تأثير بعض الاحماض في حيوية الفطرين *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. و *Metarhizium anisopliae* وقابليتهما في النمو على وسط الكايتين.

Study the effect of some acids on the viability of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* and their growth ability on chitin agar

حسين مكطوف ديوان ماجد ابراهيم عبدالله بلاسم احمد عباس حسين نعيمة كشمر
وزارة العلوم والتكنلوجيا/ مركز المكافحة المتكاملة للآفات الزراعية
Hussein Magtoff Diwan Majed Ibrahim Abdela Belasim Ahmed Abas
Husein Neayma Keshmer
Ministry of Sciences and Technology

المستخلص

هدفت هذه الدراسة الى اختبار تأثير ثلاثة احماض ؛ Citric acid و Oxalic acid و Boric acid بتركيز 0.05% في حيوية ابواغ الفطرين *Beauveria bassiana* و*Metarhizium anisopliae* تحت الظروف المختبرية خلال ثلاث فترات زمنية من التعرض لها 1،2،3 يوم عند درجة حرارة 27 ± 1م وقابليتهما على النمو القطري في الوسط الزرعي كايتين آكار بعد 5 أيام من الحضن عند درجة حرارة 26 ± 1م. بينت النتائج تفوق معدل حيوية ابواغ الفطر *B. bassina* و *M. anisopliae* في معلق الابواغ المزود Boric acid طيلة فترات العرض الثلاث الذي بلغ 312.3، 209،150.3مستعمرة/مل و 318،294.7،157.7 مستعمرة/ مل على التوالي مقارنة بمعاملة السيطرة وبقية المعلقات البوغية المعاملة بالاحماض الاخرى، كما تفوقت ابواغ الفطر *B. bassiana* و *M. anisopliae* في حيويتها بعد يوم واحد من التعرض الى Citric acid والذي بلغ معدلها 266،293.6 مستعمرة/ مل على التوالي مقارنة بحيويتها في معاملة السيطرة وفترات التعرض الاخرى فيما فقدت الابواغ حيويتها في المعلق البوغي بوجود Oxalic acid. ومن ناحية اخرى تفوق الفطر *B. bassiana* و*M. anisopliae* في معدل نموهما القطري والذي بلغ 1.92 ، 4.4 سم على التوالي في معاملة السيطرة بعد 3 أيام من الحضن عند درجة حرارة 26 + 1 م مقارنة ببقية المعاملات، كما تفوق النمو القطري للفطرين*B. bassiana* و*M. anisopliae* بعد يوم و 3 ايام من التعرض الى Citric acid والذي بلغ معدله 3.12، 1.88سم مقارنة ببقية المعاملات ، فيما لم يظهر اي نمو في الوسط الزرعي كايتين آجار بعد تعرض ابواغ الفطرين الى Oxalic acid .

الكلمات المفتاحية: النمو القطري، المعلق البوغي

Abstract

This study aimed to evaluate the effects of three acids; Citric, Oxalic and Boric acids 0.05% on the viability of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* spores after 1,2, 3 days of exposure 27±1 C° and the growth on chitin agar was obtained after 5 days at 26 ± 1C°.The results showed that the rate of viability of *B. bassiana* and *M. anisopliae* with boric acid was 312.3,209,150.3 colony/ml and 318,294.7,157.5 colony/ml respectively during three period time of in comparison with control and spore suspensions with the other acids. Spores of both fungi *B. bassiana* and *M. anisopliae* showed maximum rate of viability in the suspension supplied with citric acid which were 266 and 293.6 colony/ml, respectively after 1day of exposures to this acid in comparison with viability of control and other periods. Spores viability was lost with oxalic acid. On the other hand, control recorded highest rate of radial growth in the control was 1.92, 4.4 cm on the medium chitin agar after 3 days of incubation in comparison with other treatments. Both fungi showed best rate of radial growth 3.12, 1.88cm after 1and 3 days of exposure to citric acid, respectively in comparison with other treatments. There were no such growths on chitin agar after exposure the oxalic acid.

