DOI: https://doi.org/10.54172/mjsc.v1i1.441

حساسية جراثيم بكتيريا البسيلوس ثارينجينسيس Bacillus thuringiensis Berliner ميكروب يرقات البعوض لجرعات مختلفة من المبيدات الحشرية

عبد الله ابراهيم محمد (1)

صالح حمد بعيو (2)

الملخص

لقد تمت دراسة تأثير الجرعات المختلفة لكل من 5 من المبيدات الحشرية المستخدمة فى مكافحة يرقات البعوض على جراثيم Spores بكتريا Bacillus thuringiensis Berliner فى وسط غذائى صناعى لنمو هذه الجراثيم.

وقد دلت هذه الدراسة على أن الديفلوبنزيرون (Diflubenzeron) وهو مبيد حشرى ذو فعالية؛ لمنع تكوين الكيتين أثناء الانسلاخ فى اليرقات. أقل تأثير على نمو هذه الجراثيم. بينما كان كل من الميثوبرين (Methoprene) وهو مبيد حشرى مانع للانسلاخ، والسيروميازين (Cyromazine) وهو مبيد حشرى يميل الى التأثير على الانسلاخ والأبيت (Abate)، وهو مبيد حشرى فوسفورى لها تأثيرات متوسطة على نمو الجراثيم، ويتوقف ذلك على الجرعة المستخدمة. أما أكثر هذه المبيدات فعالية للحد من نمو الجراثيم فهو مبيد البيسجارد (Pesguard) وهو مركب من النيوبينامين والسوميثرين وهما من البيروثريدات مضافا اليها البيبرونيل بيوتاكسيد كمادة تعاون (Synergism). وقد اتضح أن هذا المركب قد كبح إنبات ونمو الجراثيم حتى عند الجرعة (0.01) جزء فى المليون. إن أهمية مثل هذه الدراسات لتحديد نوع التفاعل بين المبيدات الحيوية كالبكتريا والمبيدات الكيمائية تعتبر ضرورية لتجنب التأثيرات السلبية وبالتالى الى التوسع فى إدخال المبيدات الحيوية فى برنامج مكافحة الآفات نظرا لنتائجها السليمة على البيئة.

المقدمة

إن التأثيرات على البيئة نتيجة الاستخدامات المتزايدة للمبيدات الكيميائية فى السنوات الأخيرة؛ من أجل مكافحة عديد من الآفات الضارة كالحشرات والفطريات والأعشاب والقوارض، قد استدعت الاحتياج الى مبيدات أكثر ملاءمة بيئيا لبرنامج المكافحة المتكاملة للآفات الحشرية (IPM). ومن أهم الاتجاهات للتقليل من هذه التأثيرات هو استخدام المبيدات الكيميائية مع كائنات أو مبيدات حيوية فى مجال المكافحة فى برنامج تكاملى متوافق.

إن هذه الكائنات النافعة والمنتشرة طبيعيا يمكن استخدامها مباشرة كعناصر مكافحة، كما

(1) قسم علم الحيوان / كلية العلوم / جامعة قاريونس.

(2) قسم النبات / كلية العلوم / جامعة قاريونس.

© للمؤلف (المؤلفون)، يخضع هذا المقال لسياسة الوصول المفتوح ويتم توزيعه بموجب شروط ترخيص إسناد المشاع الإبداعي CC BY-NC 4.0

يمكن إدخالها الى بيئات الآفات الضارة حيث تحدث أمراضاً متفاوتة الحدة وتجعل عوائلها أكثر حساسية للمبيدات الكيميائية.

إن المبيدات الميكروبية يجرى تطويرها واستخدامها فى مجال مكافحة الحشرات والآفات الآخرى. وفى هذه الأنظمة نفسها يجرى استخدام المبيدات عن كائن حي أو أحد مشتقاته مع مبيد كيميائى، سواء أكان ذلك نتيجة تطبيقاتهما معا أم كل على حدة. وعليه «فإن هناك احتمالاً كبيراً فى تأثير المبيد الكيميائي على المبيد الميكروبى؛ مما قد يؤدى الى الحد من نشاطه. وعليه» فإن خلط المبيدات الكيميائية والمبيدات الميكروبية يحتاج الى دراسات وتجارب معملية وحقلية دقيقة من أجل التأكد من صلاحية خلطهما وإعطاء نتائج مرضية وغير سلبية.

