تأثير البكتيريا الممرضة *Bacillus thuringiensis* في بعض المقاييس الحياتية لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* (Diptera : Tephritidae)

عدنان نعمة عبد الرضا* **عمار أحمد سلطان**** **إدريس صالح جليل***

*قسم علوم الحياة, كلية التربية للعلوم الصرفة, جامعة ديالى.

**قسم علوم الحياة, كلية التربية للعلوم الصرفة, جامعة ديالى.

الخلاصة

تضمنت هذه الدراسة عزل البكتيريا الممرضة *Bacillus thuringiensis* من مصادر بيئية مختلفة في محافظة ديالى وتشخيصها بالطرق الكيميائية الحيوية ،أذ جمعت 51 عينة لهذه البكتيريا من (حدائق و ترب زراعية و غير زراعية) وكذلك عينات الماء ،لخمس أقضية في محافظة ديالى (بعقوبة ، الخالص، المقدادية ،خانقين، بلدروز) للفترة من 1 \ 9 \ 2014 لغاية 20\ 11 \ 2014.أظهرت نتائج التشخيص الكيميائي الحيوي وجود اربع عينات وبنسبة 7.8% كانت ذات نمو سالب للزرع البكتيري و 46 عينة وبنسبة % 90.1 كانت ذات نمو موجب للزرع البكتيري وتبين أن 41 عينة منها وبنسبة 80.3% تعود للجنس *Bacillus* وللنوع *thuringiensis* ووصلت نسبة البكتيريا المعزولة من الترب الزراعية 94% ومن ترب الحدائق 93% و من عينات الماء 75%، ومن الترب غير الزراعية 44%. أظهرت نتائج اختبار تأثير المستحضر الحيوي لهذه البكتيريا على البيوض بعمر (1-2) يوم كان معنوياً إذ بلغ أعلى معدل فقس البيض (3.2) وبنسبة(89%) عند تركيز 1غم/لتر من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B. thuringiensis* وأقل معدل فقس البيض (0.6) وبنسبة(19 %) عند تركيز 5,4 غم/لتر من المستحضر الحيوي *B. thuringiensis* مقارنة بمعاملة السيطرة(3.2) وبنسبة (96%) ، وأظهرت نتائج اختبار تأثير المستحضر الحيوي لهذه البكتيريا على يرقات الطور الأخير كان معنوياً إذ بلغ أعلى معدل هلاك (2.0) وبنسبة(99%) عند تركيز 5غم /لتر من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B. thuringiensis* وأقل قيمة معدل هلاك (0.5) وبنسبة(26%) عند تركيز 1غم /لتر من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B. thuringiensis* مقارنة مع معاملة السيطرة (0.07) وبنسبة(3%).

الكلمات المفتاحية : بكتيريا *B. thuringiensis*، ذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* ،المكافحة الحيوية

تأثير البكتيريا الممرضة *Bacillus thuringiensis* في بعض المقاييس الحياتية لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliates* (Diptera : Tephritidae)

عدنان نعمة عبد الرضا عمار أحمد سلطان إدريس صالح جليل

The Effect of Pathogenic Bacteria *Bacillus thuringiensis* on some Biological Parameters for *Dacus ciliatus* *(Diptera : Tephritidae)*

Adnan Neama Al Azawy* , **Ammar Ahmed Sultan****, **Idriss Saleh Galeel***

*Department of Biology, College of Education Pure Sciences, Diyala University

**Department of Biology, College of Education Pure Sciences, Diyala University

Received 12 October 2015 ; Accepted 24 January 2016

Abstract

This study included the isolation of pathogenic bacteria *Bacillus thuringiensis* from different environmental sources in Diyala province, diagnosis biochemical ways, Mar 50 samples of the bacteria collected from different soils, namely, (agricultural soils and garden soils and non-agricultural soils) as well as from the water, from five districts in the province of Diyala (Baquba, Khalis, Muqdadiyah, Khanaqin, Balad Ruz) for the period from 1 \ 9 \ 2014 to 20 \ 11 \ 2014. the biochemical results Showed diagnosis and the presence of four samples and by percent 7.8% It was of a negative for transplantation bacterial and 46 sample growth by percent 90.1% It was of a growth positive for transplantation bacterial and found that 41 samples of which by percent 80.3% belong to the genus *Bacillus* and the species of *Bacillus thuringiensis* and the percentage of bacteria isolated of agricultural soils 94% and soils garden 93% and water 75%, and soils non-agricultural 44%. The results of test the effect of bio-preparation of these bacteria on the eggs of age (1-2)was significant, Since the highest rate of hatchling (1-2) and by (89%) at a concentration of 1 g / l of bio- preparation for the bacteria *B. thuringiensis* and lowest hatchling (0.6) and by (19%) at a concentration of 5 g / L of bio- preparation *B. thuringiensis* in comparison with control (3.2) and by (96%), and The results of test the effect of bio-preparation of these bacteria on the last larval phase was significant, The

highest the value of the rate of highest (2.0) and by (99%) at a concentration of 5 g / L of bio- preparation for the bacteria *B. thuringiensis* and The less the value of the rate of loss (0.5) and by (26%) at 1g / L of bio- preparation for the bacteria *B. thuringiensis* concentration compared with the control treatment (0.07) and by (%3).

