

تأثير بعض الاوساط الزرعية ودرجات الحرارة في حيوية الفطر *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. بعد مدد خزن مختلفة

Effects of some cultural media and temperatures on viability of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. after different storage periods

بلاسّم احمد عباس حسين مكطوف ديوان حيدر حميد نوار فاتن حمادة عبود

وزارة العلوم والتكنولوجيا-دائرة البحوث الزراعية/ مركز المكافحة المتكاملة للأفات الزراعية

Belsim Ahmed Abas Hussein Magtoff Diwan Heyder Hemid Faten Hemada About

Ministry of Science and Technology/ Agriculture Researches Directorate

المستخلص

هدفت هذه الدراسة الى اختبار تأثير تداخل بعض ظروف الخزن في النسبة المئوية لحيوية ابواغ الفطر *Beauveria bassiana* وتمثل هذا التداخل بحضن ابواغ الفطر في اربع اوساط زرعية ؛ المرق المغذي NB واجار دكستروز مستخلص البطاطا Potato extract dextrose agar وخليط من نخالة الحنطة مع كوالح الذرة بنسبة 1 : 3 مزودة بماء مقطر mixture of Wheat bran and corn cobs powder وماء مقطر DW كمعاملة سيطرة تحت اربع درجات حرارة ؛ درجة حرارة الثلجة 8-10 م° ودرجة حرارة المجمدة - 20 م° ودرجة حرارة المختبر 28 ± 2 م° ودرجة حرارة الحاضنة 35 ± 1 م° بعد ثلاث مدد من الخزن ؛ شهر وشهرين وثلاثة اشهر. بينت النتائج ان افضل مدة حافظت فيها ابواغ الفطر على حيويتها كانت بعد شهر من الخزن تحت الظروف الحرارية المختلفة في جميع الاوساط الزرعية اذ تراوحت نسبة الحيوية 56.4 – 85.1 % وان ظروف الثلجة على العموم كانت الافضل في المحافظة على حيوية الابواغ والتي تراوحت نسبة حيويتها 70.8 – 85.1 % و 51.3 – 76.9 % و 33.1 – 55.7 % بعد شهر وشهرين وثلاثة اشهر من الخزن على التوالي. كما اظهرت النتائج ان الوسط الزراعي WC هو الافضل من بين الاوساط الزرعية في المحافظة على حيوية ابواغ الفطر بعد ثلاثة اشهر من الخزن والتي بلغت نسبة حيويتها 55.7 % . ناحية اخرى انخفضت حيوية ابواغ الفطر بشدة بعد ثلاثة اشهر من الخزن في الاوساط الزرعية كافة وتحت مختلف الظروف الحرارية اذ تراوحت نسبة الحيوية لها 17.1 – 55.7 % وبدرجة اقل بعد شهرين من الخزن حيث تراوحت نسبة الحيوية للابواغ 36.2 – 76.9 %.

الكلمات المفتاحية: الاوساط الزرعية ، درجات الحرارة . *Beauveria bassiana*.

Abstract

This study aimed to evaluate the effects of interaction between different storage conditions on the viability of *Beauveria bassiana* spores. The test interaction involved incubating fungus spores in four media; Nutrient broth (NB), Potato extract dextrose agar (PDA), mixture of Wheat bran and corn cobs powder (WC) at the ratio 3: 1 supplied with distilled water and distilled water only as control under different temperature degrees ; Refrigerator temperature degree 8-10 C°, Freez temperature degree -20 C° , Lab temperature degree 28 ± 2 C° and Incubator temperature degree 35 ± 1 C° after three periods of storage ; one , two and three months. The results showed that the best period in which spores maintained their viability was one month of storage under different temperature conditions in all media whereas the percentage of the viability was 56.4 – 85.1% , the viability percentage was best at refrigerator were was 70.8 – 85.1% , 51.3 – 76.9% and 33.1 – 55.7% after one , two and three months of storage respectively. The results also showed that the WC was the best medium to maintain the percentage of spore viability after three months of storage which was 55.7%. On the other hand, the spore viability showed sharp reduction after three months of storage in all media at different temperatures whereas the percentage of viability was 17.1 – 55.7 % , at the second month a percentage of viability was 36.2– 76.9%.