إن التفاعلات بين المبيدات الكيميائية والمبيدات الميكروبية وإمكانية خلطهما إيجابيا قد تم التطرق اليها بواسطة كل من *(1)* و *(2)*. وأضاف *(3)* تلخيصا واسعا لعديد من الدراسات والأبحاث المبكرة فى هذا المجال وأفاد أن معظم حالات التعاون *(Synergism)* كانت بين المبيدات الميكروبية ومبيدات الهيدروكربون الكلورية الحشرية.

كما أثبت *(4)* بأن معدلات الموت ليرقات بعوضة *Aedes aegypti* قد ازدادت بشكل ملحوظ، عندما تم تعريض اليرقات الى جراثيم *Asscogregrian culicis* ثم للمبيد الحشرى الميثوبرين. كما أضاف *(5)* عن زيادة موت يرقات دودة الطماطم *Heliothis zea* عندما تمت معاملتها بخليط من المبيد الفيروسى الكار *(Elcar)* المتخصص على انوية هذه الحشرات، وأحد المبيدات الحشرية التالية: المثوبرين، البيروثرين أو الميثيل باراثيون.

أما تأثير الميثوبرين على فيروسات الأنوية لحشرة فول الصويا فقد تمت دراسته بواسطة *(6)* حيث اتضح أن انتاج الفيروسات فى الحشرات المصابة والمعاملة بواسطة هذا المبيد كان إيجابيا. ثم أضاف *(7)* أن موت يرقات فول الصويا كان إيجابيا، عندما تم تعريض اليرقات الى خليط من فيروسات الأنوية والميثوبرين.

وأفاد *(8)* نتائج خليط عديد من المركبات الحشرية الفوسفورية والكارباميت مع بكتيريا *Ba-cillus thuringiensis* على يرقات *Heliothis virescens* وقد اتضح أن الحساسية لمعظم الخلائط كانت إيجابية، إلا أن مبيد الكاربارىل كان أكثر تعاونا *(Synergism)* بينما أعطى خليط الاستيروفوس نتائج تعارضية *(Antagonism)*. إضافة لذلك قام *(9)* بدراسة خليط *8* مركبات كيميائية مختلفة مع بكتريا *B. thuringienis* حيث قد وجدت بأنها تتراوح مابين تعاونية الى تعارضية. وفى دراسة حديثة قام بها *(10)* لإيجاد تأثير عدة مبيدات مختلفة على جراثيم *B. thu-ringiensis* اتضح بأن هناك تفاوتاً فى نتائجها.

هذه الدراسة عبارة عن جزء من الدراسات التى تهدف الى تقييم تأثير المبيدات المختلفة الواسعة الاستخدام فى برنامج مكافحة الآفات الزراعية وحشرات الصحة العامة بمنطقة بنغازى على بكتريا *B. thuringiensis* وقد تم فى هذا الجزء اختيار *5* مبيدات من مبيدات الصحة العامة والمبيد الميكروبى *B. thuringiensis* وهو مبيد خاص ليرقات البعوض تحت اسم تكنار *(Teknar)* لإيجاد مدى التفاعل فى مابينهما، تحسبا من احتمال إدخال هذه البكتريا فى برنامج مكافحة البعوض فى هذه المنطقة فى المستقبل، بعد احتمال تزايد مقاومة البعوض للمبيدات والتوجه الى إيجاد مواد أكثر تجانسا وانسجاما للنظام البيئي.

المواد وخطوات العمل

لقد تم استخدام كل من المبيدات الحشرية التالية فى هذه الدراسة. الميثوبرين وهو منظم نمو هرمونى للحشرات، الديفلوبنزيرون وهو منظم نمو