Key words: Spore growth, Spores viability

المقدمة

استخدم الفطر *Beauveria bassiana* و الفطر *Metarhizium anisopliae* في مكافحة العديد من الآفات الحشرية التي تهدد المحاصيل الزراعية و بسبب انتشارهما عالميا ونجاحهما في مجال المكافحة الاحيائية حضي الفطرين باهتمام عالمي كبير وشاع استعمالهما عالمياعلى شكل مبيدات حيوية[2،3] نافست المبيدات الكيمياوية في الاسواق العالمية بسبب عدم سميتها وصداقتها للبيئة . يعد الفطر *B. bassiana* ذو مدى عائلي واسع فهو يصيب الانواع المختلفة من الحشرات التي تسبب الاضرار الزراعية والاقتصادية [4،5] وقدر عدد الانواع الحشرية التي يصيبها هذا الفطر اكثر من 200 نوع اغلبها يعود الى رتبة غمدية الاجنحة وحرشفية الاجنحة [1]، كما يصيب الفطر *M. anisopliae* اكثر من 200 نوع من الآفات الحشرية ذات الضرر الزراعي والاقتصادي [3،6] وتعد بعض العزلات منه متخصصة في التطفل على الجراد grasshoppers [7،8] استخدمت في دراسات سابقة العد يد من الاحماض كمصادر كاربونية لنمو الفطر *Metarhizium anisopliae* [9] ويختلف تاثير الاحماض في تبوغ الفطر *M. anisopliae* حسب نوع الحامض فقد يكون الحامض ذو تاثير سلبي كما هو الحال في حامض ال - acetic citric او ذو تاثيرايجابي كما هو الحال في الحامض

اللاعضوي boric acid [10،11]. استعمل citric acid و oxalic acid كمواد كيمياوية مضافة الى الفطرين *M. anisopliae* و *B. bassiana* مما ادى الى زيادة كفاءتيهما في مكافحة الدور اليرقي الاول لحشرة Phthorimaea operculell [12]، كما استعمل oxalic acid الذي يفرزه الفطر *B. bassiana* لوحده في مكافحة انواع القراد *Ambylomma maculatum* و *Ixodes scapularis* الذي يصيب المواشي اذ بين [13] ان معاملة القراد بالـ oxalate عند الدالة الهايدروجينية 4 ادى الى موت 80% من بالغاتها في غضون 14 يوم من المعاملة فيما بلغت نسبة الموت اقل من 10% بعد 28 يوم من معاملتها بحامض الـcitric عند الدالة الهايدروجينية نفسها. يعد حامض الـ Boric من الاحماض التي استخدمت كمبيدات ضد بعض الآفات الحشرية اذ استخدم ضد النمل والصرصر الامريكي وغيرها من الآفات الحشرية [14]، كما وجد [15] ان التوليف بين Boric acid مع الفطر *M. anisopliae* زاد من كفاءة الفطر في قتل الصرصر الالماني *Blatella germanica* . بين [11] ان الوقت اللازم لموت 50% من النمل الاحمرالاوربي *Myrmica rubra* L. يزداد بانخفاض تركيز حامض الـ Boric المستعمل كطعوم لهذا النوع من الحشرات حيث بلغ معدل الـ LT50 =1.8 يوم و 118.8 يوم بعد معاملة النمل بالتراكيز المستعملة 5 % و 0.1 % على التوالي. تنطلق اهمية هذه الدراسة من كون بعض الاحماض استخدمت في مكافحة بعض الآفات الحشرية وانها اكثر امانا من المبيدات الكيمياوية وان اختبار تاثير تلك الاحماض في حيوية الفطرين *M. anisopliae* و *B. bassiana* جاءت من منظور امكانية عمل هذين الفطرين بصورة تآزرية مع تلك الاحماض كاحد اساليب المكافحة المتكاملة كماهدفت هذه الدراسة الى اختبار تاثير تلك الاحماض في قابلية هذين الفطرين على استخدام الكايتين كمصدر كاربوني وحيد ضمن وسط زرعي صلب من خلال حساب النمو القطري لهما حيث يعد الاختلاف في قطر المستعمرات المتكونة على الوسط الزرعي وفق المعاملات مؤشرا اوليا على الاختلاف في مستوى الضراوة للفطرين .

هدفت هذه الدراسة الى زيادة كفاءة الفطرين *M. anisopliae* و *B. bassiana* في المكافحة الحيوية للحشرات باستخدام بعض الاحماض العضوية المتمثلة بـ citric acid و oxalic acid والحامض اللاعضوي المتمثل بالـ Boric acid.

