

تقييم كفاءة عزلات بكتريا *Bacillus thuringiensis* المعزولة من ترب محلية على بعض الافات الحشرية في العراق

حسام الدين عبدالله حمد جاسر محمد جميل¹

قسم وقاية النبات - كلية الزراعة - جامعة بغداد

الخلاصة

الكلمات المفتاحية : عزلات ، بكتيريا ، ترب محلية ، الافات ، الحشرية .
المراسلة : جاسر محمد جميل كلية الزراعة / جامعة بغداد / العراق

اجريت مسوحات ميدانية عام 2005-2006 لترب سبع محافظات عراقية مثلت التباين المناخي والاختلاف في نسجة التربة حيث شملت ارض جبلية في الشمال وسهلية في الوسط والجنوب وديمية بالغرب وشاطئية وحدائق بالوسط لتحري عن البكتريا الممرضة للحشرات *Bacillus thuringiensis* . اظهرت نتائج العزل ان الطريقة الثانية المتضمنة التحفيز بوجود المثبط ثم المعاملة الحرارية هي الافضل . وجدت البكتريا *Bacillus thuringiensis* في 20 نموذج من مجموع 39 نموذجاً فحصت اي بنسبة 51.2% ، بينما الطريقة الاولى كانت بالمرتبطة الثانية فقد وجدت البكتريا *Bacillus thuringiensis* في 13 نموذجاً من مجموع 39 نموذجاً فحصت وبنسبة 33.3% . اما الطريقة الثالثة فلم نحصل على بكتريا *Bacillus thuringiensis* من خلالها الا من ستة نماذج فقط من مجموع 39 نموذجاً اي بنسبة 15.3% . التقييم الحيوي للعزلات اظهر تفوق عزلة الانبار وبغداد وذي قار بالتركيز 1.2×10^6 بوغ / مل حيث بلغت نسبة القتل 56.7% على حشرة الخنفساء الصدفية المحيرة *Tribolium confusum* . واما تقييم كفاءة العزلات على البعوض *Culex pipiens pipiens* فلقد تفوقت عزلات محافظتي الانبار والسليمانية حيث بلغت نسبة القتل 96.6% وبالتركيز 1.2×10^5 بوغ / مل . وتقييم العزلات على دودة القطن *Spodoptera littoralis* فقد تفوقت عزلات الانبار وديالى اذ بلغت نسبة القتل 96.6% بالتركيز 1.2×10^6 بوغ / مل .

Efficiency of the bacteria *Bacillus thuringiensis* isolate from different local soil as bio insecticides on different insects in Iraq

Hussam Aldin A.M. Salih Jasser M. Jamil
Plant Protection Dept., College of Agric. Univ. of Baghdad

ABSTRACT

Key words: Bacteria, Isolates, bio insecticides.
Corresponding: J.M. Jamil, College of Agric., Baghdad Uni., Iraq.

Soil survey was conducted during the years 2005 and 2006 for seven Iraqi Governorate representing different climatic and soil stricter for the presence of *Bacillus thuringiensis* . The results indicated that the best isolation method was the inhibitor with thermal treatment 51.2% of total presence bacterial. The total average of bacterial presence is representing Iraqi soil was 34.5%. The highest presence of bacteria was 50% for Diala and Baghdad. Mortality eate of the bioassay isolation test showed higher 56.7% for Anbar , Baghdad for *Tribolium confusum* concentration 1.2×10^6 spor / ml. The result of bioassay of *Bacillus thuringiensis* isolates against *Culex pipiens* showed mortality 96.9% in Sulimayyah and Anbar with 1.2×10^5 spor / ml concentration . The bioassay isolates testing *spodoptera littoralis* showed mortality rate of 96.6% in Diala and Anbar with 1.2×10^6 spore / ml.

المقدمة

ان الاضرار الناتجة من الحشرات الاقتصادية تخفض من الانتاج الكلي بما نسبته 15-20% من مجموع الناتج الزراعي والغذائي والمواد الخام الداخلة بالصناعة ، لذلك ان حماية النبات والحاصل مابعد الحصاد هو التحدي الاكبر الذي تواجهه الدول ، لذا لجأت دول العالم الى استعمال الطريقة الكيماوية للتخلص من اضرار الحشرات. ان لهذه المبيدات الكيماوية وجه اخر من حيث تسببه من تلوث للبيئة ومخاطرها على صحة الانسان وحيواناته الداجنة وما تحدثه من خلل في التوازن الطبيعي وتأثيرها السلبي على الاعداء الحيوية ، لذا اتجهت الانظار نحو استخدام عناصر المقاومة الاحيائية ومن اهمها والتي اثبتت كفاءة حظيت باهتمام واسع هي بكتريا *Bacillus thuringiensis*

¹ البحث مستل من اطروحة دكتوراه للباحث الثاني

والتي اتفق الى اطلاق مصطلح B.T عليها والتي انتجت بصورة واسعة في العالم ، ينتج منها صيغتين الاولى تتألف من الابواغ والبروتين البلوري والصيغة الثانية تتألف من البروتين البلوري فقط والذي يعتبر اكثر اماناً من الصيغة الاولى . امتازت مستحضرات B.T بالتخصص الدقيق وتدني كلفة الانتاج وعدم احداثها تلوث بالبيئة ولا تترك متبقيات في التربة ولا تضر بالاعداء الحيوية لكونها معديّة متخصصة في تأثيرها وغير سامة للزواحف واللبائن والبرمائيات (1).