key words: bacteria Bacillus thuringiensis, fruit fly cucurbits *Dacus ciliatus* ,Biocontrol

المقدمـــــــة

العائلة القرعيـة عرفت باسم Cucurbitaceae ويطلق على محاصيل الخضر التابعة لها اسم القرعيات Cucurbits ومعظمها من المحاصيل الحولية ، إذ يعد البطيخ والخيار وقرع الكوسة من أهم محاصيل الخضر التابعة لها في المنطقة العربية بشكل عام وفي العراق بشكل خاص، وبموجب الإحصائيات لعام 2007 المساحات المزروعة في العراق من البطيخ والخيار بلغت44.05 و 49.95 ألف هكتار على الترتيب ، وتميز العراق بأنه أكثر البلدان العربية زراعة للخيار وثاني بلد عربي في زراعة البطيخ بعد مصر ، وتشير الإحصائيات نفسها إن الإنتاجيـة من البطيخ والخيار بلغت 11882 و6954 كغم/هكتار على الترتيب ، أما مجمل الإنتاج من البطيخ والخيار فبلغا 523.40 و 347.35 ألف طن على الترتيب (**1**). تعد عائلة ذباب ثمار القرعيات (Family:Tephritida) من أهم العوائل التي تضم أنواعاً ذات اهمية اقتصادية خاصة على ثمار الفاكهة والخضر في المناطق استوائية وشبة استوائية وتسبب خسارة تتراوح بين 30-70%من الحاصل (**1،2،3**) يوجد حوالي اكثر من 4000 نوع يعود الى هذه العائلة يعود الى SubFamily:Dacine ومن بين اهم اجناسها*Dacus* و*Bactorcera* الذي يعود لهما اكثر من 50 نوعاً من انواع الذباب الاشد ضرر بثمار الخضر العائلة القرعية فضلا عن انواعها البرية الأخرى مثل الحنظل البري *Citrullus colocynthus schard* ولليف*Luffa eaegyptiaca Miller* (**4**)، من انواع ذبابة الفاكهة المهمة في العراق ذبابة ثمار القرعيات او ذبابة الفاكهة الاثيوبية *Cucurbit Ethiopian fruit fly* or *Dacus ciliatus* التي سجلت من قبل (**5**) باتت هذه الذبابة عائقا لتقدم زراعة محاصيل العائلة القرعيات في معظم بلدان أسيا وأفريقيا ومنها العراق خاصة بعد ظهورها لأول مرة فيه عام1988 في منطقتي الكوت والعمارة وتشخيصها على ثمار القرعيات(**6**). تعتبر ذبابة ثمار القرعيات *D.ciliatus* التي تنتمي إلى عائلة الذباب الحقيقي من الآفات الرئيسة على محاصيل العائلة القرعية (**7**). ولهذه الحشرة انتشار واسع في مناطق مختلفة من العالم فهي تنتشر في العديد من الدول الأفريقية ومنها مصر والكاميرون وأثيوبيا وغينيا ونيجيريا وزامبيا وجنوب افريقيا والسودان وكذلك تنتشر في العديد من دول آسيا ومنها بنغلادش ، والهند ، وإيران ، والباكستان ، والمملكة العربية السعودية واليمن(**8**) ، وبسبب الزراعة الواسعة لثمار القرعيات في العراق خاصة وإنها تزرع مرتان في السنة ، ولملائمة الظروف المناخية لمعيشة الحشرة ، ولعدم وجود الأعداء الحيوية لها أو قلتها كل هذه العوامل أدت إلى انتشار هذه الحشرة وازدياد أضرارها على ثمار العائلة القرعية