المواد وطرائق العمل

الفطرين *Beauveria bassiana* و *Metarhizium anisopliae* وتحضير لقاحهما الفطري

استخدم في هذه الدراسة عزلة محلية من الفطر *B. bassiana* (3x) وهي معزولة من التربة وعزلة من الفطر *M. anisopliae* (Met-Egyp) التي تم الحصول عليها من وزارة الزراعة.

بعد تشخيص العزلتين للفطرين تحت المجهر الضوئي المركب عند قوة تكبير 40x وبالاستعانة بالمفاتيح التصنيفية الخاصة بتشخيص الفطريات الناقصة تم اكثارهما على شكل مستعمرات فطرية في اطباق بتري مزودة بالوسط الزرعي اجار دكستروز مستخلص البطاطا بعد حضنها لفترة 10 ايام عند 27 ± 1م° ومن ثم حفظت هذه الاطباق في الثلاجة لغرض استخدامها مستقبلا . استخدمت في هذه الدراسة اقراص فطرية للعزلتين قطر كل قرص 5ملم ماخوذة من المستعمرات الفطرية المحفوظة في الثلاجة باستعمال ثاقب فلين معقم .

تاثير الاحماض في حيوية الفطرين *B. bassiana* و *M. anisopliae*

ولاختبار تاثير الاحماض الاوكزاليك و الستريك والبوريك في حيوية الفطرين *B. bassiana* و *M. anisopliae* تم تحضير ثلاثة محاليل منها بتركيز 0.05 % وعلى التوالي وهي OS و CS و BS وذلك باضافة 0.5 غم من كل حامض الى 1000 مل من الماء المقطر.

وزعت المحاليل الحامضية بعد مزجها جيدا في قناني زجاجية بمعدل 50 مل/ قنينة وبواقع ثلاث قناني (مكررات)/معاملة كما استخدم الماء المقطر المعقم كمعاملة سيطرة . عقمت القناني في جهاز الموصدة لفترة ربع ساعة عند ضغط 1 بار ودرجة حرارة 121م. وبعد تبريد القناني الزجاجية في ظروف المختبر، اضيف لكل قنينة 5 اقراص من اللقاح الفطري/عزلة ماخوذة من الاطباق التي تحتوي على المستعمرات للفطرين *B. bassiana* و *M. anisopliae*. تركت القناني الزجاجية بعد معاملتها بالفطرين في الحاضنة عند درجة حرارة 27 ±1 م ولفترة (1،2،3) ايام، ومن ثم تم حسا ب الحيوية لابواغ الفطرين بعد كل فترة من الحضن وفق الطريقة Plate Technique الموصوفة في [16] والتي تضمنت حساب عدد المستعمرات المتكونة /مل على سطح كل طبق 9 سم يحتوي على وسط زرعي معين وتلخصت هذه الطريقة بترشيح المزارع الفطرية بعد كل فترة من الحضن / مكرر/ معاملة عبر ورق الترشيح المعقم وجمع راشح كل مزرعة فطرية/ مكرر في قناني زجاجية معقمة حجم 20 مل ومن ثم حسب معدل عدد الابواغ لكل راشح باستعمال شريحة عد الابواغ الخاصة والمجهر الضوئي المركب وضبط تركيز عدد الابواغ بطريقة التخفيف بالماء المقطر المعقم عند تركيز 4.6 × 10^3بوغ/مل. حضرت عدد من اطباق بتري التي تحتوي على الوسط الزرعي PDA ومن ثم اضيف 0.5 مل من كل معلق الى سطح كل طبق وتم نشر الكمية بعد توزيعها على شكل قطرات على مساحة سطح كل طبق وتحريكه على ارضية جهاز اللايمينرعموديا وافقيا ليتم تلاحم القطرات فيما بينها . استخدم طبق واحد لكل مكرر (قنينة زجاجية)/معاملة. وبعد حضن الاطباق المعاملة باللقاح الفطري في الحاضنة عند درجة حرارة 26 ±1 م ولفترة خمسة تم حساب عدد المستعمرات المتكونة.

تأثير الاحماض على قابلية الفطرين *B. bassiana* و *M. anisopliae* في استخدام الكايتين.