بلغ عدد الضروب المسجلة تحت نوع البكتريا B.T حوالي 82 تحت نوع مصلي Serover تضمنت 69 نوعا مصلي Serotype مع 13 مجموعة تحت المستضد Subantigenic (2). ولقلة المعلومات المتوفرة عن مدى انتشار هذه البكتريا بالبيئة العرواقية اجريت هذه الدراسة وهدفت الى :

1- تكوين فكرة عن تواجد بكتريا B.T في الترب العراقية.

2- محاولة الحصول على عزلات جديدة للبكتريا B.T من الترب العراقية ذات كفاءة وقتل عالية لانواع مختلفة من الحشرات.

المواد وطرائق العمل

المسح واخذ العينات

اخذت عينات تربة من سبع محافظات مثلت التباين المناخي والاختلاف في نسجة التربة مع توخي الحذر عند اخذ عينات من الاراضي الزراعية للتأكد من انه لم تستعمل فيها مستحضرات BT من خلال الاستفسار من مالك الارض او الدائرة الزراعية في تلك المنطقة . ازيلت الطبقة السطحية للتربة بعمق 3-5 سم باستعمال سكين معقمة (لان البكتريا المستهدفة تتأثر بالاشعة فوق البنفسجية لذا لا يتوقع وجودها في الطبقة السطحية الى عمق 3 سم) . اخذ 20 غم من التربة باستعمال ملعقة معقمة الى كيس نايلون معقم احكم اغلقه مع تثبيت المعلومات التالية عليه : 11 سم منطقة الجمع ، طبيعة الارض وتاريخ اخذ النموذج . حفظت العينات بالتلاجة لحين الاستعمال واجراء عملية العزل وتمت العشوائية باخذ العينات (3). شملت العينات محافظة السليمانية حيث اخذت نماذج من عشرة نواحي واقضية تابعة لها مثلت ارض جبلية شمالية اما في محافظة الانبار فقد جمعت من احد عشرة قضاء وناحية مثلت تربة رملية وسطية ، اما في محافظة ميسان فقد جمعت من اربع نواحي واقضية مثلت تربة رسوبية جنوبية ، ومحافظة ديالى اربعة نماذج ومحافظة ذي قار ثلاثة عينات اما محافظة بابل فكانت سبعة عينات اما بغداد فقد كانت خمسة مواقع مختلفة من النواحي والاقضية.

طرائق عزل البكتريا

استعملت ثلاثة طرائق في عزل بكتريا B.t من نماذج الترب ، الطريقة الاولى والثانية معتمدة اما الطريقة الثالثة فهي تجريبية للمقارنة والمفاضلة بينهما ، وهذه الطرق هي :

الطريقة الاولى : اعتمدت على طريقة (Ohba و Aizawa ، 1986) (4) والتي تضمنت نقل واحد غم من كل نموذج تربة الى دورق زجاجي سعة 250 مل يحتوي على 10 مل ماء مقطر ووضع الدورق على هزاز كهربائي لمدة عشرة دقائق . بعدها سحب واحد مل من المعلق (التخفيف 10^{-1}) ووضع في انبوبة Eppendorf وعملت حرارياً في حمام مائي على درجة 70 م لمدة نصف ساعة للتخلص من الانواع غير المكونة للابواغ. برد المعلق واجريت عليه سلسلة تخفيف باستعمال الماء المقطر المعقم لحد تخفيف 10^{-6} ، استعملت بالتجربة ثلاثة تخفيف 10^{-2} ، 10^{-4} ، 10^{-6} . نقل 100 مايكروليتر من كل تخفيف الى اطباق بنري محتوية على الوسط المغذي الصلب ، حفظت الاطباق في الحاضنة على درجة حرارة 30 م لمدة 72 ساعة ، بهذه الطريقة يمكن تميز بكتريا B.t عن غيرها من البكتريا غير المكونة للابواغ .

الحشرات المختبرة

شملت التجربة اختبار القابلية الامراضية (مدى القتل النهائي) للعزلات التي حصل عليها من الترب العراقية على يرقات ثلاثة انواع من الحشرات تعود الى ثلاث رتب مختلفة :

أ- الخنفساء الصدئية المحيرة *Tribolium confusum* رتبة غمدية الاجنحة Coleoptera صنفت اعتماداً على المفتاح التصنيفي في متحف التاريخ الطبيعي / جامعة بغداد ورببت الحشرات على دقيق الحنطة . اخذت منها اطوار الطور اليرقني الثالث .