Keyword: Beauveribassiana

المقدمة

يعد موضوع المحافظة على حيوية فطريات المكافحة الاحيائية خلال مدد الخزن الطويلة من القضايا المهمة التي حظيت باهتمام الباحثين [1]، حيث يعتبر خزن فطريات المكافحة الاحيائية احد المراحل الرئيسية التي ترافق انتاج المستحضرات الحيوية وتطبيقاتها في المكافحة الاحيائية [2,3]. ومن المشاكل التي تواجه قضايا الخزن هي مدى صلاحية استخدام تلك الفطريات المنتجة بعد خزنها لمدد طويلة في ظروف بيئية مختلفة اذ ان هذه الظروف قد لا تكون ملائمة لبقائها حية او على العكس من ذلك ان فقدها لنسب معينة من الحيوية بعد مدد خزن طويلة تكون عقبة امام ادخالها في المستحضرات الاحيائية لذلك فان المحافظة على حيوية كونيديات الفطريات الممرضة للأفات الحشرية تحت ظروف خزن معينة ومدد طويلة قد تتراوح بين ثلاثة اشهر الى ستة اشهر يعد امر مقبول به [4] واساسي لانتاج المستحضرات الاحيائية [5]، أي بمعنى آخر ان ضمان بقاء اللقاح لعوامل المكافحة الاحيائية حيا لمدة كافية تحت

ظروف الخزن هو احد الشروط الاساسية لتطبيق فكرة المكافحة الاحيائية ونجاحها وبناءا على ذلك فان الاخذ بنظر الاعتبار هذه النقاط يضمن فعالية ونجاح المستحضرات الفطرية وبالتالي يمكن تسجيلها ومصادقتها لدى الجهات المتخصصة كما يكون ذلك سببا لتشجيع المزارعين على استخدامها بصورة واسعة اذ ان نجاحها او فشلها مقرون من ناحية اخرى بقبول او عدم قبول المزارعين باستخدامها [4,2]. فبالاضافة الى ما بينه Roberts و Daoust [6] من ان بقاء كونيديات الفطر *Metarhizium anisopliae* حية بعد الخزن يعتمد على ظروف الخزن نفسها اكثر من الوسط الزراعي الذي انتجت عليه الكونيدات الا انه من ناحية اخرى اثبتت دراسات اخرى سابقة ان لنوع الوسط الزراعي ومكوناته دور في تحديد حيوية بعض ابواغ فطريات المكافحة الاحيائية تحت ظروف الخزن الطويلة، حيث وجد ان البلاستوسبوريات التي ينتجها الفطر *Beauveria bassiana* على الاوساط الزرع السائلة التي تحتوي على نسبة نايتروجين قليلة ونسبة كاربوهيدرات وكلايوجين وليبيدات عالية كما هو الحال في محلول Ringr المغذي تكون اكثر قابلية للبقاء حية في ظروف الخزن مقارنة بالبلاستوسبوريات التي ينتجها الفطر على الاوساط الزرع المفتقرة للكربون [7].

تهدف هذه الدراسة الى تقويم تأثير درجات الحرارة المختلفة في حيوية الفطر *B. bassiana* المنمى في اوساط زرع مختلفة وعلاقتها بفترة الخزن المختلفة.

المواد وطرائق العمل

الفطر *Beauveria bassiana*

استخدمت في هذه الدراسة العزلة الخامسة 5x من بين ستة عزلات للفطر *Beauveria bassiana* ، اذ تم الحصول على هذه العزلة من قسم الحشرات - مركز البحوث الزراعية - منظمة الطاقة الذرية العراقية سابقا سنة 2000 والتي مصدرها من الاردن .

تحضير اللقاح من الفطر *Beauveria bassiana*

لاجراء هذه الدراسة زرع الفطر *Beauveria bassiana* على الوسط الزراعي اجار دكستروز مستخلص البطاطا PDA في اطباق بتري سعة 9 سم وبعد عشرة ايام من الحضن نشأت عدد من المستعمرات الفطرية التي تم تقطيعها الى عدد من الاقراص باستعمال ثاقب فلين معقم ذات قطر 4 ملم .