لغرض اختبار تاثير الاحماض على قابلية عزلتي الفطر *B. bassiana* و*M. anisopliae* في استخدام الكايتين ، حضر الوسط الزرعي الكار الكايتين وفق الطريقة الموصوفة في[17]، اذ تم تعقيم الوسط الزرعي في جهاز الموصدة لفترة ربع ساعة عند ضغط 1 بار عند درجة حرارة 121م ومن ثم صب الوسط بعد تبريده في اطباق بتري معقمة 5سم تحت ظروف معقمة وتوكت الاطباق ليتصلب الوسط الزرعي. قسمت الاطباق الى 36 مجموعة حيث كل مجموعة تحتوي على ثلاث اطباق ثلاث مكررات / معاملة. لوثت الاطباق من المركز باقراص من ورق ترشيح معقمة قطر القرص 0.5سم بعد ان غمست في معلقات الابواغ حسب كل معاملة وتنشيفها على اوراق ترشيح معقمة موضوعة في داخل اطباق . حضنت الاطباق بعد تلويثها عند درجة حرارة 26 ±1 م وتم قياس النمو القطري لكل طبق / معاملة بعد سبعة ايام من الحضن واستخرج معدل النمو القطري لثلاث مكررات/معاملة.

التحليل الاحصائي

تم تحليل النتائج احصائيا وفق برنامج Gen stat الجاهز عند مستوى احتمالية P=0.05.

النتائج

بينت النتائج في جدول (1) ان ابواغ الفطر *B. bassiana* قد تفوقت بصورة معنوية P=0.05 في معدل حيويتها بعد يوم واحد من تعرضها لحامض البوريك والذي بلغ 312.3 مستعمرة/مل مقارنة بمعاملة السيطرة الذي بلغ فيها معدل الحيوية 241.7 مستعمرة/مل وبصورة غير معنوية مع حيوية الابواغ في المعلق البوغي الذي يحتوي على حامض الستريك والذي بلغ فيه معدل الحيوية 266مستعمرة/مل. كما بينت النتائج تفوق معدل حيوية الابواغ بصورة معنوية P=0.05 في كافة المعاملات في اليوم الاول من التعرض للاحماض مقارنة بمعدل حيويتها بعد 3،2 يوم من التعرض. كما سجلت ابواغ الفطر اعلى معدل من الحيوية بعد 3،2 يوم من تعرضها الى حامض البوريك والذي بلغ 209 و 150 مستعمرة/مل على التوالي مقارنة بالمعاملات الاخرى في الفترات نفسها.

جدول(1): حيوية ابواغ الفطرين *B. bassiana* و*M. anisopliae* بعد ثلاث فترات زمنية من التعرض لثلاث احماض عند درجة حرارة المختبر27±1م

*** عدد المستعمرات المتكونة للفطر *B. bassiana* على الوسط الزرعي PDA**

****عدد المستعمرات المتكونة للفطر *M. anisopliae* على الوسط الزرعي PDA**

المعاملات	فترة التعرض (يوم)						L.S.D(p= 0.05) لفترات التعرض	
	1		2		3			
Control	*241.7	**289	*138.0	**242.7	*109.3	**137	*61.8	**59.9
Citric acid	*266.0	**293.7	*69.7	**262.7	*36.3	**94.7	*58.3	**36.73
Boric acid	*312.3	**318	*209.0	**294.3	*150.3	**157.7	*37.14	**33.78
Oxalic acid	*0.0	**0.0	*0.0	**0.0	*0.0	**0.0	*0.0	**0.0
L.S.D(p=0.05) بين المعاملات	*64.53	**48.37	*34.01	**40.27	*20.24	**9.35		

كما بينت النتائج في جدول (1) تفوق ابواغ الفطر *M. anisopliae* في معدل حيويتها بعد يوم واحد من تعرضها الى حامض البوريك والذي بلغ 318 مستعمرة/مل مقارنة بمعدل حيويتها في معاملة السيطرة ومعاملة تواجد حامض الستريك الذي بلغ 289 و 293.7 مستعمرة/مل على التوالي . كما بينت النتائج تفوق حيوية ابواغ الفطر بصورة معنوية (P=0.05) بعد يومين من تعرضها لحامض البوريك الذي بلغ معدلها 294.7 مستعمرة/مل مقارنة بحيويتها في معاملة السيطرة التي بلغ معدلها 242.7 مستعمرة/مل، كما اظهرت النتائج تفوق الابواغ المعنوي (P=0.05) في معدل حيويتها بعد ثلاثة ايام من تعرضها لحامض البوريك والذي بلغ 157.7 مستعمرة/مل مقارنة بحيويتها في معاملة السيطرة ومعاملة تواجد حامض الستريك والذي بلغ فيهما معدل الحيوية 137 و 94.7 مستعمرة/مل على التوالي ، فيما لم تظهر مستعمرات للفطر *M. anisopliae* بتواجد حامض الاوكزاليك.