كابح لتكوين الكيتين عند الانسلاخ فى الحشرات، السيرومازين - وهو مبيد يرقى ذو تأثير هرمونى بسيط. هذه المبيدات مع أنها من المبيدات الفعالة ليرقات ثنائية الأجنحة، إلا أنه لم يتم إدخالها لبرنامج المكافحة فى منطقة بنغازى، والعينات منها تم الحصول عليها من الشركات المصنعة لها لغرض الأبحاث. المبيدان الأخيران هما الأبيت والبيسجارد وهى تستخدم فى برنامج مكافحة حشرات الصحة العامة فى بنغازى. أما المبيد الميكروبى المستخدم هو جراثيم بكتريا *Bacillus thuringiensis* المعد على هيئة تركيبة تجارية تعرف باسم تكنار *(Teknar)* وهو خاص ليرقات البعوض ويرقات الذباب الأسود بالدرجة الأولى، ويحتوى المليجرام الواحد منه على *1500* وحدة عالمية مقاسة على بعوضة *Aedes aegypti (AAU)*. وقد تم الحصول على هذه العينة من شركة ساندوز *Sandoz* السويسرية كهدية للبحث. وقد تم اختيار التركيز المستخدم من المبيد الميكروبى بناءً على الجرعة المنصوح بها علما بأن تأثير هذه البكتيريا ينتج من سموم *(delta endo toxin)* وتكوين الأجسام البلورية *(Crystal bodies)* عند نمو الجراثيم بمعدة الحشرة *(Midgut)* وكذلك من جراء تكاثر البكتريا وغزوها للجسم *(Septicemia)*. وقد تم استخدام تركيز واحد بواسطة التخفيف المتوالى من التركيز الأساسى وهو *(AAU 7.5)* لكل *100* مليلتر من الماء المقطر المعقم فى زجاجات مخروطية معقمة من سعة *50* مليلتر.

أما بالنسبة للمبيدات الحشرية .. فقد تم اختيار *5* تركيزات *(0.01 , 0.1, 1.0, 10, 100)* جزء فى المليون لكل مبيد حشرى وذلك باستخدام التخفيف المتوالى، وأن جميع التركيزات كانت لجميع المبيدات.

تم تحضير الوسط الخاص لنمو البكتريا باستخدام نوع معين من الأجار *(Plate counting agar)* الذى أضيف بمعدل *17* مليلتر لأطباق بترى وتركت للتصلب.. وبعد ذلك تم نقل واحد مليلتر من كل تركيز من المبيدات كل على حدة أو المبيدات والبكتريا معا أو على حدة لكل طبق من أطباق بترى باستخدام ماصات معقمة سعة المليلتر. كما أضيف واحد مليلتر من الماء المقطر المعقم لأطباق بترى للمقارنة. وباستخدام أعمدة زجاجية معقمة تم نشر محلول المبيد، المبيد والبكتريا معا أو البكتريا على الوسط الغذائى المتصلب. وقد كررت كل معاملة ثلاث مرات.

وضعت الأطباق بعد ذلك فى حاضنة حرارية على درجة *37* درجة مئوية. نمو الجراثيم وتكوين المستعمرات البكترية تم تسجيله بعد *24, 48* ساعة من الحقن.

كما تم فحص النمو باستخدام المجهر الضوئى العاكس لوجود الأجسام البلورية المصاحبة للجراثيم *(Parasporal bodies)* وأى تغيرات شكلية أخرى على الخلايا البكترية النامية.

النتائج

إن نتائج هذه الدراسة قد أثبتت- وبشكل واضح - على أن جراثيم *Bacillus thuringiensis* يمكن أن تتأثر بحيث تفقد مقدرتها على النمو عندما تتعرض لجرعات معينة من المبيدات التى تمت دراستها (جدول *1* والأشكال من *1 - 1a*) وكما يتضح من الجدول.. فإن نمو الجراثيم كان معدوما عند استخدام جميع المبيدات عند الجرعة *100* جزء فى المليون.

أما عند الجرعة *10* جزء فى المليون كان البيسجارد، المبيد الوحيد الذى كبح نمو الجراثيم، بينما كانت كل من الميثوبرين والأبيت والسيرومازين نسبيا كابحة حيث كانت معدلات النمو ضعيفة. أما الديفلوبنزيرون فكان أقلها شدة على إنبات الجراثيم. وعند ملاحظة شكل الخلايا البكتيرية المتكونة فقد اتضح صغر حجمها عند

الميثوبرين ولكنها تبدو طبيعية عند المركبات الأخرى وهذا قياسا على شكلها بالمقارنة (Control)...