تقويم حيوية الفطر *B. bassiana*

تم تقويم حيوية الفطر *B. bassiana* تحت ظروف الخزن المختلفة والذي تضمن اختبار تأثير بعض المكونات الغذائية وبعض الدرجات الحرارية المختلفة؛ - 20 و 8 - 10 و 28 ± 2 و 35 ± 1 م° و فترات خزن مختلفة؛ 30 يوم و 60 يوم و 90 يوم في حيوية ابواغ الفطر *Beauveria bassiana* اذ تم تحضير اربعة اوساط زرعية وهي؛ اجار سكروز مستخلص البطاطا (PDA) (17 غ اجار مع 10 غ سكروز مع مستخلص 200 غ من البطاطا مضاف الى 1000 مل ماء مقطر)؛ ونخاله حنطة مع كوالح ذرة WC بنسبة وزنية 1: 3 على التوالي مضاف له ماء مقطر بمقدار 100 مل/كغ من الخليط؛ والمرق المغذي NB ؛ عبارة عن ماء مقطر فقط (وسط سيطرة) . وضعت هذه الاوساط الزرعية في قناني زجاجية سعة 250 مل بمعدل 50 مل من الوسط الزراعي NB و PDA و Dw / قنينة و 50 غ من الوسط الزراعي WC/قنينة و 50 مل ماء مقطر/قنينة. عقت القناني الزجاجية الحاوية على الاوساط الزرعية في جهاز الموصدة لمدة ربع ساعة عند درجة حرارة 121 م وضغط 1 بار. وبعد الانتهاء من التعقيم بردت القناني الزجاجية تحت الظروف المختبرية. تم تقويم تأثير ظروف الخزن في حيوية الفطر *B. bassiana* باتباع طريقة Talwar [8] والتي تتلخص بتنمية الفطر في الاوساط الزرعية المختلفة الموضوعة في القناني الزجاجية المعقمة اذ تم اضافة اللقاح الفطري الى القناني الزجاجية بمعدل قرص فطري واحد / قنينة وبواقع ثلاثة مكررات/ معاملة. وللسمح بنمو الفطر *B. bassiana* في الاوساط الزرعية حضنت القناني الزجاجية جميعا تحت ظروف المختبر ، وبعد اسبوع من الحضن زودت القناني الزجاجية جميعا بمحلول توين 0.05 % بمعدل 30 مل/قنينة. ولغرض الحصول على معلق من ابواغ الفطر *B. bassiana* تم خلط الوسط الزراعي WC (الذي يحتوي على النمو الفطري) بواسطة قضيب معدني معقم تحت ظروف بيئية معقمة، كما امكن الحصول على معلق الابواغ للفطر *B. bassiana* من خلال تقنيت المستعمرات الفطرية النامية على الوسط الزراعي اجار دكستروز مستخلص البطاطا و اضافة الكمية نفسها 30 مل من محلول توين وذلك باستعمال ملعقة معدنية معقمة . اما فيما يخص القناني الزجاجية التي تحتوي على المزارع الفطرية في الوسطين الزرعيين المرق المغذي NB و الماء المقطر Dw فقد تم انتزاع الابواغ الفطرية من الكتلة الحيوية المتكونة للفطر وذلك من خلال رج القناني الزجاجية يدويا ومن ثم تم ترشيع المعلقات الفطرية المتكونة والمزارع الفطرية عبر اقماص بخنر معقمة دقيقة الثقوب (Germany و Borosilikat) وجمع الراشح البوغي / مزرعة فطرية في دورق زجاجي معقم وحسب معدل عدد الابواغ في مليلتر واحد لكل معلق بوغي باستعمال شريحة عد الابواغ Heamocytometer والمجهر الضوئي المركب. تم ضبط معدل عدد الابواغ في المعلق الفطرية عند 3.1 - 5.2 × 10³ بوغ/مل وذلك من خلال اضافة كميات مختلفة من الماء المقطر المعقم الى تلك المعلقات البوغية. تم حساب حيوية الابواغ للمعلقات الفطرية التي تم الحصول عليها بعد عملية ترشيع المزارع الفطرية وذلك باتباع طريقة Lacey [9] والتي تتلخص بتحضير عدد من اطباق بتري سعة 9 سم مجهزة بالوسط الزراعي PDA المعقم و اضافة المعلقات الفطرية (التي مصدرها من المزارع الفطرية التي تم ترشيعها عبر اقماص بخنر) اليها بمعدل 0.3 مل/ طبق اذ وزعت هذه الكمية اللقاحية على سطح كل طبق بصورة متجانسة باستعمال شريحة فحص مجهري معقمة . وحسب النسبة المئوية لحيوية ابواغ الفطر *B. bassiana* تم حضن الاطباق الملقحة جميعا عند درجة حرارة 29 ± 1 م° ولمدة ثلاثة ايام ثم حسب بعد ذلك عدد المستعمرات المتكونة على سطح كل طبق وافترض انها تمثل حيوية ابواغ الفطر 100%، فيما خزنت بقية القناني الزجاجية والتي تحتوي على النمو الفطري/ وسط زرع في ظروف المجمدة - 20 م° و التلاجة 8-10 م° والمختبر 28 ± 2 م° و الحاضنة 35 ± 1 م° وحسب معدل حيوية الفطر *B. bassiana* بعد كل فترة خزن وفق طريقة [9] المذكورة اعلاه بدلالة عدد المستعمرات الفطرية المتكونة على سطح كل طبق بتري مجهز بالوسط الزراعي PDA . تم حساب النسبة المئوية لحيوية ابواغ الفطر *B. bassiana* من قسمة معدل عدد المستعمرات المتكونة على الوسط الزراعي PDA بعد مدة خزن معينة عند درجة حرارة معينة على معدل عدد المستعمرات المتكونة على الوسط الزراعي PDA بعد اسبوع من الحضن عند درجة حرارة المختبر 100× .