ومن ناحية اخرى بينت النتائج في جدول (2) تفوق الفطر *B. bassiana* في معدل نموه القطري 1.72سم على الوسط الزرعي كايتين الكار في معاملة حامض الستريك بعد يوم واحد من التعرض للحامض مقارنة بمعاملة السيطرة ومعاملة حامض البوريك الذي بلغ معدل نموهما القطري 1.63 و 1.68سم على التوالي.

جدول (2): تاثير الاحماض في النمو القطري للفطرين *B. bassiana* و*M. anisopliae* على الوسط الزرعي اجار الكايتين بعد ثلاث فترات زمنية من التعرض لتلك الاحماض عند درجة حرارة المختبر 27±1

المعاملات	فترة التعرض (يوم)						L.S.D(p= 0.05) لفترات التعرض	
	1		2		3			
Control	*1.63 C	**1.583	*1.45	**1.933	*1.92	**4.433	*0.1698	**0.129
Citric acid	*1.72	**3.12	*1.62	**1.58	*1.883	**1.63	*0.4721	**1.149
Boric acid	*1.68	**1.75	*1.68	**1.65	*1.683	**1.68	*0.2514	**0.1846
Oxalic acid	*0.0	**0.0	*0.0	**0.0	*0.0	**0.0	*0.0	**0.0
L.S.D(p=0.0) بين المعاملات	*0.1331	**0.932	*0.325	**0.1121	*0.294	**0.294		

*** عدد المستعمرات المتكونة للفطر *B. bassiana* على الوسط الزرعي PDA**

****عدد المستعمرات المتكونة للفطر *M. anisopliae* على الوسط الزرعي PDA**

كما بينت النتائج في جدول(2) تفوق معدل النمو القطري 1.67 سم في معاملة حامض البوريك بعد 2 يوم من التعرض للحامض مقارنة بمعاملة السيطرة ومعاملة حامض الستريك الذي بلغ فيهما معدل نموهما القطري 1.45، 1.62سم على التوالي . تفوق الفطر في معدل نموه القطري في معاملة السيطرة الذي بلغ 1.92 سم مقارنة بمعاملة حامض الستريك وحامض البوريك الذي بلغ فيهما معدل النمو القطري1.88، 1.68سم على التوالي بعد 3 ايام من التعرض للحامضين ، كما بينت النتائج عدم حصول اي نمو فطري للفطر *B. bassiana* في معاملة حامض الاوكزاليك. بالاضافة الى ذلك بينت النتائج ايضا ان الفطر *M. anisopliae* قد تفوق معنويا P=0.05 في نموه على الوسط الزرعي كايتين اكار في معاملة حامض الستريك بعد يوم واحد من التعرض له حيث بلغ معدل نموه القطري 3.12 سم مقارنة بمعاملة السيطرة ومعاملة حامض البوريك الذي بلغ بـتاثيرهما معدل النمو القطري 1.58، 1.75 سم على التوالي. فيما اظهر الفطر تفوقه المعنوي P=0.05 في معدل نموه في معاملة السيطرة الذي بلغ معدله 1.93و4.43 سم مقارنة بمعاملة حامض الستريك

وحامض البوريك الذي اظهر فيه الفطر نموا قطريا بلغ معدله 1.58،1.65،1.63،1.68سم بعد 2 و3 ايام من التعرض وعلى التوالي، كما بينت النتائج عدم حصول اي نمو فطري للفطر في معاملة حامض الاوكزاليك.

