجود فروقات معنوية لنسب القتل بين متوسطات التراكيز، حيث أظهر متوسط التركيز 5000 مغ/ليتر أعلى نسبة قتل والتي بلغت 54.16%، يليها التركيز 4000 مغ/ليتر والتي بلغت 45.83%، بينما كانت أقل نسبة قتل عند استخدام متوسط التركيز 1000 مغ/ليتر والتي بلغت 26.66%. كما بينت متوسطات المدد الزمنية بعد 7 أيام من المعاملة أعلى نسبة قتل والتي بلغت 51.66%، يليها متوسط المدة الزمنية بعد 5 أيام من المعاملة والتي بلغت 43.33%، بينما كانت أقل نسبة قتل بعد يوم واحد والتي بلغت 10.00%. أما التداخل بين التراكيز والمدد الزمنية فقد أظهر تداخل التركيز 5000 مغ/ليتر بعد 7 أيام من المعاملة أعلى نسبة قتل بلغت 0.008%، يليها نفس التركيز بعد 5 أيام من المعاملة والتي بلغت 70.00%، بينما كانت أقل نسبة قتل عند استخدام التركيز 1000 مغ/ليتر بعد يوم واحد من المعاملة والتي بلغت 0.0%، مقارنة بمعاملة الشاهد التي لم تحقق أي نسبة قتل للحشرة.

يعزى ذلك لأن تأثير مستخلص اليانسون النجمي مع البكتيريا *B. laterosporus* يعود إلى تنشيط البكتيريا مما يؤدي إلى زيادة في نسب موت يرقات دودة جوز القطن الشوكية نتيجة وجود المركبات الكيميائية في مستخلص اليانسون النجمي مثل الانيثول والفينولات والقلويدات والتي تؤثر على الجهاز العصبي في الحشرة وعلى أنزيم الأسيتل كولين استريز، وبالتالي شلل الحشرة مما يسهل من عملية انتشار البكتيريا وتحرر السموم الداخلية وإحداث السمية بوجود مادة كيميائية مع بلورات بروتينية سامة، وهذا يشابه بما أشار إليه الرفيعي (2018).

جدول 5. تقييم تأثير المبيد Coragen مع البكتيريا *B. laterosporus* ضد يرقات العمر الثالث لدودة جوز القطن الشوكية (*E. insulana*).

Table 5. Evaluation of the effect of Coragen with *B. laterosporus* against the third instar larvae of the cotton spiny worm, *E. insulana*.

المتوسط العام للتركيز General mean of concentration	نسبة القتل المنوية المصححة (%) (%) Corrected mortality rate (%)				التركيز (جزء في المليون) Concentration (ppm)
	مدة التعريض (أيام) Exposure period (days)				
	7	5	3	1	
37.50 E	56.66 fgh	50.00 hij	33.33 mn	10.00 p	100
42.50 D	63.33 def	53.33 hij	40.00 klm	13.33 p	150
48.33 C	66.66 de	60.00 efg	43.33 jkl	23.33 o	200
55.00 B	76.66 Bc	70.00 cd	46.66 ijk	26.66 no	250
65.83 A	93.33 a	80.00 b	53.33 hij	36.66 lm	300
	59.44 A	52.22 B	36.11 C	18.33 D	المتوسط العام للمدة الزمنية
	General mean for the exposure time				

القيم التي يتبعها نفس الأحرف الصغيرة أو الكبيرة في نفس العمود أو الصف لا يوجد بينها فرق معنوي حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%. Values followed by the same small or capital letters in the same column or row are not significantly different based on Duncan multiple range test at P=0.05.

بعد 7 أيام من المعاملة أعلى نسبة هلاك والتي بلغت 100.00%، يليها التركيز 250 جزء في المليون بعد 7 أيام من المعاملة والتي بلغت 90.00%، بينما بلغت نسبة الموت لاستخدام التركيز 100 جزء في المليون بعد يوم واحد من المعاملة 16.66%، مقارنة بالشاهد الذي لم يحقق أي نسبة موت للحشرة.