وبالتالي زيادة معاناة المزارعين بسبب شدة إصابتها لثمار القرعيات في معظم محافظات القطر ملحقة أضراراً كبيرة بسبب تغذية اليرقات على الثمار إذ تفضل هذه الحشرة قرع الكوسة وخيار القثاء وبدرجة اقل خيار الماء والقرع العناكي من خلال درجة إصابتها لهذه الثمار (**2**) مما يؤدي إلى تعفنها ورداءة نوعيتها وبالتالي صعوبة تسويقها وإزاء هذا الواقع ولوضع حلول ناجحة وشاملة لمشكلة ذبابة ثمار القرعيات التي يعاني منها المزارعون في مختلف مناطق العراق حيث استعملت في البداية المبيدات الكيميائية بشكل رئيس ، وبسبب ما لهذه الطريقة من تأثيرات سلبية على النظام البيئي إذ تشكل اليوم احد عناصر التلوث المهمة في البيئة (**9**) وإخفاقها في السيطرة التامة على الآفات وبالأخص الحشرية منها ولاسيما تلك التي تقضي بعض ادوار حياتها داخل أجزاء النبات (**10**) ، مثل ذبابة ثمار القرعيات الأمر الذي شجع على استعمال طرائق أكثر أمناً وغير ملوثة للبيئة ونظراً للانتشار السريع لهذه الآفة في العراق فقد اصبحت خطراً يهدد ثمار القرعيات التي تسهم اسهاماً فعالاً في سد جزء كبير من الاحتياجات الغذائية للشعب العراقي ، ولعدم جدوى استعمال المبيدات الكيميائية في الحد من اضرارها ، إضافة لقدرة هذه المبيدات على تلويث النظام البيئي ،فقد ينتج عن ذلك تأثيرات سلبية على الأنسان والحيوان وظهور سلالات حشرية متحملة لفعل هذه المبيدات، مما يؤدي للبحث عن وسائل بديلة اكثر أمانا من الناحية الصحية واقل ضرراً على النظام البيئي (**11**). لذا اتجهت الانظار نحو استخدام الوسائل الحيوية في مجال مكافحة الآفات الحشرية باستخدام الممرضات الحشرية ومن بينها البكتيريا ومن أهمها البكتيريا المنتجة للبروتينات البلورية *Bacillus thuringiensis* (**12**) اكتشفت البكتيريا الممرضة للحشرات *Bacillus thuringiensis* لأول مرة في اليابان عام 1901على يد العالم الياباني Ishiwata Shigetane كمسبب مرضي sotto-disease لدودة القز ثم سجلت من قبل العالم الأحيائي ألالماني Ernst Berliner سنة 1911 حيث عزلها من يرقات عثة طحين البحر الأبيض المتوسط *Anagasta Kuehniella* كمسبب مرضي لدودة الحرير *Bombyx mori* وهي بكتيريا عصوية موجبة لصبغة كرام ومكونه للسبورات (**13**،**14**). ونتيجة لامتلاك البكتيريا *Bacillus thuringiensis* القدرة على أنتاج البلورات البروتينية Crystal Proteins(Cry) التي تكون مسؤولة عن صفة السمية للحشرات حيث تنتج هذه البكتيريا الكثير من عوامل الضراوة مثل بروتينات المبيدات الحشرية الخضرية vegetative insecticidal proteins والسموم الداخلية دالتا -delta endotoxinsوانزيم chitinase ، والتنوع في أنتاج هذه العوامل المختلفة جدا بين الأنماط المصلية العائدة لبكتيريا *Bacillus thuringiensis* ، وأحياناً تختلف بين العزلات العائدة للنمط المصلي نفسه لذا ركزت البحوث حول استخدام هذا النوع البكتيريا في مجال السيطرة البيولوجية بوصفها مبيداً للآفات الزراعية (**15**) . أهم ميزة لهذه البروتينات هي إمراضيه للحشرات وكل بروتين بلوري لديه مضيف مميز. وصنفت البروتينات البلورية المبيده للحشرات اعتماداً على نشاط البروتينات البلورية القاتلة للحشرة على سبيل المثال CryI متخصصة لرتبة حرشفية الأجنحة (Lepidopter- specific), CryII متخصصة لرتبة حرشفية وثنائية الأجنحة (Lepidoptera & Diptera-specific), CryIII متخصصة لرتبة غمدية الأجنحة (Coleoptera-specific), CryIV متخصصة لرتبة ثنائية الأجنحة (Diptera-specific), (**16**). كان أول استخدام لبكتيريا *B.thuringiensis* على النطاق

التجاري سنة 1920 للسيطرة الاوربية على حفار ساق الذرة ***Sesamia cretica*** في اوربا (**17**) واستخدمت في فرنسا لأول مرة كمبيد حشري عام 1938م وسجلت تجاريا ً في الولايات المتحدة عام 1961م (**18**) امتازت مستحضرات*B. thuringiensis* بالتخصص الدقيق وتدني كلفة الانتاج وعدم احداثها تلوث بالبيئة ولا تترك متبقيات في التربة ولا تضر بالأعداء الحيوية لكونها مبيدات متخصصة في تأثيرها وغير سامة للزواحف واللبائن والبرمائيات(**19**). نظراً لما تقدم من أهمية ذبابة ثمار القرعيات *D.ciliatus* ولعدم وجود دراسات حول أستخدام البكتيريا الممرضة للحشرة *B. thuringiensis* أو قلتها في السيطرة عليها ولكون المبيدات الكيميائية غير كفؤة في القضاء على الحشرة وكذلك لكونها ملوثات بيئية لذا أقترح موضوع الدراسة ليشمل الجوانب الأتية:

أولا: امكانية عزل البكتيريا الممرضة *B. thuringiensis* وتشخيصها من نظم بيئة مختلفة وتوصيفها بواسطة بعض الأختبارات الكيميائية حياتية .