ب- البعوض *Culex pipiens pipiens* زيتية ثنائية الاجنحة Piptera اخذت اليرقات من معهد الامراض المستوطنة / بغداد / وزارة الصحة اخذت يرقات الطور الثالث والرابع واجري التقييم عليها .

ج- دودة اوراق القطن *Spodoptera littoralis* رتبة حرشفية الاجنحة Lepidoptera حصل من مختبر الحشرات الاقتصادية / قسم وقاية النبات / كلية الزراعة / جامعة بغداد . اجري الاختبار على يرقات الطور اليرقي الثالث.

الطريقة الثانية :

طريقة (5) تتميز عن سابقتها بكونها لا تحتاج الى اجراء سلسلة طويلة من التخفيف ، كما انها اكثر اماناً للمشتغل كونها تستبعد انواع الجنس *Bacillus* الاخرى ويضمنها الممرضة للانسان وذلك بالاعتماد على انبات الابواغ ومن ثم قتل الخلايا الخضرية بالمعاملة الحرارية والتي اجريت كالتالي : نقل 0.5 غم من كل نموذج من نماذج التربة البالغة 39 نموذجاً الى دورق مخروطي بحجم 125 مل يحتوي 10 مل وسط المرق المغذي *L. brooth* الحاوي على 0.25 مول اسيتات الصوديوم ، وضعت الدوايق في حاضنة هزازة 250 دورة / دقيقة على درجة حرارة 30 م ولمدة اربعة ساعات يتم من خلالها انبات جميع الابواغ باستثناء ابواغ بكتريا *B. thuringiensis* و *B. sphaericus* التي يثبط انبات ابواغها بفعل التركيز المستعمل من اسيتت الصوديوم. عوملت العينات حرارياً مباشرة على درجة حرارة 80 م لمدة ثلاثة دقائق لقتل جميع الخلايا الخضرية الناتجة من انبات الابواغ بالاضافة الى الخلايا الخضرية الموجودة اصلاً. نقل 0.1 مل من المعلق المعامل حرارياً ووزع على سطح الوسط الزرع *L. agar* في اطباق بتري وحضنت على درجة 30 م لمدة 48 ساعة ، فحصت بعدها المستعمرات واجريت عملية تنقية للمستعمرات التي اظهر الفحص المجهرى انها *B.t* وحفظت بالتلحاجه لحين اجراء بقية الاختبارات عليها.

الطريقة الثالثة :

وهي طريقة تجريبية شبيهة بالطريقة الثانية باستثناء عدم استعمال الوسط المغذي والمثبط اسيتت الصوديوم وان اجراء المعاملة الحرارية تمت على درجة حرارة 80 م ولمدة 15 دقيقة .

ولتشخيص العزلات استعمل الفحص المجهرى للعزلات التي حصل عليها اعتماداً على وجود ثلاثة اشكال من البروتين البلوري هي ثنائي الهرم نقي وخليط وكروي نقي وثنائي الهرم مع مكعب.

اختبار الكفاءة الحيوية للعزلات المختلفة

اجري اختبار الكفاءة الامراضية للعزلات التي حصل عليها من التربة العراقية على يرقات ثلاثة انواع من الحشرات تعود لثلاثة رتب مختلفة تكون معتمدة في حساسيتها للبكتريا *B.T* كالتالي :

اختبار الكفاءة الحيوية للعزلات على يرقات الخنفساء الصدئية المحيرة *Tribolium confusum*

نفذت التجربة من الفترة 5-10-2005 ولغاية 20-11-2005 في حاضنة على درجة 25 م وعلى مرحلتين باستعمال تركيزين من اللقاح البكتيري هما $10^6 \times 1.2$ بوغ / غم من الغذاء و $10^5 \times 1.2$ بوغ / غم من الغذاء. حضر التركيز الاول بخلط 0.1 مل من اللقاح الاصلي (6×10^7 بوغ / مل) مع خمسة غرامات من دقيق الحنطة المعقم (على درجة 60 م ولمدة ثماني ساعات في الفرن) وحضر التركيز الثاني باجراء تخفيف للقاح الاصلي وذلك باخذ 0.1 مل وازافتها 0.9 مل ماء مقطر ثم اضيف 0.1 مل منه الى طبق بتري يحتوي على خمسة غرامات من دقيق الحنطة المعقم ، خلط المعلق المكون اصلاً من الابواغ والبروتين البلوري مع الدقيق بتقليبه داخل غرفة العزل الى ان جف ، نقلت محتويات كل طبق الى قارورة زجاجية معقمة اضيف اليها 10 يرقات الطور الثالث من يرقات الخنفساء الصدئية المحيرة . اغلقت فوهة القارورة بغطاء مثقب يسمح بدخول الهواء ولا يسمح لليرقات بالهروب وضعت القوارير في الحاضنة على درجة 25 م واخذت القراءات (عدد اليرقات الباقية على قيد الحياة) بعد اربعة ايام وسبعة ايام وعشرة ايام. جربت 39 عزلة وبتركيزين وبتلاثة مكررات لكل تركيز اما المقارنة فقد اضيف الى الدقيق 0.1 مل ماء مقطر بدلاً من المعلق البوغي.