ويعزى ذلك إلى فعالية خليط كل من المبيد Coragen ومستخلص اليانسون النجمي في زيادة نسبة موت يرقات دودة جوز القطن الشوكية نتيجة تأثير المواد الفعالة الكيميائية الموجودة في كل من المبيد والمستخلص، كما أن مدة التعريض تزيد من نسبة التأثير والهلاك ضد الحشرة المعاملة، ويتفق ذلك مع ما أشار إليه اسماعيل (2017) سابقاً.

تقييم تأثير المبيد Coragen مع مستخلص اليانسون النجمي ضد يرقات العمر الثالث لدودة جوز القطن الشوكية

أشارت النتائج (جدول 7) عن وجود فروقات معنوية لنسب الموت بين متوسطات التراكيز، حيث أظهر متوسط التركيز 300 جزء في المليون أعلى نسبة موت بلغت 72.50%، يليها التركيز 250 جزء في المليون والتي بلغت 64.14%، بينما كانت أقل نسبة موت عند متوسط التركيز 100 جزء في المليون والتي بلغت 46.66%. وأظهرت المدة الزمنية 7 أيام بعد المعاملة أعلى نسبة قتل بلغت 68.33%، يليها متوسط المدة الزمنية بعد 5 أيام من المعاملة والتي بلغت 59.44% بينما كانت أقل نسبة موت بعد المعاملة بيوم واحد والتي بلغت 22.77%. أما التداخل بين التراكيز والمدة الزمنية فقد أظهر تداخل التركيز 300 جزء في المليون

جدول 6. تقييم تأثير مستخلص اليانسون النجمي (*I. verum*) مع البكتيريا *B. laterosporus* ضد يرقات العمر الثالث لدودة جوز القطن الشوكية (*E. insulana*)

Table 6. Evaluation of the effect of star anise extract *I. verum* with *B. laterosporus* against the third instar larvae of the cotton spiny worm, *E. insulana*.

المتوسط العام للتركيز General mean of concentration	نسبة القتل المنوية المصححة (%) (Corrected mortality rate (%))				التركيز (جزء في المليون) Concentration (ppm)
	مدة التعريض (أيام) (Exposure period (days))				
	7	5	3	1	
31.66 D	56.66 Ef	40.00 gh	26.66 ij	3.33 m	1000
35.00 D	60.00 def	43.33 g	30.00 I	6.66 lm	2000
40.83 C	63.33 de	53.33 f	33.33 hi	13.33 kl	3000
50.83 B	76.66 b	66.66 cd	40.00 gh	20.00 jk	4000
58.33 A	86.66 a	73.33 cd	43.33 g	30.00 i	5000
	57.22 A	46.11 B	28.88 C	12.22 D	المتوسط العام للمدة الزمنية
	General mean of the exposure period				

القيم التي يتبعها الأحرف الصغيرة أو الكبيرة نفسها في ذات العمود أو الصف لا يوجد بينها فرق معنوي حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.
Values followed by the same small or capital letters in the same column or row are not significantly different based on Duncan multiple range test at P=0.05.

جدول 7. تقييم تأثير المبيد Coragen مع مستخلص اليانسون النجمي (*I. verum*) ضد يرقات العمر الثالث لدودة جوز القطن الشوكية (*E. insulana*)

Table 7. Evaluation of the bactericidal effect of Coragen with star anise extract, *I. verum* against the third instar larvae of the cotton spiny worm, *E. insulana*.

المتوسط العام للتركيز General mean of concentration	نسبة القتل المنوية المصححة (%) (Corrected mortality rate (%))				التركيز (جزء في المليون) Concentration (ppm)
	مدة التعريض (أيام) (Exposure period (days))				
	7	5	3	1	
46.66 E	70.00 ef	60.00 hi	40.00 i	16.66 n	100
50.00 D	73.33 de	63.33 gh	46.66 jk	20.00 n	150
55.00 C	76.66 cd	66.66 fg	50.00 j	26.66 m	200
64.14 B	90.00 b	80.00 c	56.66 I	30.00 m	250
72.50 A	100.00 a	86.66 b	60.00 hi	43.33 k	300
	68.33 A	59.44 B	42.22 C	22.77 D	المتوسط العام للمدة الزمنية
	General mean of the exposure period				

القيم التي يتبعها نفس الأحرف الصغيرة أو الكبيرة في نفس العمود أو الصف لا يوجد بينها فرق معنوي حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.
Values followed by the same small or capital letters in the same column or row are not significantly different based on Duncan multiple range test at P=0.05.