ثانيا: دراسة تأثير البكتيريا الممرضة *B. thuringiensis* في بعض المقاييس الحياتية لذبابة ثمار القرعيات *D.ciliatus*.

المواد وطرائق العمل

العزل والتشخيص

اخذت العينات التربة والمياه من خمسة اقضية تابعة لمحافظة ديالى(بعقوبة ، الخالص، المقدادية، بلدروز، خانقين) خلال الفترة من(1 \ 9 \ 2014 لغاية 20 \ 11 \ 2014) .اخذ 20غم من التربة باستعمال ملعقة الى كيس نايلون معقم احكم غلقة مع تثبيت المعلومات التالية علية :اسم المنطقة، طبيعة الارض وتاريخ اخذ النموذج أما بانسبة لعينات الماء فجمعت بواسطة قنينة معقمة واخذت العينات من مسافة 2-3سم من سطح الماء وبعدها حفظت العينات الماء والتربة بالثلاجة لحين استعمالها واجراء عملية العزل. شملت العينات من نظم بيئية مختلفة (تربة زراعية ، تربة حدائق، تربة غير زراعية ، شواطئ) . أن الطريقة التي زرعت بها العينات حسب طريقة (**19**) ، وذلك بالاعتماد على انبات الابواغ ومن ثم قتل الخلايا الخضرية بالمعاملة الحرارية والتي اجريت كالتالي :نقل 0.5 غم من نماذج التربة البالغة (42) الى دورق مخروطي بحجم 125 مل يحتوي10 مل من المرق المغذي Nutrient broth الحاوي على 0.25 مول خلات الصوديومSodium acetate [pH 6.8] ، وضعت الدوارق في حاضنة هزازة 250 دورة/دقيقة على درجة حرارة 30°م ولمدة اربعة ساعات يتم من خلالها انبات جميع الابواغ باستثناء ابواغ بكتيريا *B.thuringiensis* والذي يثبط انبات ابواغها هو التركيز المستعمل من خلات الصوديومSodium acetate .عوملت العينات مباشرة على درجة حرارة 80°م لمدة ثلاثة دقائق لقتل جميع الخلايا الخضرية الناتجة من انبات الابواغ بالإضافة الى الخلايا الخضرية الموجودة اصلا ً.نقل 0.1 مل من المعلق المعامل حراريا ً وزرع على الوسط الزرعي Agar Nutrient في اطباق بتري وحضنت على درجة 30°م لمدة 48 ساعة ، فحصت بعدها المستعمرات واجريت عليها عملية تنقية للمستعمرة التي اظهر الفحص المجهرية انها *B.thuringiensis* وحفظت بالثلاجة لحين اجراء بقية الاختبارات عليها.

ما بأنسبة لعينات الماء البالغ عددها ثمانية عينات اجريت سلسلة من التخافيف لعينات الماء(10^{-1}- 10^{-6})،وبعدها اخذ 1مل من التخفيف 10^{-3} و10^{-4} الى دورق مخروطي بحجم 125 مل يحتوي10 مل من المرق المغذي Nutrient broth الحاوي على 0.25 مول خلات الصوديوم [*pH* 6.8] واجريت عليها عملية العزل بنفس الخطوات التي عزلت بها عينات التربة. تم تشخيص العزلات البكتيرية مبدئياً اعتماداً على الصفات المظهرية وتضمنت شكل المستعمرات ولونها وقوامها ورائحتها وحجمها وأخضعت العزلات الى الفحص المجهري بإستخدام صبغة غرام وصبغة الملكايت للتعرف على شكل البكتريا والسبورات وترتيبها وتفاعلها مع صبغة غرام وصبغة الزرقاء البراقة Coomassie brilliant blue وصبغة Carbol fuchsin للتحري عن وجود البروتينات البلورية crystal protiens وهي الصفة المميزة لبكتيريا *B.thuringiensis* التي تميزها عن بقية الانواع *Bacillus* واستخدمت لتشخيص العزلات ايضا الفحوصات الكيموحيوية المختلفة بحسب(**20**) كأختبار أنزيم الكاتاليز, وأنزيم الاوكسيديز , والاندول , وأستهلاك السترات , والحركة , واليوريا, تحلل النشأ و فوكس بروسكاور (VP) واحمر المثيل MR و اختزال نترات و لأنتاج انزيم حال الدم Hemolysin واختبار التخمر/واكسدة والنمو في تركيز ملحي 7% وهي ايضا صفة مميزة لها

- **مراحل إنتاج المستحضر الحيوي**

يتم تحضير الوسط تخمري من جريش بذور الشعير لكونه وسطاً ملائماً لنمو البكتيريا بحسب ماجاء في (**21**) وكما يأتي:-

- تم تهيئة 200غم من جريش بذور الشعير وتم وضعها في دورق سعه 1لتر وثم أكمل لحجم الى 1000 مل الماء المقطر معقم ويترك لمدة 24 ساعة .
- رشح المزيج بواسطة قطعة شاش نظيفة ومعقمة.
- اخذ الراشح ووضع فيه 20 غم من سكر السكروز.
- عقم الوسط التخمري بجهاز الموصد(Autoclave) في درجة حرارة121°م وتحت ضغط 15جو ولمدة 20 دقيقة ثم برد.
- ووضع المضاد Amoxicillin بتركيز 20 ملغم/لتر.