اختبار الكفاءة الحيوية للعزلات على يرقات البعوض *Culex pipiens pipiens*

نفذت التجربة للفترة 14-3-2006 ولغاية 16-3-2006 اجري الاختبار بتركيزين هما $10^5 \times 1.2$ بوغ / مل و $10^6 \times 1.2$ بوغ / مل على يرقات بعوض عمر ثالث الى الرابع بمعدل عشرة يرقات لكل دورق سعة 250 مل وضع فيه 50 مل ماء خالي من الكلور اضيف له واحد مل من المعلق البكتيري الاصلي (6×10^7 بوغ / مل) بالنسبة للتركيز $10^5 \times 1.2$ بوغ / مل و 0.1 مل بالنسبة للتركيز $10^6 \times 1.2$ بوغ / مل) ، اما المقارنة استعمل الماء الخالي من الكلور بدون المعلق البوغي اخذت القراءات بعد 12 ، 24 ، 36 ، 48 ساعة مع إيقاف التغذية للبعوض خلال 24 ساعة الاولى من المعاملة ، اشتملت التجربة 39 عزلة وبتركيزين وبتلاثة مكررات لكل تركيز (6).

اختبار الكفاءة الحيوية للعزلات على يرقات دودة اوراق القطن *Spodoptera littoralis*

اجريت التجربة للفترة من 2-4 لغاية 11-4-2006 باستعمال طريقة الطبق المغمور التي اتبعها (7) وبتركيزين هما 1.2×10^5 بوغ / مل و 1.2×10^6 بوغ / مل. اختيرت اوراق نبات الخباز الغضة غير المصابة بالحشرات وغير المعاملة باي مبيد كيميائي ، غسلت جيداً بماء الحنفية وشطفتم بالماء المقطر وتركتم لتجف طبيعياً بالمختبر قطعت الاوراق وفرشت بحيث تغطي مساحة الطبق اضيف 0.1 مل من المعلق على الاوراق المفروشة بالطبق ، تركت لتجف داخل غرفة العزل بعدها وضع في كل طبق معقم ورقة ترشيح وضع عليها عشرة يرقات بالعمر البرقي الثالث ثم نقلت اليها الاوراق المعاملة اما المقارنة فقد استعمل 0.1 مل ماء مقطر فقط وبسته مكررات وضعت الاطباق بالحاوية على درجة حرارة 25 م ، اخذت القراءة بعد 2 ، 5 ، 8 ايام مع استبدال الغذاء باوراق نبات الخباز غير المعاملة والمغسولة بالماء المقطر ، اشتملت التجربة على 16 عزلة وعزلتان قياسيتان هما Aizawai و Kurstaki وبتركيزين وبتلاتة مكررات لكل تركيز (8).

التحليل الاحصائي

حللت البيانات حسب التجارب العاملة وباستعمال التصميم العشوائي الكامل كما تم اختبار اقل فرق معنوي L.S.D على مستوى

0.05 (9).

النتائج والمناقشة

اظهرت نتائج وجود البكتريا *Bacillus thuringiensis* في ترب جميع المحافظات ولكن عدد العزلات اختلف تبعاً للموقع الجغرافي للمنطقة وطبيعة التربة والظروف البيئية المحيطة . اظهرت نتائج العزل ان الطريقة الثانية المتضمنة استعمال اسنتيت الصوديوم كمثبط لايواغ البكتريا B.T هي الافضل لانها اكثر انتقائية في عزل البكتريا حيث وجدت البكتريا في 20 نموذج من مجموع النماذج التي فحصت والبالغ عددها 39 نموذج أي بنسبة تواجد 51.2% ، بينما عزلت البكتريا B.t من 13 نموذج من نفس النماذج بالطريقة الاولى أي بنسبة تواجد 33.3% ، اما العزل بالطريقة الثالثة فلم نحصل على البكتريا الا في ستة نماذج أي بنسبة تواجد 15.3% من المعدل العام . بعد تواجد البكتريا بالطرائق الثلاثة كانت محافظتي بغداد وديالى بنسبة 50% واقل نسبة للتواجد في محافظتي الانبار وميسان اذ بلغت 25% جدول (1) ، اما المعدل الكلي لتواجد البكتريا B.t في الترب العراقية فكانت 34.5% (جدول 1).