التحليل الإحصائي

تم تحليل النتائج وفق برنامج Gen stat الجاهز عند مستوى احتمالية (p=0.05).

النتائج

اظهرت النتائج في جدول (1) وجود تباين بين المعاملات بعد شهر واحد من الخزن، ومع ذلك كان هنالك تقارباً بين النسب المئوية لحيوية ابواغ الفطر في الوسط الزراعي DW و NB و WC تحت ظروف المختبر والتي بلغت 72.9 و 71.2 و 74.6% على التوالي، كما اظهرت ابواغ الفطر تقوفاً معنوياً في حيويتها في ظروف التلاجة والمجمدة في الوسط الزراعي WC حيث بلغت نسبتها 85.1% و 77.1% على التوالي مقارنة بحيويتها ببقية الاوساط الزراعية تحت الظروف الحرارية نفسها كما تفوقت بهذه النسبة 85.1% معنوياً على ما يقابلها من نسب في الاوساط الزراعية الاخرى تحت الظروف الحرارية المختلفة.

جدول(1): حيوية ابواغ الفطر *Beauveria bassiana* بعد شهر واحد من الخزن في اوساط زراعية مختلفة تحت درجات حرارية مختلفة

LSD عند مستوى	النسبة المئوية لحيوية ابواغ الفطر بعد												الوساط الزراعية			
	ثلاثة اشهر			شهرين			شهر									
تدرجة حراره	المجمدة -20	درجة حراره	التلاجة 8±	الحاضنة 10±	المختبر 28	المجمدة -20	درجة حراره	التلاجة 8±	الحاضنة 10±	المختبر 28	المجمدة -20	درجة حراره	التلاجة 8±	الحاضنة 10±	المختبر 28	ماء مقطر DW
	C48.	A67.	D36.	B53.	B22.	A	C19.	A37.	D60	A79	B70.	B72				
	3b	6 b	2 b	5a	9 b	36.4	6b	9 a	.5 b	.3 b	1 a	.9 a				
						c										
	C42.	A76.	C45.	B55.	B25.	A43.	C	B28.	B56	A71	B56.	A71				مرق مغذي NB
	9c	9a	7a	5a	6b	6b	23.0	8b	.5	.5 c	4b	.2 b				
						a			c							
	A52.	A51.	B46.	C37.	C23.	A33.	D17.	B	B57	A70	B57.	B				PDA
	5 a	3 c	8 a	6c	1b	1d	1b	27.5	.1 c	.8 c	6 b	56.4				
								b				c				
																نخالة مع مسحو ق كوالج الذرة
	B54.	A66.	C44.	C47.	B33.	A55.	D24.	C28.	B77	A85	D67.	B74				
	1 a	5b	9a	9b	2a	7a	4a	4b	.1 a	.1 a	1 a	.6 a				

3.2

LSD عند مستوى معنوية 0.05

2

--

- الحروف المتشابهة تعني لا توجد فروق معنوية بين المعاملات (P=0.05).

- الحروف الصغيرة للمقارنة معنوياً بين المعاملات عمودياً

- الحروف الكبيرة للمقارنة معنوياً بين المعاملات أفقياً.