المناقشة

بصورة عامة على الرغم مما اظهرته النتائج في جدول (1) من حالة التفوق في معدل حيوية ابواغ الفطر *B. bassiana* بعد يوم واحد من تعرضها لحامض الستريك وحامض البوريك كلا على حدة مقارنة بمعاملة السيطرة غير انه كان هنالك انخفاض في معدل حيوية تلك الابواغ بعد يومان وثلاثة ايام من التعرض لهذين الحامضين بل ان النتائج لم تظهر مايشير الى وجود حيوية لها بعد تعرضها لحامض الاوكزاليك حتى بعد يوم واحد من التعرض له والذي ربما تعكس تاثيره السام عليها. كما بينت النتائج ان ابواغ الفطر كانت اكثر حساسية لحامض الستريك الذي سبب انخفاضا معنويا P=0.05 في حيويتها بعد 2 و3 يوم من تعرضها للحامض والذي بلغ معدلها 69.7 و36.3 مستعمرة/مل على التوالي مقارنة بحامض البوريك ومعاملة السيطرة التي بلغت فيهما حيوية الابواغ معدل 209 و 150.3 مستعمرة/مل و 138 و 109.3 مستعمرة/ مل وعلى التوالي حيث يعتبر حامض الستريك واحدا من الاحماض العضوية الضعيفة acidulants الذي له مستوى معين من التضادية للمايكروبات[18]. على الرغم من ادخال تلك الحوامض كمواد مضافة في معلقات الابواغ بنسبة 0.05% غير انها كانت سببا في تباين معدل حيوية الابواغ بمرور الوقت من التعرض وقد يعود السبب في ذلك الى الاختلاف في طبيعة الاحماض او نوعها مما يؤثر في مستوى الدالة الهايدروجينية لكل معلق وبا لتالي تاثيره سلبا او ايجابا في الحالة الفسلجية للابواغ اي ان الفترة الاولى من التعرض لحامضي الستريك والبوريك كانت ذا فائدة اكبر في المحافظة على حيوية الابواغ مقارنة بمعاملة السيطرة ومن ثم نموهذه الابواغ وظهورها على شكل مستعمرات فطرية وتكررت هذه الحالة في ت جربة تعريض الفطر *M. anisopliae* الى تلك الاحماض كما موضح في جدول (2) حيث تفوقت الابواغ في حيويتها بعد يوم واحد من من التعرض لحامضي الستريك والبوريك بالاضافة الى حيويتها في معاملة السيطرة مقارنة بحيويتها في باقي الفترات ومعاملة حامض الاوكزاليك الذي كان تاثير ه ساما على ابواغ الفطر والذي تسبب في موتها ، ففي دراسة لبيان تاثير بعض المواد الكاربوهيدراتية في بعض معايير نمو الفطر *M. anisopliae* بين [10] في نتائجهما ان الاحماض العضوية ؛ الستريك والماليك والاسيتيك سببوا انخفاضا في معدل انتاجه للابواغ فيما بين [19] خلال دراستهم لتاثير ثلاثة مخصبات حيوية E.M.-4و Multibion وSupermagro في بعض معايير نمو الفطر *B. bassiana* و *M. anisopliae* ان سبب خفض معدل الانبات لابواغ الفطر *M. anisopliae* من65.4% الى 37.74% بعد معاملتها بالمخصب الحيوي Multibion يعود بالدرجة الاساس الى وجود الاحماض العضوية الاسيتيك و البروبونيك و البيوتريك و الماليك و السكسانيك و التارتاريك في تركيبة هذا المخصب الحيوي كما بينت النتائج تفوق ابواغ الفطر *M. anisopliae* على ابواغ الفطر *B. bassiana* في مستوى حيويتها تحت تاثير حامض الستر يك والبوريك ومعاملة السيطرة خلال فترات التعرض الثلاث وقد يعود السبب في ذلك الى تاثر ابواغ الفطر *M. anisopliae* بصورة افضل بالدالة الهايدروجينية الناتجة من وجود هذين الحامضين في المعلقات البوغية حيث ان لكل فطر دالة هايدروجينية مثالية خاصة به [18] او ربما يعود السبب في ذلك الى تميز ابواغ هذا الفطر بقدرة اعلى في التطبع مع هذين الحامضين او المواد الثانوية الناتجة من النشاطات الايضية لتلك الابواغ خلال انباتها ونموها طيلة فترات تعرضها للحامضين وعادة مايكون لذلك علاقة وطيدة بجنس الفطر ونوعه . اما فيما يخص النمو الخ ضري للفطر *B. bassiana* فقد اشارت النتائج في جدول (3) الى وجود تباين في معدل نموه القطري على الوسط الزرعي كايتين اكار بسبب الاختلاف في مستوى تاثر ابواغه بالاحماض المختلفة وقد بينت النتائج ان افضل نمو امكن الفطر *B. bassiana* تسجيله على الوسط الزرعي كايتين اكار كان بعد استعمال معلق الابواغ الماخوذ من معاملة السيطرة بعد ثلاثة ايام من الحضن والذي بلغ معدله 1.92سم كما جاء بالدرجة الثانية النمو القطري بعد استعمال معلق الابواغ في معاملة حامض الستريك بعد 3 ايام من التعرض له والذي بلغ معدله 1.88سم اما فيما يخص اليوم من التعرض فقد ابدى الفطر افضل نمو له في المعاملة التي تحتوي على حامض البوريك مقارنة بمعاملة السيطرة ومعاملة حامض الستريك والذي بلغ معدله 1.67سم فيما لم يظهر الفطر اي نمو باستعمال الابواغ الماخوذة من معاملة حامض الاوكزاليك بصورة عامة ابدت الاحماض تاثيرها السلبي في معدل النمو القطري للفطر *B. bassiana* والذي يعكس مدى تعرض الابواغ الى الاجهاد الفسلجي الذي لربما له علاقة بتداخل او بتقاطع تلك الاحماض وبدرجات متفاوتة مع المسارات الحيوية الخاصة بانبات الابواغ وانتاج انزيم الكايتينيز ذو الاهمية في تحليل مادة الكايتين ، وقد توافقت هذه النتائج مع ماتوصل اليه [10]، اذ بينا خلال دراستهما ان حامض الاوكزاليك و السوربيك و التارترك قد منعوا تكون المستعمرات الفطرية للفطر *M. anisopliae* فيما انخفض معدل النمو الخضري للفطر بوجود حامض الاسيتيك و الستريك والماليك. نستنتج من الدراسة عدم جدوى استعمال حامض الستريك والبوريك بعد 2 او 3 ايام من التعرض لها في عملية الرش لمكافحة الآفات الحشرية بعد استعمالها لوحدها كمواد مضافة في معلقات الابواغ للفطر *B. bassiana* و *M. anisopliae* مقارنة باستعمال المعلقات البوغية الخالية من تلك الاحماض وان حامض الستريك بعد يوم واحد من تعرض الابواغ اليه هو الافضل من حيث تاثيره في النمو القطري للفطرين مقارنة بمعاملة السيطرة وحامض البوريك فيما يعد حامض الاوكزاليك سام للفطرين.