التركيز 300 جزء في المليون بعد 7 أيام من المعاملة أعلى نسبة قتل بلغت 0.0010%، يليها نفس التركيز بعد 5 أيام من المعاملة والتي بلغت 96.66%، بينما كانت أقل نسبة قتل بتركيز 100 جزء في المليون بعد يوم واحد من المعاملة والتي بلغت 23.33%. مقارنة بمعاملة الشاهد التي لم تحقق أي نسبة قتل للحشرة.

أكدت النتائج أعلاه أن تأثير المبيد Coragen مع بكتيريا BI ومستخلص اليانسون قد أحدث توعية وتنشيط للمبيد في تأثيره السام ضد يرقات العمر الثالث لدودة جوز القطن الشوكية، وهذا يتفق مع ما أشار إليه Wakil et al. (2022).

تقييم تأثير مبيد Coragen وبكتيريا *B. laterosporus* ومستخلص اليانسون النجمي على يرقات العمر الثالث لدودة جوز القطن الشوكية بينت النتائج (جدول 8) عن وجود فروقات معنوية لنسب القتل بين متوسطات التراكيز، حيث أظهر متوسط التركيز 300 جزء في المليون أعلى نسبة قتل بلغت 79.16%، يليها التركيز 250 مغ/ليتر والتي بلغت 73.33%، بينما كانت أقل نسبة قتل عند متوسط التركيز 100 مغ/ليتر والتي بلغت 54.16%. وأظهرت متوسطات المعاملة لمدة 7 أيام أعلى نسبة قتل بلغت 68.33%، يليها التعرض لمدة 5 أيام والتي بلغت 59.44%، بينما كانت أقل نسبة قتل عند التعرض لمدة يوم واحد والتي بلغت 22.77%. أما التداخل بين التراكيز والمدد الزمنية فقد أظهر تداخل

جدول 8. تقييم تأثير المبيد Coragen والبكتيريا *B. laterosporus* مع مستخلص اليانسون النجمي (*I. verum*) ضد يرقات العمر الثالث لدودة جوز القطن الشوكية (*E. insulana*).

Table 8. Evaluation of the effect of Coragen and *B. laterosporus* with star anise, *I. verum* extract against the third instar larvae of the cotton spiny bollworm *E. insulana*.

المتوسط العام للتركيز General mean of concentration	نسبة القتل المنوية المصححة (%) Corrected mortality rate (%)				التركيز (جزء في المليون) Concentration (ppm)
	Exposure period (days) مدة التعرض (أيام)				
	7	5	3	1	
54.16 E	76.66 fgh	66.66 Ij	50.00 kl	23.33 o	100
59.16 D	80.00 efg	73.33 ghi	56.66 kl	26.66 no	150
65.83 C	86.66 cde	83.33 def	60.00 jk	33.33 n	200
73.33 B	93.33 abc	90.00 bcd	66.66 ij	43.33 m	250
79.16 A	100.00 a	96.66 ab	70.00 Hi	50.00 lm	300
	68.33 A	59.44 B	42.22 C	22.77 D	المتوسط العام للمدة الزمنية
	General mean of the exposure period				

القيم التي يتبعها نفس الأحرف الصغيرة أو الكبيرة في نفس العمود أو الصف لا يوجد بينها فرق معنوي حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال 5%.
Values followed by the same small or capital letters in the same column or row are not significantly different based on Duncan multiple range test at P=0.05

Abstract

Atiyha, S.K., S. Khalaf, M.S. Mansor and A.A. Hassan. 2024. Evaluation of the Compatibility of Coragen and Star Anise, *Illicium verum* extract with *Brevibacillus laterosporus* and Their Mixtures against the Larvae of the Cotton Thistle Worm, (*Erias insulana*) Under Laboratory Conditions. Arab Journal of Plant Protection, 42(1): 55-66. <https://doi.org/10.22268/AJPP-001220>