بالإضافة الى ذلك اظهرت النتائج في جدول (1) تفوق حيوية ابواغ الفطر معنوياً في جميع الاوساط الزراعية تحت ظروف التلاجة مقارنة بحيويتها في كل وسط زراعي تحت بقية الظروف الحرارية المختلفة باستثناء ما في الوسط الزراعي NB تحت ظروف المختبر التي سجلت فيها الابواغ نسبة حيوية 71.2% حيث لا تفوق معنوياً عن نسبة حيويتها 71.5% في نفس الوسط وتحت ظروف التلاجة. كما اظهرت النتائج في جدول (1) حصول انخفاض معنوي في نسبة حيوية ابواغ الفطر 56.4% تحت ظروف المختبر في الوسط الزراعي PDA وتحت ظروف الحاضنة 35 ± 1م° وظروف المجمدة في الاوساط الزراعية NB و PDA حيث بلغت (56.4 و 57.6%) و (57.1 و 56.5%) على التوالي.

بصورة عامة اظهرت النتائج في جدول (1) ان النسبة المئوية لحيوية ابواغ الفطر انخفضت بعد شهرين من الخزن تحت كل الظروف الحرارية وفي كل الاوساط الزراعية باستثناء ما في الوسط الزراعي BN تحت ظروف التلاجة التي كانت فيه نسبة الحيوية مرتفعة والتي بلغت 76.9%. كما استمر تفوق نسبة الحيوية للابواغ في ظروف التلاجة (51.3% - 76.0%) في كل وسط زراعي قياساً الى نسبة حيويتها في الاوساط الزراعية نفسها تحت بقية الظروف الحرارية المختلفة ما عدا ما في الوسط الزراعي PDA حيث بلغت نسبة حيوية الابواغ فيه 52.5% تحت ظروف المجمدة وهي لا تفوق بشكل معنوي عن نسبة حيويتها في الوسط نفسه تحت ظروف التلاجة حيث بلغت 51.3%.

على الرغم من الانخفاض العام في نسبة حيوية ابواغ الفطر *B. bassiana* في كافة الاوساط الزراعية وتحت مختلف الظروف الحرارية بعد ثلاثة اشهر من الخزن غير انه بينت النتائج في جدول (1) ان بعض هذه النسب كانت متفوقة معنوياً على البعض الآخر

كما هو الحال في الوسط الزراعي DW تحت ظروف المختبر والثلاجة اذ بلغت نسبة حيوية الابواغ 37.9 و 36.4% مقارنة بالنسب المئوية في الوسط الزراعي NB و PDA و WC تحت ظروف المختبر التي بلغت 28.8 و 27.5 و 28.4% على التوالي ومقارنة ما في الوسط الزراعي PDA تحت ظروف الثلاجة 33.1%. كما تفوقت الابواغ معنويا في المحافظة على حيويتها في الوسط الزراعي WC تحت ظروف الثلاجة مقارنة بحيويتها في الاوساط الزراعية كافة تحت الظروف الحرارية المختلفة حيث بلغت نسبتها 55.7% وجاءت صفة التفوق بالدرجة الثانية في الوسط الزراعي NB تحت ظروف الثلاجة حيث بلغت نسبة الحيوية 43.6% ومن ناحية اخرى انخفض مستوى حيوية ابواغ الفطر الى ادنى حد في الوسط الزراعي DW و PDA عند درجة الحرارة 35 ± 1 م° اذ بلغت نسبة الحيوية 17.1 و 19.6% على التوالي مقارنة ببقية النسب في بقية الاوساط تحت الظروف الحرارية كافة.