الاستنتاجات والتوصيات

1- نستنتج من الدراسة ان لحامضي الستريك والبوريك تاثيرا ايجابيا في حيوية ابواغ الفطرين *Beauveria bassiana* و *Metarhizium bassiana* بعد يوم واحد من تعرضها اليهما تحت ظروف المختبر وان كان استعمالهما على شكل مواد مضافة 0.05 % وان تاثيريهما يكون سلبيا على حيوية الا بواغ بعد يومان وثلاثة ايام من التعرض اليهما، فيما كان حامض الاوكزاليك ذو تاثير سام لابواغ الفطرين عند نفس التركيز والظروف المختبرية.

2- يؤثر حامض الستريك بشكل ايجابي في كفاءة الفطرين *B. bassiana* و *M. bassiana* على تحليل الكايتين بعد يوم واحد من تعرض الابواغ اليه تحت ظروف المختبر، في حين لايوجد اي نمو فطري بعد استعمال الابواغ المعاملة بحامض الاوكزاليك كلقاح فطري وخلال كل فترات التعرض اليه.

استنادا الى النتائج التي اظهرت تفوق الفطرين *B. bassiana* و *M. bassiana* في النمو القطري على الوسط الكار كايتين مقارنة ببقية المعاملات نوصي باستعمال حامض الستريك كمادة مضافة لتحضير المعلقات البوغية للفطرين واستعمالها بعد يوم واحد من الحضن تحت ظروف المختبر لمكافحة بعض الآفات الحشرية المستهدفة في الحقل ، كما نوصي بعدم استعمال حامض Oxalic كمادة مضافة 0.05% مع ابواغ الفطرين *B. bassiana* و *M. anisopliae*.