The study was conducted to evaluate the combined effect of Coragen and star anise, *Illicium verum* extract together with *Brevibacillus laterosporus* against the larvae of *Earias insulana* and to diagnose it phenotypically and molecularly. Homology level of 99.86% of the sequences of the gene cytochrome oxidase C (secondary unit 1) of the investigated insect with the sequences of this gene of the insect *E. insulana* isolated from the Philippines and registered under the international number JX303976.1 and the insect was registered in the global gene bank under the global number OP482241.1. Results obtained showed that the combined effect of Coragen and star anise extract *I. verum* with *B. laterosporu* caused a significant increase in the numbers of bacterial colonies, reaching 145.25 and 85.88 bacterial cells/ml when the pesticide was used at the recommended concentration and below the recommended concentration, and 73.91, 66.08, 46.95, 30.43 and 18.26 bacterial cells/ml with star anise extract for concentrations of 5, 4, 3, 2 and 1 ml/L. The interaction of bacteria treatment only at a concentration of 1.9×10^{10} bacterial cells/ml and Coragen at a concentration of 300 ppm and star anise extract at a concentration of 5000 ppm gave the highest mortality rates of 63.33, 70.0 and 80.0%, respectively, five days after treatment. When the same concentrations above were used, the mortality rate seven days after treatment reached 70.0, 90.0 and 80.0%, respectively, whereas no mortality was recorded for the treatment of bacteria and extract at a concentration of 1.9×10^6 and 1000 ppm one day after treatment. The results of the interaction of the pesticide concentration with bacteria and anise extract at a concentration of 300 ppm showed the highest mortality rate of 100%, followed by the interaction of the pesticide with bacteria at 300 ppm, which amounted to 93.33%, whereas the interaction of the mixture of star anise extract with Bacteria at a concentration of 5000 ppm had the lowest mortality rate of 86.66% after seven days of treatment. The results of the study showed that the molecular diagnosis of *E. insulana* gave the highest similarity of 99.83% with the insect strain from Finland. This is the first molecular diagnosis of this insect in Iraq. Results obtained showed that Coragen and star anise extract gave a significant increase in the numbers of *B.*

laterosporus. Whereas insect mortality rate increased following the exposure period of seven days, suggesting a high efficiency of the combined effect of the pesticide and extract with the bacteria towards the control of *E. insulana*, as an important IPM component.

Keywords: *Brevibacillus laterosporus*, Coragen, Star Anise, Plant extract, *Ilicium verum*, Cotton boll spiny worm, *Earias insulana*.

Affiliation of authors: S.K. Atiyha*, S. Khalaf, M.S. Mansor and A.A. Hassan. Ministry of Education, Salah al-Din Education Directorate, and Plant Protection Department, College of Agriculture, Tikrit University, Iraq. *Email of corresponding author: salihkhalaf92@gmail.com