لقح الدورق ب50 مل من عالق البكتيري المنماة على الوسط المرق المغذي ، ثم حضنت بدرجة 35م°ولمدة 48 ساعة ،بعدها حضرت سلسلة من التخافيف (10^{-1} -10^{-6}) في أنابيب اختبار زجاجية معقمة ، ثم زرع 1مل من العالق المخفف(10^{-6}) على آغار المغذي بدرجة 35°م ولمدة 48 ساعة . حسبت المستعمرات النامية في الأطباق واستخرجت كثافة البكتريا بحسب معادلة(**22**) كالآتي عدد المستعمرات النامية في 1غم لقاح بكتيري= معدل المستعمرات النامية في الطبق× مقلوب التخفيف. اخذ 100غم من كاربونات الكالسيومCaco3 لكون مادة كاربونات الصوديوم كمادة حاملة للقاح البكتيري *B.thuringiensis* وعقمت بفرن كهربائي (Oven) في درجة حرارة 160°م لمدة ساعة، تركت لتبرد

ثم وضعت في أواني ضحلة معقمة ووضع 100مل من الوسط التخمري المعد مسبقا والحاوي على البكتيريا بعمر 48 ساعة. بعدها نقلت الأواني الى فرن كهربائي(Oven) بدرجة 35°م ولمدة خمسة أيام لحين جفافها جيدا ًبعدها تم طحن المسحوق المحمل علية البكتيريا في غرفة معقمة (Hood)(**21**).

- **تربية ذبابة ثمار القرعيات (Loew) *Dacus ciliatus***

جمعت ثمار قرع الكوسة وخيار الماء المصابة بذبابة ثمار القرعيات من الاراضي الزراعية لمحافظة ديالى, ولغرض تربية الحشرة وضعت الثمار المصابة المجموعة من الاراضي الزراعية بأقفاص مصنوعة من الزجاج العضوي إبعادها (60×60×60 سم) مفتوحة من الأعلى وكل منها مغطى بقماش من الململ وذو باب جانبي للتعامل مع الحشرات ، وثبتت على ارضية من الخشب الفايبر سمكه 2سم كمافي صورة رقم1 وفرشت أرضية الأقفاص بمسحوق كوالح الذرة لكي يمتص السوائل التي تخرج من الثمار المصابة وكذلك لكي تتعذر فيه اليرقات كما زودت الأقفاص بأطباق بتري صغيرة تحوي على خليط من خميرة الخبز الجافة مع سكر المائدة وكانت كمية الخميرة إلى كمية سكر المائدة 1 غم خميرة الخبز : 3 غم سكر المائدة ، تعد الخميرة مصدر بروتيني للإناث (**23,24**) وكذلك لتحسين نشاط الذكور(**25**)، كما وضعت أطباق بتري أخرى تحوي على قطعة قطن مرطبة بالماء المقطر لتوفير مياه الشرب للحشرة ولضمان نسبة رطوبة ملائمة مثلى 60 ± 10 % داخل الأقفاص ، وتستبدل الثمار التالفة بأخرى غير مصابة وكذلك الماء والغذاء كل ثلاثة أيام وذلك لإدامة المستعمرة ، وبعد ذلك نقلت الأقفاص إلى غرفة التربية التي كانت إبعادها (4 X 2.8 X 4) م ومجهزة بمكيف هواء وشمعات إضاءة مثبتة على جهاز منظم وقت الاضاءة حيث تكون 16 ساعة اضاءة و8 ساعات مقياس للرطوبة والحرارة ووضعت في زوايا الغرفة اواني بلاستيكية مملوءة بالماء لضمان الرطوبة المناسبة إذ كانت درجة حرارة الغرفة 27 ± 2° م والرطوبة النسبية كانت 60 ± 10 %(**26**).

صورة رقم (1):صناديق التربية

اختبار فاعلية المستحضر الحيوي *B.thuringiensis* على الادوار المختلفة لذبابة القرعيات *Dacus ciliatus* (Loew)

- **تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا Bt في نسبة فقس البيض بعمر(3-4) يوم لذبابة ثمار القرعيات *D.Ciliatus*:-**

وضعت 10 بيوض بواقع 3 مكررات لكل من التخافيف (1،2،3،4،5) غم من المستحضر الجاف/لتر ماء معقم على شرائح قرع ثم رشت بوساطة قنينة رش يدوية سعة (50 مل) معقمة بالكحول بمعدل 1مل محلول مستحضر وبحسب التراكيز المستعملة، حتى تنقع البيوض وقرعة بشكل كامل, ثم نقلت بوساطة ملقط معقم إلى أطباق بتري قطر(9 سم). تمت متابعتها يومياً لمعرفة نسبة فقس البيض ومقارنتها بمعاملة السيطرة التي رشت بمحلول المادة الحاملة (كاربونات الكالسيوم) فقط.