المناقشة

بصورة عامة تبين النتائج في كل جدول ان اختلاف النسب المئوية لحيوية ابواغ الفطر *B. bassiana* دليل على اختلاف مستوى تأثير تداخل ظروف الخزن (المكونات الغذائية للاوساط الزراعية ودرجة حرارة الخزن ومدة الخزن) في حيوية تلك الابواغ وان هذا التأثير قد ازداد واصبح اكثر وضوحا بعد ثلاثة اشهر من الخزن، اذ ان الانخفاض الشامل في النسبة المئوية لحيوية الفطر يعكس مدى التأثير السلبي لظروف الخزن على بقاء الفطر حيا. كما ان التقارب بين النسب المئوية لحيوية ابواغ الفطر في بعض الاوساط الزراعية وتحت بعض الظروف الحرارية تدل على حالة من التجانس في التأثير بهذه الظروف البيئية سواء كان هذا التأثير سلبي ام ايجابي. يتبين من النتائج في جدول (1) ان ابواغ الفطر *B. bassiana* حافظت على حيويتها في الاوساط الزراعية DW و NB و WC بعد شهر من الخزن تحت ظروف المختبر 28 ± 2 م° والحاضنة 35 ± 1 م° بل ان نسبة الحيوية للابواغ قد ازدادت في كافة الاوساط الزراعية تحت ظروف الثلاجة فيما انعكست الحالة تحت ظروف المجمدة اذ انخفضت نسبة الحيوية للابواغ بشكل كبير في كافة الاوساط مقارنة بطروف الثلاجة، كما يتبين من النتائج في جدول (1) ومقارنة مع النتائج التي تم تسجيلها بعد شهر من الخزن حصول انحدار شامل في جميع النسب المئوية لحيوية ابواغ بعد شهرين من الخزن ماعدا مافي الوسط الزراعي NB تحت ظروف الثلاجة التي ارتفعت فيها نسبة الحيوية الى 76.9%، واستمر هذا الانخفاض في حيوية الابواغ بشكل اكبر بعد ثلاثة اشهر من الخزن في اوساط زرع مختلفة وتحت ظروف حرارية مختلفة، جدول (1) غير انه يمكن اعتبار المحافظة على حيوية ابواغ الفطر بنسبة 55.7% بعد ثلاثة اشهر من الخزن هي افضل نتيجة يمكن الحصول عليها في الوسط الزراعي WC تحت ظروف الثلاجة مقارنة ببقية الاوساط الزراعية والظروف الحرارية قيد الدراسة واذا ما اخذ بنظر الاعتبار الكلفة الاقتصادية لهذا الوسط الزراعي الذي يتكون من مخلفات زراعية يمكن استغلالها لاغراض الخزن.

قد يحصل في بعض الاحيان ارتفاع في نسبة حيوية ابواغ الفطر بعد مدة من انخفاضها تحت نفس الظروف وقد يعزى السبب في ذلك الى حصول نمو فطري بمستوى معين وان كان غير محسوسا ومع ذلك سوف يتسبب عنه نشوء ابواغ ثانوية تزيد من نسبة الحيوية للفطر خصوصا اذا كانت هذه الظروف شبه ملائمة لحدوث مثل ذلك كما هو الحال تحت ظروف الثلاجة في الوسط الزراعي NB اذ ارتفعت نسبة الحيوية لابواغ الفطر من 71.5 الى 76.9% بعد شهرين من الخزن. كما بينت معظم الدراسات السابقة ان هنالك جملة من الاسباب التي تؤدي الى حصول اختلافات في نسبة حيوية ابواغ فطريات المكافحة الاحيائية قد يتعلق بعضها بنوع الابواغ التي تنتجها تلك الفطريات اذ ان البلاستوسبوريات التي ينتجها الفطر في الاوساط الزراعية السائلة تكون اكثر حساسية للظروف البيئية غير الملائمة مقارنة بالابواغ الهوائية التي ينتجها الفطر على الاوساط الزراعية الصلبة ولعل ما حصل من انخفاض عام في حيوية ابواغ الفطر *B. bassiana* في الاوساط الزراعية السائلة يعود الى وجود او نشوء البلاستوسبوريات والابواغ المغمورة التي تشابه من ناحية المظهر الابواغ الهوائية وكان ذلك واضحا في الوسطين الزراعيين DW و NB بعد شهرين من الخزن تحت ظروف المجمدة التي بلغت فيهما نسبة الحيوية 48.3 و 42.9% على التوالي فيما كانت الابواغ الهوائية في الوسطين PDA و WC اكثر تحملا لظروف الانجماد اذ بلغت نسبة الحيوية لها 52.5 و 54.1% على التوالي، كما يمكن القول ان سبب الاختلاف في مستوى تحمل ابواغ الفطر *B. bassiana* للدرجات الحرارية الواطنة او المرتفعة ربما يعود الى وجود او عدم وجود بعض المواد الكربوهيدراتية Polyols في تلك الابواغ المنتجة في الاوساط الزراعية المختلفة، اذ ان هذه المواد تلعب دورا مهما في حماية الابواغ من الظروف البيئية المتطرفة