جدول (1) نسبة تواجد البكتريا B.t في المواقع التي درست وحسب الطرق المستخدمة في العزل

الموقع	الطريقة الاولى			الطريقة الثانية			الطريقة الثالثة			متوسط النماذج التي احتوت Bt	% الكلية
	عدد النماذج التي فحصت	عدد النماذج التي احتوت Bt	%	عدد النماذج التي فحصت	عدد النماذج التي احتوت Bt	%	عدد النماذج التي فحصت	عدد النماذج التي احتوت Bt	%		
سليمانية	9	3	33.3	9	4	44.4	9	2	22.2	3	30
الانبار	8	2	25	8	3	37.5	8	1	12.5	2	25
ديالى	4	2	50	4	3	75	4	1	25	2	50
بغداد	4	2	50	4	3	75	4	1	25	2	50
بابل	7	2	28.5	7	3	42.8	7	1	14.2	2	28.5
ميسان	4	1	25	4	2	50	4	0	0	1	25
ذي قار	3	1	33.3	3	2	66.6	3	0	0	1	33.3
المجموع	39	13	33.3	39	20	51.2	39	6	15.3	13	34.5

واستعمل (5) الطريقة الثانية المثبت استيت الصوديوم بنسبة 0.25 مول وكانت الابواغ حساسة تجاه استعماله ، بينما استعمل Delucca وجماعته (1981) طريقة العزل التقليدية (الطريقة الاولى) من مجموع 46373 مستعمرة بكتيرية للجنس *Bacillus* عزلت من الترب الامريكية ووجد ان 250 عزلة فقط تعود للنوع *B. thuringiensis* . كذلك في اسبانيا وجد Iriart وجماعته 1998 انه من مجموع 11982 مستعمرة فحصت فان 1401 مستعمرة فقط كانت B.t (11) . كذلك في الصين من مجموع 1873 مستعمرة بكتيرية شخصت مزرعياً من قبل (6) على انها تعود للجنس *Bacillus* وجدوا ان 79 مستعمرة B.t أي بنسبة 4.2% . اما (5) فقد وجدوا ان البكتريا B.t موجودة من اصل 1115 مستعمرة في 785 نموذج باستعمال الطريقة الثانية. اما (12) فقد حصلوا على 26 عزلة من فحص 20 نموذج تربة جمعت من مناطق مختلفة بالاردن بالطريقة الثانية.

اختبار الكفاءة الحيوية للعزلات على يرقات خنفساء الطحين المحيرة *Tribolium confusum*

من ملاحظة جدول (2) الذي يوضح مديات القتل النهائي للعزلات المختبرة على يرقات خنفساء الطحين المحيرة اتضح ان عدد العزلات التي احدثت نسبة قتل من 51-60% بالتركيز الاول كانت خمسة عزلات وهي مجموع العزلات التي تكون فعالة ضد الحشرة على وفق ما جاء به (13) اذ اعتبروا ان أي عزلة تحقق نسبة قتل 50% فاكثرت تعتبر فعالة. اما العزلات التي احدثت نسبة قتل (41-60%) بالتركيز الاول كانت ايضاً خمسة عزلات وعزلتين بالتركيز الثاني ($10^5 \times 1.2$) بوغ / مل وحدثت اربعة عزلات نسبة قتل ضمن المدى 31 - 40% بالتركيز الاول و سبعة عزلات بالتركيز الثاني مع ملاحظة ان جميع العزلات التي اعطت نسبة قتل اعلى في التركيز الثاني من التركيز الاول . تعتبر هذه النتيجة مشجعة اذا ما قورنت بالنتائج التي حصل عليها باحثون اخرون فلقد حققت العزلات التي عزلها Bintio وجماعته 1999 نسبة قتل 25% على يرقات الخنفساء الحمراء الصدئية و 44% على يرقات الخنفساء المنشارية. اما (15) فقد وجدوا ان عزلة واحدة من ضمن العزلات التي جمعت من اقليم Hebei في الصين اعطت نسبة قتل وصلت 100% على احدى حشرات غمدية الاجنحة بعد (7-14) يوم من المعاملة في حين لم تكن هذه العزلة فعالة على حشرات رتبة حرشفية الاجنحة .

جدول (2) مديات القتل النهائي لجميع العزلات المحلية البالغة 39 عزلة ولتركيزين مختلفين على يرقات الخنفساء الصدئية المحيرة

بوغ / غم غذاء للتركيز $10^5 \times 1.2$		التركيز $10^6 \times 1.2$ بوغ / غم غذاء		المدى المنوي للقتل
رمز العزلة	عدد العزلات	رمز العزلة	عدد العزلات	
	0		0	100-61
	0	NA2-2 ، BA 1-2 AN8-2 ، AN 1-2 AN 1-1	5	60-51
BB4-1, AN8-3	2	NA 2-1 ، BB 4-1 BA3-2 ، BA 1-1 ANB-3	5	50-41
BA-1 , NA2-1 + العزلات الخمس الاعلى مدى القتل	7	DE-2 , DE-3, SL6-3 , SL5-2	4	40-31
باقي العزلات		باقي العزلات	25	30 فما دون