- **تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا Bt في تطور يرقات الطور الأخير لذبابة ثمار القرعيات *D.Ciliatus*::-**

جمعت يرقات الطور الأخير من خلال تشريح القرع المصابة في أقفاص التربية في أطباق بتري معقمة واستعمل مشرط معقم للتشريح . تركت اليرقات في الأطباق مدة 24 ساعة قبل المعاملة , ورشت شرائح قرع بالتخافيف (1،2،3،4،5) غم من المستحضر الجاف/لتر ماء بواقع ثلاثة مكررات لكل تخفيف, بوساطة قنينة رش يدوية معقمة سعة (50 مل) حجم الرشة (1 مل) بحيث تغطي جميع جوانب الشريحة قرع ثم نقلت بوساطة ملقط معقم الى أطباق بتري معقمة. ووضعت فوق كل شريحة قرع عشرة يرقات بواقع ثلاثة مكررات لكل تخفيف, وأغلق الطبق إغلاقاً محكماً لمنع هروب اليرقة. فحصت الاطباق يومياً لحين تحول اليرقات الى عذارى وبزوغ البالغات ومقارنتها بمعاملة السيطرة التي رشت بمحلول المادة الحاملة (كاربونات الكالسيوم) فقط.

التحليل الاحصائي

حللت البيانات احصائياً باستخدام التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design(C.R.D). حيث درس فيه تأثير المعاملات على الصفات المدروسة(التأثير في نسبة قتل الادوار المختلفة و في معدل عدد البيض الملقى من قبل البالغات المعاملة) اختبرت معنوية الفروق باستعمال اختبار **(L.S.D)** Least significant different. عند مستوى معنـوية $p \leq 0.05$. (**27**).علماً أن النسب المئوية لموت اليرقات صححت اسناداً الى معادلة أبوت (**Abbott formula**) المعروفة بأسم **(Schneider- Orelli formula)**(**28**) والتي تنص:

$$\text{الهلاك\%} = \frac{\text{الهلاك في المعاملة} - \text{الهلاك في السيطرة}}{100 - \text{الهلاك في السيطرة}} \times 100$$

النتائج والمناقشة

بلغ العدد الاجمالي للعينات 51 عينة ، أظهرت أربع عينات وبنسبة (7.8%) نمواً سالب للزرع البكتيري و 46 عينة وبنسبة (90.1%) نمواً موجباً للزرع البكتيري عزلت منها 41 عزلة و بالنسبة (80.3%) تعود للجنس *Bacillus thuringiensis* التي جمعت من نظم بيئية مختلفة شملت (تربة زراعية وتربة حديقة وتربة غير زراعية والماء). توزعت العزلات على وفق ما ذكر في الجدول (1) .

جدول (1) : النسبة المئوية للعزلات الموجبة لصبغة الزرقاء البراقة (CCB) المعزولة من نظم بيئية مختلفة .

مصدر العزل	عدد العينات	العزلات الموجبة لصبغة الزرقاء البراقة (CCB)	النسبة المئوية %
تربة زراعية	17	61	94.1
حدائق	15	41	93.3
الماء	8	6	75
تربة غير زراعية	10	5	50
المجموع الكلي	51	41	80.3

جمعت العينات من نظم بيئية مختلفة لغرض معرفة مدى أنتشار البكتيريا *B.thuringiensis* و معرفة المدى الأمراضي لهذه البكتريا ودورها في قتل ذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* ، والتحري عن انتاجها للبروتينات البلورية المبيده للحشرات (ICP) وما يترتب على ذلك من إجراءات تشخيصية. تم تشخيص العزلات البكتيرية إعتماداً على الصفات المجهرية للخلايا البكتيريه و الصفات المزرعية للمستعمرات و تم بعد ذلك تشخيصها حتى الجنس و النوع بأتباع الفحوصات الكيميائية الحيوية الخاصة بها (**29**). ،وكانت المستعمرات بعضها خشنة rough، بيضاء اللون white ،منتشرة على طبق ، وبعضها بيضاء منتشرة وحافاتها متموجة wavy وبعضها دائرية وبيضاء وخشنة. أظهرت نتائج الفحص المجهري أن خلايا البكتريا المعزولة كانت عصوية الشكل rod-like shaped ، بشكل سلاسل Chains، موجبة لصبغة غرام ، مكونة للسبورات إهليجية الشكل ellipsoidal طرفية الموقع subterminal في خلية الام الغير المتورمه ، مكون للبروتينات البلورية مبيده للحشرات (ICP) عند تصبيغها بصبغة الزرقاء البراقة Coomassie brilliant blue وصبغة Carbol fuchsin وهي الصفة المميزة لبكتيريا *B.thuringiensis* التي تميزها عن بقية الانواع بكتيريا *Bacillus* وكما وأظهرت الفحوصات الكيميائية الحيوية فحصاً موجباً للحركة و