References

المراجع

- الرفيعي، عثمان حسين علي. 2018. استخدام بعض الزيوت النباتية ومبيد Actara و Cruiser وتكاملها في مكافحة حفار ساق الذرة الصفراء *Sesamia cretica* Led. رسالة ماجستير، كلية الزراعة جامعة تكريت. 86 صفحة.
- [Al-Rafii, O.H.A. 2018. Use of some vegetable oils and Actara and Cruiser fungicides and their integration in the control of corn stem borer *Sesamia cretica* Led. Master's thesis, College of Agriculture, University of Tikrit. 86 pp.]
- الطائي، فائز عبد الشهيد ونزار مصطفى الملاح. 2011. التأثير التنشيطي لمخاليط بعض سلالات بكتيريا *Bacillus thuringiensis* وبعض مبيدات الحشرات في دودة درنات البطاطا *Phorimaea operculella* مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية، 9(2):392-403.
- [Al-Taie, F.A. and N.M. Al-Mallah. 2011. The stimulatory effect of mixtures of some strains of *Bacillus thuringiensis* and some insecticides on the potato tuber worm *Phorimaea operculella*. Tikrit University Journal of Agricultural Sciences, 9(2):392-403.]
- عرب، عطية، منال صالح، نرجس العلي، إيمان عكاشة وإبراهيم الجوري. 2018. ديناميكية مجتمع دودة اللوز الشوكية (*Earias insulana* (Boisd) على البامية في محافظة اللاذقية، سورية. ملخصات أبحاث المؤتمر العلمي الثاني عشر للهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دمشق، سورية. الصفحات 135-136.
- [Arab, A., M. Saleh, N. Al-Ali, E. Okasha and I. Al-Jouri. 2018. Community dynamics of the spiny bollworm, *Earias insulana* (Boisd) on Okra in Latakia Governorate, Syria. Research Abstracts of the 12th Scientific Conference of the General Authority for Scientific Agricultural Research, Damascus, Syria. Pages 135-136.]
- Aktar, M.W., D. Sengupta and A. Chowdhury. 2009. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. *Interdisciplinary Toxicology*, 2(1):1-12. <https://doi.org/10.2478%2Fv10102-009-0001-7>
- Berry, C. 2012. The bacterium, *Lysinibacillus sphaericus*, as an insect pathogen. *Journal of Invertebrate Pathology*, 109(1):1-10. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2011.11.008>
- Favret, E.M. and A.A. Yousten. 2011. Insecticidal activity of *Bacillus laterosporus*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 45(2):195-203. [https://doi.org/10.1016/0022-2011\(85\)90009-6](https://doi.org/10.1016/0022-2011(85)90009-6)
- Fernández-Ruvalcaba, M., G. Peña-Chora, A. Romo-Martínez, V. Hernández-Velázquez, A.B. de la Parra and D.P. De La Rosa. 2010. Evaluation of *Bacillus thuringiensis* pathogenicity for a strain of the tick, *Rhipicephalus microplus*, resistant to chemical pesticides. *Journal of Insect Science*, 10:186. <https://doi.org/10.1673/031.010.14146>
- اسماعيل، زهرة خليل. 2017. تأثير بعض المواد الكيميائية والمستخلصات النباتية في فاعلية المبيدات الحيوية Belitherol و Spintor على خنفساء الحبوب الشعرية *Trogoderma granarium* (Everts) Coleoptera ; Dermestidae. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة تكريت. 100 صفحة.
- [Ismail, Z.K. 2017. The effect of some chemicals and plant extracts on the effectiveness of the biocides Belitherol and Spintor on the hairy grain beetle *Trogoderma granarium* (Everts) Coleoptera; Dermestidae. Master's thesis, College of Agriculture, University of Tikrit. 100 pp.]
- البلداوي، مفيد منعم أحمد. 2022. التأثير التوافقي لبعض مواد النشاط السطحي والزيوت النباتية والمستحضرات الكيميائية الحيوية في السيطرة على عثة الشمع الكبرى مختبرياً *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae) L. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة تكريت. 161 صفحة.
- [Al-Baldawi, M.M.A. 2022. Synergistic effect of some surfactants, vegetable oils, and biochemical preparations on the laboratory control of the greater wax moth *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae). Master's thesis, College of Agriculture, University of Tikrit. 161 pp.]
- الجبوري، صالح خلف عطية. 2019. تأثير الأشعة فوق البنفسجية في كفاءة *Bacillus thuringiensis* var *karstaki* لإنتاج مستحضر حيوي لمكافحة حشرتي الدودة القارضة السوداء *Agrotis ipsilon* وعثة التين *Ephesia cautella*. رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة تكريت. 89 صفحة.
- [Al-Jubouri, S.K.A. 2019. The effect of ultraviolet radiation on the efficiency of *Bacillus thuringiensis* var *karstaki* for the production of a biological preparation to control the black cutworm, *Agrotis ipsilon*, and the fig moth, *Ephesia cautella*. Master's thesis, College of Agriculture, University of Tikrit. 89 pp.]
- الجبوري، عبدالرزاق يونس ونزار مصطفى الملاح. 2013. طريقة مبسطة لحساب النسبة المئوية للتنشيط والتأزر والقدرة على استخدام المواد المضافة إلى مبيدات الآفات. مجلة زراعة الرافدين، 41(3):206-218.
- [Al-Jubouri, A. and N.M. Al-Mallah. 2013. A simplified method for calculating the percentage activation, synergism, and potency of pesticide additive use. *Journal of Agriculture Al-Rafidain*, 41 (3):206-218.]
- الراوي، خاشع محمود وعبد العزيز خلف الله. 2000. تصميم وتحليل التجارب الزراعية. الطبعة الثانية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل. 488 صفحة.
- [Al-Rawi, K.M. and A. Khalaf Allah. 2000. Design and analysis of agricultural experiments. Second Edition. Ministry of Higher Education and Scientific Research. Dar Al-Kutub for printing and publishing. University of Al Mosul. 488 pp.]