ديالى DE سليمانية SL بابل BB بغداد BA انبار AN ناصرية NA

شكلت العزلات الخمسة التي احدثت معدل قتل ضمن المدى 51-60% بالتركيز الاول ($10^6 \times 1.2$) بوغ / مل نسبة 12.8% من مجموع العزلات المحلية المتميزة البالغ عددها 39 عزلة وكانت نفس النسبة فيما يخص المدى (41-50)% بالتركيز الاول ونسبة 5.1% بالتركيز الثاني ($10^5 \times 1.2$) بوغ / مل . اما نسبة العزلات التي حققت معدل قتل ضمن المدى 31-40% بالتركيز ($10^6 \times 1.2$) كانت 10.2%

ونسبة 17.9% بالتركيز ($10^5 \times 1.2$) بينما شكلت العزلات التي حققت معدلات قتل 30% فما دون نسبة 64.1% بالتركيز ($10^6 \times 1.2$) ونسبة 76.9% بالتركيز ($10^6 \times 1.2$).

اختبار الكفاءة الحيوية للعزلات على يرقات البعوض *Culex pipiens pipiens*

الجدول (3) يوضح احتساب مديات القتل النهائي للعزلات، فقد تبين ان العزلات والتي حققت قتل ضمن مدى (91-100)% بالتركيز ($10^6 \times 1.2$) كانت ثلاثة عزلات ، وحققت ثلاثة عزلات اخرى نسبة قتل ضمن المدى (81-90)% بالتركيز ($10^6 \times 1.2$) وعزلتان حققت نسبة قتل 71-80% وثلاثة عزلات 61-70% وعزلة واحدة اعطت نسبة قتل 51-60% وحوالي 27 عزلة دون 50% . في دراسة للباحث (16) في انكولا من خلال اجراء اختبار اولي لثمانية عزلات محلية على حشرة تعود لرتبة ثنائية الاجنحة وجد ثلاثة عزلات فعالة بنسب قتل 86.3% ، 62.1% و 25.7% . بينما وجد Maldinado وجماعته (1999) من خلال اختبار 96 عزلة محلية انها حققت نسبة قتل تجاوزت 60% على يرقات البعوض *Aedes aegypti* لكنها احدثت نسبة قتل 0-100% على حشرة *Trichoplusia ui* وهذا يعني ان لا يمكن اعتبار العزلة التي لا تحقق فعالية تجاه حشرة معينة انها غير جيدة فقد تكون فعالة بكفاءة عالية على حشرة او مجموعة حشرات اخرى تعود الى رتب اخرى.

جدول (3) مديات القتل النهائي لجميع العزلات المحلية البالغ عددها 39 عزلة على يرقات البعوض وبكلا التركيزين

بوغ / غم غذاء للتركيز $10^4 \times 1.2$		التركيز $10^6 \times 1.2$ بوغ / غم غذاء		المدى المنوي للقتل
رمز العزلة	عدد العزلات	رمز العزلة	عدد العزلات	
AN4-2	1	SL6-3,DE4-1, AN4-2	3	91-100
SL6-3,DE4-1, DE4-2	3	SL6-2,DE4-2, AN4-1	3	91-81
AN4-1	1	BB7-1,AN8-3	2	80-71
SL6-2,AN8-3	2	BA1-2,AN1-1 AN1-2	3	70-61
AN1-1,AN1-2	2	NA1-2	1	60-51
باقي العزلات	31	باقي العزلات	27	50 فما دون

DE ديالى AN الانبار NA ناصرية BA بغداد سليمانية SL بابل BB

اما النسبة المئوية للعزلات فقد شكلت العزلات التي حققت نسب قتل ضمن المدى (91-100)% بالتركيز ($10^5 \times 1.2$) نسبة 7.7% من مجموع العزلات المختبرة البالغ عددها 39 عزلة ونسبة 2.3% بالتركيز ($10^4 \times 1.2$) وشكلت نسبة 7.7% بالتركيز الاول ونسبة 5.3% بالتركيز الثاني في المدى (61-70)% وشكلت العزلات التي حققت معدلات قتل ضمن المدى (51-60)% بالتركيز الاول ونسبة 2.3% بالتركيز الثاني بنسبة 5.3%. اما العزلات التي حققت معدلات قتل 50% فما دون فقد شكلت نسبة 69.2% بالتركيز الاول ونسبة 79.2% بالتركيز الثاني.