عند الجرعة 1.0 جزء فى المليون اتضح أن البيسجارد لازال كابحاً لنمو الجراثيم ويأتى الأبيت فى الدرجة الثانية إلا أنه كان بالإمكان مشاهدة خلايا بكتيرية نامية فى الأخير (جدول "1"). بينما تمت ملاحظة نموات كثيفة وخلايا طبيعية إضافية الى الأجسام المصاحبة (Parasporal) مع كل من الميثوبرين، والديفلوبنزيرون والسيرومازين.

عند استخدام الجرعة 0.1 جزء فى المليون.. فإن الجراثيم فى جميع المبيدات قد نمت بشكل واضح وإن كان أقلها كثافة فى البيسجارد وأكثرها كثافة فى الديفلوبنزيرون كما أن الأجسام المصاحبة كانت واضحة والخلايا طبيعية فى معظمها.

وفى الجرعة 0.01 جزء فى المليون كان البيسجارد المبيد الوحيد الذى يبدو أن له تأثيراً على تكاثر الخلايا وتكوين المستعمرات حيث قد تم تسجيل أقل نموات من باقى المبيدات. وفى ماعدا ذلك فقد اتضح وجود نموات كثيفة وسلاسل طويلة من الخلايا البكيرية وأجسام مصاحبة واضحة.

المناقشة

إن دراسة وتقييم خلط المبيدات الكيمائية والكائنات الحية النافع فى مجال مكافحة الآفات قد زادت بشكل ملحوظ فى الآونة الأخيرة فى أنظمة إدارة الآفات الزراعية وحشرات الصحة العامة. ويرجع ذلك إلى الرغبة فى تقليل التأثيرات السلبية عندما يتصادف تطبيق هذه الكائنات الحية والمبيدات الكيميائية معا أو كل على حدة على نفس المحصول وفى نفس الموسم (6)، (10) (4)، (5)، . التجانس الإيجابي للميثوبرين وطفيل البروتوزوا قد تم تأكيده بواسطة العالم (4)، حيث إنهم وجدوا أن الميثوبرين لايؤثر سلبيا على البروتوزوا أو على حدة التطفل به. أما العلماء (8) (11)، - فقد قاموا بدراسة التفاعل بين عديد من الكائنات الحية والمركبات الكيميائية وتوصلوا الى وجود نتائج مختلفة تتراوح مابين الإيجابية الى السلبية.

أما فى هذه الدراسة فقد تم تقييم عديد من المبيدات الحشرية من حيث تجانسها مع المبيد البكتيرى الخاص بيرقات البعوض وقد أثبتت النتائج على أن الجرعات من المبيدات المختلفة تتفاوت من حيث الشدة على كبح نمو جراثيم البكتريا. فعند جرعات 100, 10 جزء فى المليون كانت جميع المبيدات ذات تأثير سلبى.

أما عند تركيزات 1.0 , 0.1 , 0.01 جزء فى المليون فإن جميع المبيدات ماعدا البيسجارد كانت إيجابية التفاعل مع البكتريا ولكن بدرجات مختلفة وحسب التركيزات المستخدمة.

إن هذه النتائج تتطابق مع ماتوصل إليه (6) الذين وجدوا تفاعلاً سلبياً للميثوبرين والديفلوبنزيرون عند استعمالهما بتركيزات مرتفعة مع بكتريا *Bacillus thuringiensis* تركيبة (Diple) أما مركب السيرومازين فكان سلبيا عند التركيزات العالية ولكنه كان ايجابيا عند التركيزات المنخفضة، وعلى العموم يبدو أن مركبى البيسجادر والأبيت وهما الأوسع انتشاراً فى مكافحة حشرات الصحة العامة ببنغازى كانا الأكثر سلبية على بكتريا *B. thuringiensis* وقد كان ذلك حتى عند التركيزات المتوسطة وعلى وجه الخصوص مبيد البيسجارد، وهذا يتفق مع ماتوصل اليه (12) الذين وجدوا أن المركب الفوسفورى ملاثيون كان سلبى التأثير على جراثيم بكتيريا *B. thuringiensis* عندما استخدم الاثنين معا لحماية الحبوب المخزونة من حشرات العتة والخنافس.

إن نتائج هذه الدراسة تؤكد أن خلط المبيدات الكيميائية وبكتريا *B. thuringiensis* قد

تختلف وتتراوح مابين تفاعلات إيجابية الى سلبية ويعتمد ذلك على نوع وتركيز المبيد المستخدم.