- Ramaubramanyam, T.** 2004. Magnitude, mechanism and management of pyrethroids resistance in *Helicoverpa armigera* (Hübner) in India. *Journal of Entomology*, 1(1):6-11.
<https://doi.org/10.3923/je.2004.6.11>
- Rizzo, R., G.L. Verde, M. Sinacori, F. Maggi, L. Cappellacci, R. Petrelli and G. Benelli.** 2020. Developing green insecticides to manage olive fruit flies? Ingestion toxicity of four essential oils in protein baits on *Bactrocera oleae*. *Indian Crops Production*, 143:111884.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111884>
- Swamy, H.M., R. Asokan, C.M. Kalleshwaraswamy, Y.G. Prasad, M.S. Maruthi, P.R. Shashank and S.N. Nagesh.** 2018. Prevalence of "R" strain and molecular diversity of fall army worm *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) in India. *Indian Journal of Entomology*, 80(3):544-553.
<http://dx.doi.org/10.5958/0974-8172.2018.00239.0>
- Wakil, W., M. Tahir, M. U. Ghazanfar, M. A. Qayyum, M. Yasin, S. Maqsood, M. Asrar and D. I. Shapiro-Ilan.** 2022. Microbes, *Dodonaea viscosa* and Chlorantraniliprole as Components of *Helicoverpa armigera* IPM Program: a three region open-field study. *Agronomy*, 12(8):1928.
<https://doi.org/10.3390/agronomy12081928>
- Wang, Z., Y. Xie, M. Sabier, T. Zhang, J. Deng, X. Song, Z. Liao, Q. Li, S. Yang, Y. Cao, X. Liu and G. Zhou.** 2021. Trans-anethole is a potent toxic fumigant that partially inhibits rusty grain beetle (*Cryptolestes ferrugineus*) acetylcholinesterase activity. *Industrial Crops and Products*, 161(6):113207.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113207>
- Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz and R. Vrijenhoek,** 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates, *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5):294-299.
- Halawa, S.M.** 2006. Evaluation of some plant extracts to control the pink stem borer *Sesamia cretica* (Led.). *Annals of Agricultural Sciences (Moshtohor)*, 44(4):1931-1946.
- Harborne, J.** 1984. Methods of plant analysis. Pages 1-36. In: *Phytochemical Methods*. J.B. Harborne (ed.), Springer, Dordrecht.
https://doi.org/10.1007/978-94-009-5570-7_1
- Hassan, A.A., M.S. Mansor and S.A. Atia.** 2023. Isolation and identification of endophytic bacteria from Okra plant and evaluation of its efficiency against spiny bollworm *Earias insulana* (Boisd). *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1158(7):072016.
<http://dx.doi.org/10.1088/1755-1315/1158/7/072016>
- Huang, L.Q., Y.C. Niu, L. Su, H. Deng and H. Lyu.** 2020. The potential of endophytic fungi isolated from cucurbit plants for biocontrol of soilborne fungal diseases of cucumber. *Microbiological Research*, 231:126369.
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.126369>
- Kataria, S. K. and G. Singh.** 2022. Efficacy of biorational insecticides against spotted boll worm *Earias* spp. in okra. *Indian Journal of Entomology*, 84(4):840-842.
<http://dx.doi.org/10.55446/IJE.2021.84>

Received: December 16, 2022; Accepted: May 17, 2023

تاريخ الاستلام: 2022/12/16؛ تاريخ الموافقة على النشر: 2023/5/17