اختبار الكفاءة الحيوية لمجموع العزلات على يرقات دودة ورق القطن

يوضح جدول (4) احتساب مديات القتل للعزلات المحلية البالغة 16 عزلة وعزلتين متباينتين هما Kurstaki و Aizawai . اجري الاختبار الحيوي لها على دودة ورق القطن واتضح ان ثلاثة عزلات هي ديالى او ديالى 2 وناصرية 1 حققت معدلات قتل عالية جداً ضمن المدى الاول 91-100% بالتركيز الاول ($10^6 \times 1.2$) بوغ / مل بينما لم تحقق أي من العزلات معدلات قتل ضمن المديين الاول والثاني عند التركيز الثاني ($10^5 \times 1.2$) بوغ / مل في حين حققت العزلات الثلاثة التي اعطت اعلى معدلات قتل بالتركيز الاول ($10^6 \times 1.2$) معدلات قتل ضمن المدى الثالث 71-80% بالتركيز الثاني ($10^5 \times 1.2$) بوغ / مل وهو نفس معدل القتل الذي حققته العزلة انبار 8 و 3 لكن بالتركيز الاول ($10^6 \times 1.2$) بوغ / مل وحققت ثلاث عزلات هما NA (2-1) و BB (2-7) و BB (3-3) معدلات قتل متوسطة ضمن المدى الرابع 61-70% ، اما معدلات القتل ضمن المدى الخامس 51-60% فقد حققته العزلات ناصرية 2-2 وناصرية 1-8 وميسان 2-1

ضمن التركيز الاول ($10^6 \times 1.2$ بوغ) / مل والعزلتين انبار 3-8 وبابل 2-7 ضمن التركيز الثاني ($10^5 \times 1.2$) بوغ / مل ، اما باقي العزلات فقد كانت معدلات القتل بين 3.3 - 45.3% أي دون 50% وشملت خمسة عزلات في التركيز ($10^6 \times 1.2$) بوغ / مل و 11 عزلة في التركيز ($10^5 \times 1.2$) بوغ / مل وكما موضح في الجدول 4 .

جدول (4) مديات القتل النهائي لمجموع 16 عزلة محلية مع عزلتين قياسييتين (للمقارنة) مختبرة على دودة اوراق القطن

بوغ / غم غذاء للتركيز $10^4 \times 1.2$		التركيز $10^6 \times 1.2$ بوغ / غم غذاء		المدى المئوي للقتل
رمز العزلة	عدد العزلات	رمز العزلة	عدد العزلات	
	0	DE2-3,DE1-2, NA2-1	3	91-100
	0	Aizawai, DE3-2,	1	90-81
NA2-1,DE2-3, DE1-2	3	AN8-3	1	80-71
Aizawai	0	BB7-2, BB3-3 AN1-2	3	70-61
BB7-2,AN8-3	2	NA8-1,AM1-2 Kurstaki , NA2-2	3	60-51
باقي العزلات	11	باقي العزلات	5	فما دون 50

DE دبالى AN الانبار NA ناصرية BA بغداد BB بابل

جاءت النتائج متوافقة مع النتائج التي حصلت عليها (18) عندما حصلت على ثلاث عزلات لا B.t بنسب قتل (98 ، 96 ، 95)% بالتركيز ($10^6 \times 0.6$) بوغ / مل عند درجة حرارة 30 م على يرقات دودة البنجر السكري Exigua . ومن ملاحظة معدلات القتل التي حققها الضربين القياسيين Kurstaki و Aizawai والتي بلغت 56.6% بالتركيز الاول و 30% في التركيز الثاني بالنسبة للضرب Kurstaki و 96.6% بالتركيز الاول و 66.6% في التركيز الثاني للضرب aizawai ونجد ان العزلات الثلاثة انبار (2-1) ودبالى (3-2) ودبالى (2-1) قد تفوقت على الضروب القياسية.

اما مديات القتل فقد شكلت العزلات التي حققت قتل ضمن المدى 91-100% بنسبة 18.7% من مجموع العزلات المختبرة والبالغ عددها 16 بالتركيز $10^6 \times 1.2$ بوغ / مل ونسبة صفر % بالتركيز $10^5 \times 1.2$ بوغ / مل ، هذه النسبة تعتبر اقل مما وجده (Fernando وجماعته 2003) عندما اجري تقييم حيوي لمجموع 3408 عزلة محلية على يرقات حرشفية الاجنحة *S. frugiperda* وجد ان 63% من هذه العزلات حققت مدى قتل من 91-100% ولكنها نسبة اعلى مما وجده (Arango وجماعته ، 2002) اذ وجد ان 32 عزلة فقط فعالة من مجموع 1100 عزلة محلية حصلوا عليها من الترب الكولومبية عند اجرائهم الاختبار الحيوي لها على نفس الحشرة.

المصادر

الراوي ، خاشع محمود وعبدالعزيز محمد خلف الله. 1980. تصميم وتحليل التجارب الزراعية ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، جامعة الموصل ، مطابع مؤسسة دار الكتب للطباعة والنشر . 304 صفحة.

محمد علي ، جهينة ادريس. 2000. المكافحة الحيوية لدودة البنجر السكري *Spodoptera exigua* باستخدام البكتريا *Bacillus thuringiensis* ، اطروحة دكتوراه ، قسم وقاية النبات. كلية الزراعة والغابات . جامعة الموصل.