إن هذه الاختلافات قد تم الكشف عنها فى الدراسات الخارجية *(in vitro)* أما ماقد يحصل داخل الكائن الحى أو الحشرة *(in vivo)* وسلوك هذا التفاعل فلم يتم الكشف عنه والتعرف عليه بشكل كبير.

هذه الدراسة وغيرها من الدراسات المشابهة تعتبر ذات أهمية بالغة لمعرفة مدى التجانس مابين المبيدات الكيمائية المختلفة والكائنات الحية الأخرى التى يمكن أن تستخدم لمكافحة الآفات خصوصا وأن الهدف هو الوصول الى تقليل تأثير المبيدات الكيميائية وإدخال أساليب أكثر تطوراً كالكائنات الدقيقة لمكافحة الآفات.

Abstract

The inhibition of spore germinaton of the Bacillus thuringiensis (a mosquito larvicide) was studied on a nutrient medium using 5 chemical insecticides. Diflubenzeron was found to be the least inhibitory, while methoprene, cyromazine and abate were moderate of all insecticides tested; pesguard was the most inhibitory. The significance of mixing microbial agents and chemical pesticides for IPM system was also emphasized.

Key words: Bacillus thuringiensis, Spore germination, insecticides.

المراجع

Steinhaus, E.A. 1958. Stress as a factor in insect disease. Proc. 10th Int. Congr. Entomol. Montreal 4 : 725 - 730.

Vago, C. 1963. Predispositions and interrelationships in insect diseases. In : E. A. Steinhaus (ed, Insect Pathology).

Benz, G. 1971. Synergism of microorganism and chemical insecticides PP. 327 - 355. In. H. D. Burges and N.W. Hussey (eds.) Microbial control of insects and mites. Academic press, New York, 816 pp.

Spencer, J. P. and J. U. Olson 1982. Evaluation of the combined effects of methoprene and the protozoan parasite Ascogregarian culicis and Eugregarinidae diploysidae on Aedes mosquitoes. Mosquito News 42 (3) 384 - 390.

LUTTRELL G. R., W. C Yearian and S. Y. Young 1979. Laboratory and field studies on the efficacy of selected chemical insecticides-Elcar Baculovirus heliothis combination against Heliothis spp. J. Econ. Entomol. 72 : 57-60.

Mohamed, A. I., S, Y. Young and W. C. Yearian 1983 a. Effect of methoprene on nuclear polyhydrosis virus production in Pseudoplusia includens (Walker). J. Georgia Entomol. Soc. 19(1) : 87-92.

Mohamed, A.I., S.Y. Young and W. C. Yearian 1984. Susceptibility of Pseudoplusia includens to nuclear polyhydrosis virusmethoprene combination. J. Agric. Entomo.. 1(2) : 137-141.

Chen, Ker-Sang, B.R. Funke, J.T. Schulz, R.B. Carlson and F. I. Proshold. 1974. Effects of certain organophosphate and carbamate insecticides on Bacillus thuringiensis. J.Econ. Entomol. 67(4) : 471-473.

Mohamed, A.I., S.Y. Young and W.C. Yearian 1983 b. Susceptibility of Heliothis virescens (F) larvae to microbial agentchemical pesticide mixtures on cotton foliage. J. Environ Entomol. 17(5) 1403-1405.

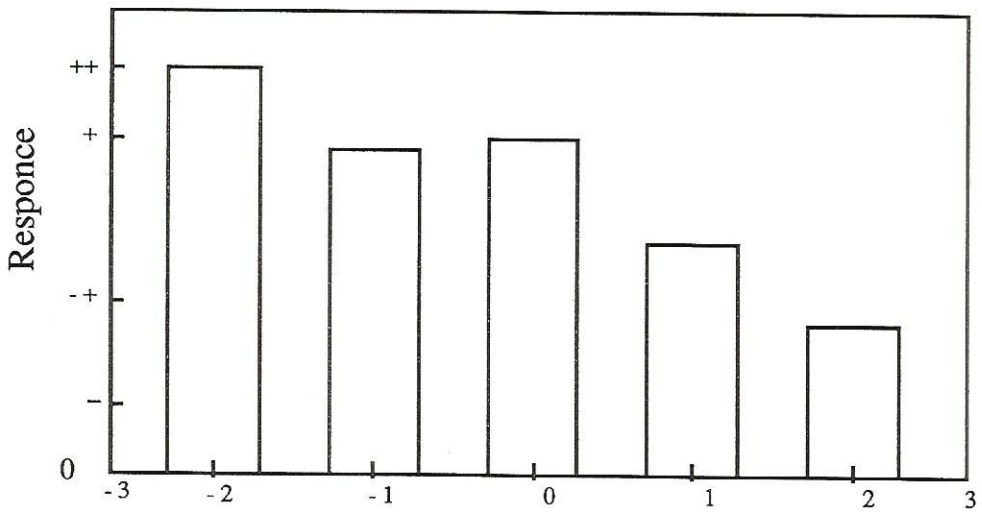
Mohamed, A.I. and S.H. Baiu 1989. The effects of chemical Pesticides