للاوكسيديز و للكاتاليز ، وإنتاج السترات وبعضها سالبة لإنتاج السترات ، وموجباً لأختبار تحلل النشأ و فوكس بروسكاور (VP) واحمر المثيل MR و اختزال نترات و أنتاج انزيم حال الدم Hemolysin من خلال ملاحظة مناطق التحلل المحيطة بالمستعمرات البكتيرية واختبار التخمر/والأكسدة وأعطت فحصاً موجباً للنمو في تركيز ملحي 10% وهي ايضا صفة مميزة لها وموجباً لإنتاج انزيم اليوريز Urease وفحصاً سالباً للندول، أظهرت نتائج الدراسة الحالية نسبة وجود البكتيريا *B.thuringiensis* في الترب تحت الدراسة أن 80.3% من مجموع العينات المختبره في ضوء إيجابيها في تكوين البروتينات البلورية المبيدة الحشرات (ICP). أذ تتقارب جزئياً من نسبة وجودها في الترب السورية المدروسة حيث كانت نسبتها البكتيريا 97% (**29**)، وايضاً في آسيا حيث وصلت الى 85% (**30**)تكون أعلى من نسبة وجودها في الترب الكندية حيث كانت نسبة البكتيريا 26-39% (**31**)، وفي نيوزيلاندا وصلت نسبة وجودها 70% (**32**)، وفي الأردن 63%(**33**)، ، وتتقارب تلك النتيجة جزئياً مع ما توصل له(**34**) أذ بلغت نسبة البكتيريا *B.thuringiensis* في الترب المدوسة في محافظة ديالى 75%. يرجع هذا الاختلاف في نسبة جود البكتيريا *B.thuringiensis* في مواقع الترب المدروسة الى الاختلاف في الموقع الجغرافي والى الاختلاف في البيئة التي اخذت منها العينات ونوع التربة المدروسة وظروف البيئية المحيطة بها (**35**) وجد أن نسبة وجود البكتيريا في الترب المدروسة ،أذ بلغت نسبة وجود البكتيريا في الترب الزراعية قيد الدراسة 94.1 % والحدائق 93.3% والماء 75% مقارنة مع المناطق غير الزراعية 45.4% اي هناك فرق في تواجد البكتيريا في النظم البيئية وهذا يتفق مع ما أشار اليه الباحثين (**28**) ,بانتشار البكتيريا *B.thuringiensis* بشكل اكبر في الغابات والمناطق الزراعية والسهول مقارنة مع المناطق غير الزراعية أظهرت نتائج تقدير كثافة البكتيريا *Bt* في الوسط التخمري المحضر من جريش الشعير إذ بلغت 239×10^6 وحدة تكوين المستعمرة /مل، وهذا يتفق مع ما توصل اليه الباحث (**21**) حيث بلغت كثافة البكتيريا *B.thuringiensis* في وسط منقوع الشعير 232×10^6 وحدة تكوين المستعمرة /مل وان نمو البكتيريا في الوسط التخمري يرجع الى قدرة البكتيريا على استغلال محتويات البذور بكفاءة عالية تضمن للبكتيريا الحصول على متطلبات تغذيتها،ومتمثلة بالكاربوهيدرات والدهون والبروتينات والمعادن فضلاً عن بعض الفيتامينات المهمة في نمو هذه البكتيريا (**36**).

- **تأثيرتراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B. thuringiensis* في بيوض ذبابة ثمار القرعيات *Dacus* ciliatus وبعمر(1-2)يوم .**

توضح النتائج المبينة في جدول(2) تأثير تراكيز المختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B. thuringiensis* في معدل فقس البيض لذبابة ثمار القرعيات *D. ciliates* وبعمر(1-2) يوم كان معنوياً ،إذ بلغ أعلى معدل فقس البيض (3.2) وبنسبة(89%) عند تركيز 1غم/لتر من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B. thuringiensis* وأقل معدل فقس البيض (0.6)وبنسبة(19 %) عند تركيز 5غم/لتر من المستحضر الحيوي *B. thuringiensis* مقارنة بمعاملة السيطرة(3.2) وبنسبة (95%) عند مستوى احتمال (p=0.05). ولم يكن هناك فروقات معنوية خلال المدة الزمنية (-41) ايام. وهناك فروقات معنوية خلال المدة الزمنية (5-7) ايام فكانت أعلى قيمة معدل فقس في اليوم السابع من