وخصوصا سكر التريهالوز المعروف بقبليته في المحافظة على حيوية بعض الكائنات الدقيقة من خلال تخفيف الضرر الفسيولوجي الناشيء من صدمة الارتفاع او الانخفاض المفاجئ في درجات الحرارة [10,11,12]، وقد لوحظ ذلك من خلال ما بينه Hallsworth و Mogan [12] اثناء دراستهم لتأثير عدد من الدرجات الحرارية؛ 5 و 10 و 15 و 20 و 25 و 30 و 35 و 40 في مستوى تجمع الاريزيتول والارابيتول والمانيتول والتريهالوز في ابواغ الفطر في الوسط الزراعي SDA ان هذا المستوى من التجمع يتناقص عند درجة حرارة اقل من 14 م° ويكون عاليا عند درجة حرارة 20 او 25 م° كما يكون تركيز التريهالوز والكليسرول والاريزيتول في ابواغ الفطر عاليا خلال مدة 30 يوما من حضن الفطر *B. Bassiana* عند 25 م° ويقل هذا التركيز بعد هذه المدة بالاضافة الى ذلك يمكن ادراج ما يحصل من تغيرات داخلية في الاوساط الزراعية نتيجة النشاط الايضي للفطر طيلة مدد الخزن سببا اخر يضاف الى جملة من الاسباب التي تؤدي الى التقليل من نسبة حيوية ابواغ الفطر تحت ظروف حرارية معينة نتيجة تكون او تزايد تركيز بعض المواد الثانوية المفترزة من قبل الفطر التي لها تأثير سمي على حيوية الابواغ وتجسد ذلك بصورة واضحة في نتائج خزن الابواغ في الاوساط الزراعية المختلفة تحت ظروف المختبر والحاضنة التي تكون فيها فرصة نمو الفطر اكبر مما تحت ظروف المجمدة والثلاجة.

Reference

1. Koln, S. A. (2001). Investigations on the effect of entomopathogenic fungi on whiteflies. Thesis Institut für Pflanzenkrankheitender Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn Genehmigte Inaugural-Dissertation zur Erlangung derDoktorwürde derAgrarwissenschaften der Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät.

2. Burges, H. D. (1998). Formulation of Microbial Biopsticides. Kluwer Academic publishers. London, U.K. 412pp.
3. Tamuli, A.K and G.Gurusubramanium. (2011). Entomopathogenicity of white Muscardine Fungus *Beauveria bassiana*(Balls.) Vuill. (Deuteromyotina: Hyphomycetes) (BBFF-135) Against *Odontotermes* (Rambur) (Isoptera: Termitidae). *Biolog. Environ. Sc.* 7: 118-125.
4. McClatchic, G. V., Moore, D., Bateman, R. P. and Prior, C. (1994). Effects of temperature on the viability of the conidia of *Metarhizium flavoviride* in oil formulations. *Mycolo. Res.* 98 : 749-756.
5. Daoust, RA, Roberts, DW. (1983). Studies on the prolonged storage of *Metarhizium anisopliae* conidia: effect of temperature and relative humidity on conidial viability and virulence against mosquitoes. *Journal of Invertebrate Pathology.* 41: 143-150.
6. Lane, B.S., Trinci, AP. & Gillespie, AT. (1991). Endogenous reserves and survival of blastospores of *Beauveria bassiana* harvested from carbon- and nitrogen-limited batch cultures. *Mycological Research.* 95: 821-828.
7. Talwar, B. H. (2005). Isolation and characterization of entomopathogenic fungi and their effectiveness. Thesis submitted to the University of Agricultural Sciences, Dharwad in partial fulfillment of the requirements for the Degree of Doctor of Philosophy in agricultural microbiology.
8. Lacey, A. L. (1997). Manual of techniques in insect pathology. Academic press, New yourk 410 pp.
9. Kandror, O., DeLeon, A., and Goldberg, A. L. (2002). *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99: 9727–9732.
10. Diniz-Mendes, L., Bernardes, E., de Araujo, P. S., Panek, A. D., and Paschoalin, V. M. (1999) *Biotechnol. Bioeng.* 65:572–578.
11. Sahara, T., T. Goda, and S. Ohgiya. (2002). Comprehensive Expression Analysis of Time-dependent Genetic Responses in Yeast Cells to Low Temperature *J. Biolog. Chemist.* 277: 50015–50021.
12. Hallsworth, JE. and N. Magan. (1996). Culture Age, Temperature, and pH Affect the Polyol and Trehalose Contents of Fungal Propagules. *App. Environ. Microbiol.* 62:2435-2442.