70:146-148.

Kramer, K.J., L.H. Hendricks, J.H. Wogciak and J. Fylaer 1985. Evaluation of Fenoxycarb, Bacillus thuringiensis and malathion as grain protectants in small bins. J. Econ. Entomol. 78:632-636.

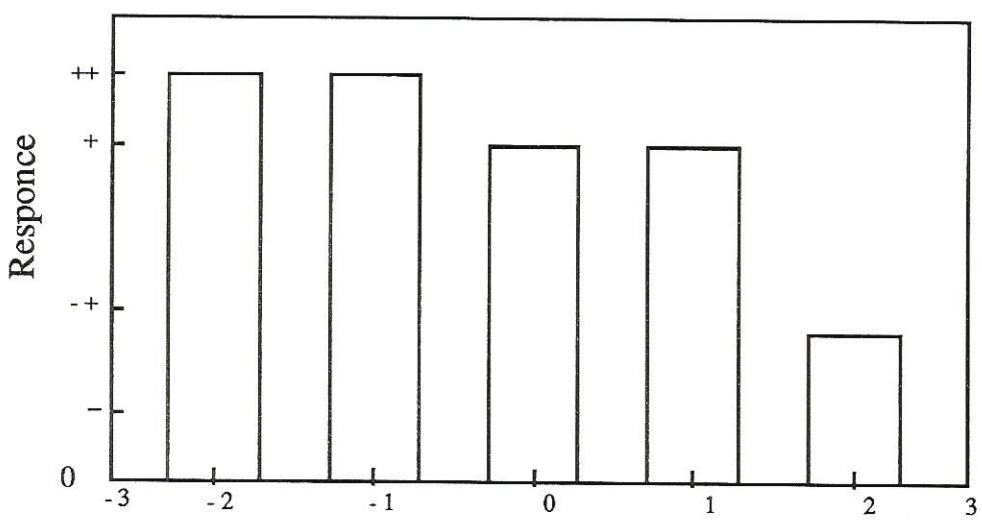
on spore germination and growth of Bcillus thuringiensis Berliner. Iraqi J. of Biol. Sc. Research (In Press).

Hamilton, J. T. and F. I. Attia 1977. Effects of mixtures of Bacillus thuringiensis and pesticide Plutella xylostella and the parasite Thyraeella collaris. J. Econ. Entomol.



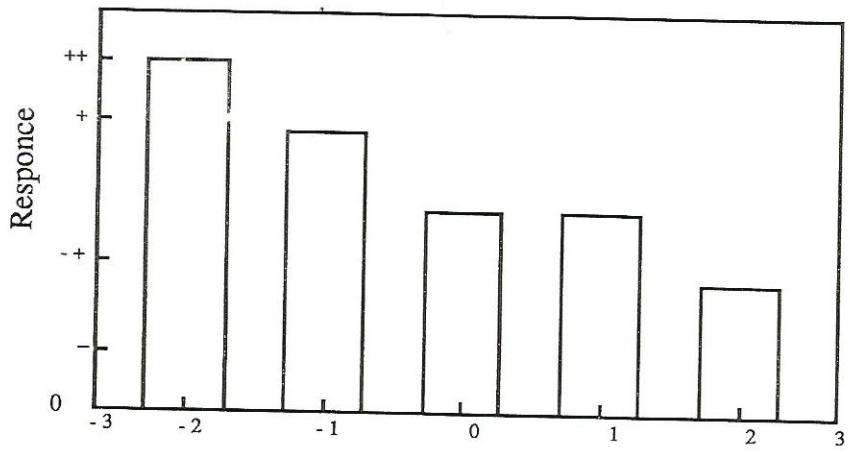
Log (Concentration (PPM))