Arango , J.A. ; M. Romero and S. Orduz . 2002. Diversity of *Bacillus thuring* strain Colombia with insticidal activity against *Spodoptera frugipersa*. J. Applied Microbiology. Vol. 92 , P. 466.

Bajwa , W.I and M. Kogan . 2001. *Bacillus thuringiensis* based biological control of insect pests. National IPM. Network Email : bajwa@bbc.orst.edu. Bajwakogan 2001. B.t. based biological control . htm.

Bernito , P.A., S.A. Emesto , C.F.C. Alfousa , M.I. Maria , J.C. Luis , M.R. Lilia and A.N. Reyes. 1999 . Isolation and characterization of Mexican *Bacillus thuringiensis* strains toxic against *Tribolium castaneum* and *Oryzaephily surinamensis* Biotechnology of B.t. , Eds. Yu Zniu , Sunming and Liu Ziduo. Science Press , Beijing , vol. 3 : 21-25.

- Dai , L., X. Wang , G. Zhang . 1994. Studies on the ecological distribution of *Bacillus thuringiensis* in forst of China wei shen Wixne bao 34 (6) : 449-456.
- Delucca , A.I. ; J.G. Simonson and A.D. Larson. 1981. *Bacillus thuringiensis* distribution in soil of the United States. *Can. J. Microbial.* 27 (9) : 865-870.
- Dulmage , H.D. ; O.P. Boening ; C.S. Rehnborg and D.G. Hansen . 1971. A proposed standardized bioassay for formulation of *Bacillus thuringiensis* based the international Unit. *J. Invertbr. Pathol.* 81 : 240-245.
- Feng Shu Liang , Fan Xinhua , Wang Rongyand and Hu Ming Jum . 1999. A new isolate HBF-1 of *Bacillus thuringiensis* with a larvidal activity for scarabacted beetles *Anomala exoleta* and *A. corpulenta*. *Biotechnology of Bacillus thuringiensis* , *Sci. Press , Beijing* , vol. 3 : 49.
- Fernando , H. Valicente , R. Marlitou ; R. Barreto . 2003. *Bacillus thuringiensis* survey in Brazil : geographical distribution and insecticidal activity against *Spodoptera frugiperda*. *Neotrop Entomol Vol.* 32 , No. 4 , Londerina.
- Franchou , E. and I. Thiery . 1997. Identification , isolation , culture and preservation of Entomopathogenic bacteria in : *Manual of techniques insect pathology . Academic Press.* 54-77.
- Hossain , M.A. ; S. Ahmed and S. Hgue . 1997. Abundance and distribution of *Bacillus thuringiensis* in the Agricultural soil of Bangladesh . *J. Invtbr. Pathol.* 70 : 221-225.
- Iriarte , J. ; Y. Bel ; M.D. Fernandis and D. Caballero . 1998. Environmental distribution and diversty of *Bacillus thuringiensis* in Spain . *Systamtic and Appl. Microbial . Vol.* 21 (1) : 97-106.
- Lecadet , M. ; M. Franchon ; S. Laurent and I. Thiery . 1999. Updating the H-anti –gen classification and *Bacillus thuringiensis* . *Journal of Applied Microbiology .* 86 : 660-672.
- Maldonado – Blanco, M.G. , D.I. Monsivais , C. Padilla , R. Tamez – Guerra and L.J. Gaian-Wong. 1999. Isolation and evaluation of *Bacillus thuringiensis* from soil against *Trichoplusia ni* and *Aedes aegypti* in Maxico. *Biotechnology of B.t. Eds. Yu Zniu , Sunming and Lin Zidno. Science press , Beijing* vol. 3 : 35-39.
- Micheal , R.McGuire , J.G. Luis , T.G. Batricia . 1996. Bacteria Bioassay of *Bacillus thuringiensis* against *Lepidoptera Larvae* in *Mannual of Techniques in insect pathology . Lawrence . A Lacey* ch. 3 : 93.
- Obeidat , M. Hassawi , D. Ghabeish . 2004. Characterization of *Bacillus thuringiensis* strains from Jordan and their toxicity to the *Lepidoptera* , *Ephestia Kuheniella*. *African Jornal of Biotechnology* , vol. 3 (11) 222-226.
- Ohba , M. and K. Aizawa . 1986. Distribution of *Bacillus thuringiensis* in soils of Japan. *J. Invertbr. Pathol.* 47 : 277-282.
- Paglietti , B., M. Mura , G. Scarpellieni , A. Satta and R. Prota. 1996. Isolation and characterization of *Bacillus thuringiensis* strains from Angola *Biotechnologia Aplicada Elfos Scienties* , vol. 13 , No. 2 : 45-60.
- Travers , R.S.P., P.A. W. Martin and C.F. Reichelderfer. 1987. Selective process for efficient isolation of soil. *Bacillus sp. Appl. Environ. Microbiol.* 53 : 1263-1266.