المصادر

1. حنونيك، سليم بولص، محمد سعيد الجارحي، منصور ابراهيم منصور، سعيد البغام، علي شاميه، صلاح عبدالله وسعيد العواش. 2000. استخدام الفطر الممرض للحشرات *Beauveria bassiana* كعنصر هام في الادارة المتكاملة لحشرة سوسة النخيل الحمراء في الحقل. مجلة الزراعة والتنمية في الوطن العربي.1:37 – 44.
2. Ellie, G. and O. Maine. (2001). Using *Beauveria bassiana* for insect management. United State epartment of Agriculture. Agricultural Research Service. pp. 94-97.
3. Bidochka, M J., Small C L N. and. Spironello, M. (2005). Recombination within sympatric cryptic pecies of the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. Environmental Microbiology. 7: 1361–1368.
4. Coates, BS., Hellmich, RL. and Lewis, LC. (2002). Allelic variation of a *Beauveria bassiana* (Ascomycotina: Hyphpocreales) minisatellite is independent of host range and geographic origin. Genome. 45: 125-132.
5. Reddy, NP., Akbar Pathan, A., Khan, Uma Devi Koduru, S.Victor John and Hari, C. Sharma. (2008). Assessment of the suitability of Tinopal as an enhancing adjuvant in formulations of the insect pathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals) Vuillemin. J. Pest Management Science. 3:15-19.
6. Hajek, AE., and St. Leger, RJ. (1994). Interactions between fungal pathogens and insect hosts. Ann Rev Entomol. 39**:** 293–322.
7. Bridge, PD., Prior, C., Sagbohan, J., Lomer, CJ., Carey, M., and Buddie, A. (1997). Molecular characterization of isolates of *Metarhizium* from locusts and grasshoppers. *Biodivers Conserv.* 6**:** 177–189.
8. Milner, RJ., Lozano, LB., Driver, F., and Hunter, D. (2003).A comparative study of two Mexican isolates with an Australian isolate of *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* – strain characterisation, temperature profile and virulence for wingless grasshopper, *Phaulacridium vittatum*. Biocontrol. 48**:** 335–348.
9. Ratha, C., CARR, CJ.and Graham, BR.(1995). Characterization of *Metarhizium anisopliae* strains bycarbohydrate utilization (AP150CH). Journal of Invertebrate Pathology. 65: 152-161.
10. Li, DP. and Holdom, DG. (1995). Effects of nutrients on colony formation, growth, and sporulation of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina, Hyphomycetes). J. Invertebr. Pathol. 65: 253-260.
11. Yan, S. (2005). Pathogenic fungi, boric acid, and their potential synergism for control of the European fire ant, *Myrmica rubra* (L.). A thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science (in Entomology). The University of Maine.
12. Sabbour, MM. (2002). The role of enhancing additive in the efficacy of *Beauveria bassiana* and *metarhizium anisopliae* against the potato tuber moth *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). Pakis. J. Bio.Sci. 5:1155-1159.
13. Kirkland, BH., Eisa, AN. and Keyhani, NO. (2005). Oxalic acid as a fungal acaracidal virulence factor. J Med Entomol. 42:346-351.
14. Bonnefoy, X., Kampey, H. and Sweeney, K. (2008). Public Health Significance of Urban Pests: World Health Organization. Pp.292.
15. Zurek, L., Watson, D W. and Schal, C. (2002). Synergism between *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) and boric acid against the Germancockroach (Dictyoptera: Blattellidae). Biolo. Cont. 23: 296 - 302.
16. Lacey, A L. (1997). Manual of techniques in insect pathology. Academic press, New York. Pp.410.
17. Godoy, G., Rodrigues – Kabana, R. and Morgan – Jones, G. (1982). Parasitism of eggs of Heterodera glycines and Meloidgyne arenaria by fungi isolated from cysts of H. glycins. Nematropica. 12: 111 – 119.
18. Chitarra, G. S. (2003). Germination inhibitors of fungal spores: identification and mode of action. Proefschrift Ter verkrijging van de graad van doctor op gezag van de rector magnificus van Wageningen Universiteit, Prof. Dr. ir. L. Speelman, in het openbaar te verdedigen op dinsdag 28 des namiddags te vier uur in de Aula.

19. Hirose, E., Neves, P M., Martins, ZH., Peralta1, J A., and Alcides, M J. (2001). Effect of Biofertilizers and Neem Oil on the Entomopathogenic Fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. Biol. & Int. Techn. J. 44: 419-423.