Fig. 1.a Responce of B. T spores to Methoprone

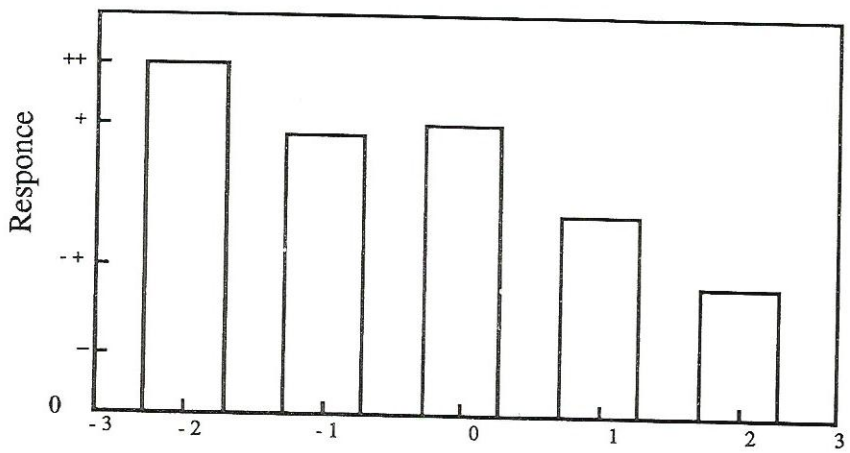


Log (Concentration (PPM))

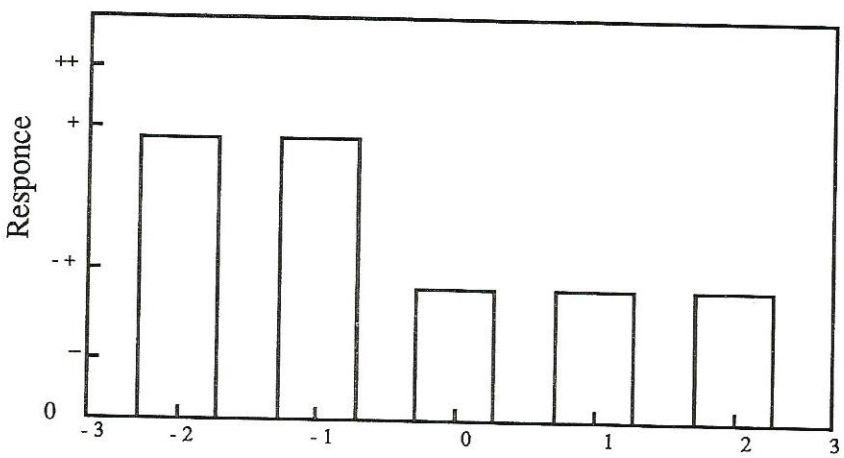
Fig. 1.b Responce of B. T spores to Methoprone



Log (Concentration (PPM))
Fig. 1.c Responce of B. T spores to Abate



Log (Concentration (PPM))
Fig. 1.e Responce of B. T spores to Cyromazine



Log (Conentration (PPM))
Fig. 1.d Responce of B. T spores to Pseguard

Table 1: Response of Bacillus thuringiensis spore to chemical insecticides after 48 hours growth on plate counting agar.

Treatment	Concentration		Growth response
	insecticide ppm	B. thuringiensis AAU	
Abate	100	7.5	-
	10	7.5	-+
	1	7.5	-+
	0.1	7.5	+
	0.01	7.5	++
Diflubenzeron	100	7.5	-
	10	7.5	+
	1	7.5	+
	0.1	7.5	++
	0.01	7.5	++
Methoprene	100	7.5	-
	10	7.5	-+
	1	7.5	+
	0.1	7.5	+
	0.01	7.5	++
Pesgard	100	7.5	-
	10	7.5	-
	1	7.5	-
	0.1	7.5	+
	0.01	7.5	+
Cyromazine	100	7.5	-
	10	7.5	-+
	1	7.5	+
	0.1	7.5	+
	0.01	7.5	++

- No growth
- + Weak growth
+ Moderate growth
++ Heavy growth
AAU Aedys Agypti unit