المعاملة (3.4) وبنسبة(48.71%) وأقل قيمة معدل فقس في اليوم الخامس من المعاملة (0.8) وبنسبة(11.4%). وهناك فروقات معنوية للتداخل بين الأيام والتراكيز المختلفة من المستحضر الحيويB. *thuringiensis* فكانت أعلى قيمة معدل فقس في اليوم الخامس من المعاملة (1.3) وبنسبة(13%) عند تركيز 1غم /لتر من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B. thuringiensis* وأقل قيمة معدل فقس(0.3) وبنسبة(3%) عند تركيز 4،5غم /لتر من المستحضر الحيوي مقارنة مع معاملة السيطرة (1.6) وبنسبة(16%) ، وكانت أعلى قيمة معدل فقس في اليوم السادس من المعاملة (2.3) وبنسبة(23%) عند تركيز 1غم /لتر من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B. thuringiensis* وأقل قيمة معدل فقس(0.6) وبنسبة(6%) عند تركيز 4،5غم /لتر من المستحضر الحيوي مقارنة مع معاملة السيطرة (2.0) وبنسبة(20%). وكانت أعلى قيمة معدل فقس في اليوم السابع من المعاملة (5.3) وبنسبة(5.3%) عند تركيز 1غم /لتر من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B. thuringiensis* وأقل قيمة معدل فقس(1.0) وبنسبة(10%) عند تركيز 4،5غم /لتر من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B. thuringiensis* مقارنة مع معاملة السيطرة (5.3) وبنسبة(53%).

جدول(2): تأثيرتراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B. thuringiensis* في بيوض ذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* وبعمر(1-2)يوم

تركيز البكتيريا Bt غم /لتر	معدلات فقس البيض بعمر(1-2) يوم الأيام			تأثير تركيز
	5	6	7	
	Mean ±S.D	Mean ±S.D	Mean ±S.D	Mean ±S.D
1	1.3±0.5	2.3±1.5	5.3±1.5	3±2.0
2	0.6±0.5	2±1.0	4.3±0.5	2.3±1.7
3	0.6±0.5	2±1.0	3.6±0.5	2.1±1.4
4	0.3±0.5	0.6±0.5	1±1	0.6±0.7
5	0.3±0.5	0.6±0.5	1±1	0.6±0.7
معاملة السيطرة	1.6±1.1	2.0±0.5	5.3±1.1	3.2±1.8
للتداخل LSD = بين التراكيز والأيام		1.022 (5%)		لتركيز=2.301 LSD
تأثير الأيام	0.8±0.7	1.7±1.0	3.4±2.0	
LSDالأيام =		2.011 (5%)		

وقد يعزى سبب عدم فقس البيض المعامل بالمستحضر الحيوي لبكتيريا *B.thuringiensis* إلى نفاذ السموم التي تنتجها البكتريا إلى داخل البيوض, وبذلك تؤدي إلى إحداث خلل معين في الجنين يسبب الهلاك، وإن وجود البكتريا قد أدى إلى منع حدوث فقس البيوض وخروج اليرقات منها, وذلك بفعل إحاطة تجمعات البكتريا بالبيضة مؤدية إلى التأثير في نفاذية

البيوض ومن ثم هلاكها . كما أشار **(37)** إلى إن بكتريا *B.thuringienisis israelensis* تؤثر في نفاذية بيوض النيماتودا بفعل سمومها. وتتفق هذه النتائج مع**(38)** حيث أوضح أن البكتيريا *B .thuringiensis* خفضت من عدد البيوض الفاقسة لفراشة القطن، وفي بحث اجراه **(39)** لمعرفة تأثير بعض المبيدات الحيوية في مكافحة دودة جوز القطن *Helicoverpa armigera* ومنها بكتيريا *B .thuringiensis* والتي أدت الى أنخفاض نسبة فقس البيض على سنتين هما 2005 و2007 وكانت نسبة الفقس 11.7% و13.40% على التوالي. وتتفق هذه النتائج مع **(40)** الذي ذكر ان للبكتيريا *Bacillus cereus* تأثير واضح في بيوض فراشة اللهانة إذ تراوحت نسب الهلاك بين 5,13% إلى 30.6%عند التراكيز من 1×10^5 إلى 2×10^7 خلية/مل على التوالي. ولم تتفق هذه النتائج مع (**41**)إذ ذكرت انه لم يكن للبكتريا *Bacillus thuringiensis* أي تأثير على الجنين داخل البيضة.

- **تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا *B. thuringiensis* في معدل هلاك الطور اليرقي الأخير لذبابة ثمار القرعيات *D .ciliatus***

تأثير تراكيز مختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا B. thuringiensis في معدل هلاك يرقات الطور الأخير لذبابة ثمار القرعياتD. ciliates ، كان معنوياً ،إذ بلغت أعلى قيمة هلاك (2.0) وبنسبة (99%)عند تركيز 5غم/لتر من المستحضر الحيوي لبكتيريا B. thuringiensis وأقل قيمة هلاك(0.5) وبنسبة (26%) عند التركيز 1غم/لتر من مستحضر الحيوي لبكتيريا B. thuringiensis مقارنة بمعاملة السيطرة(0.07) وبنسبة (3%) ، عند مستوى احتمال (p=0.05). لوحظ وجود فروقات معنوية بين الايام فكانت أعلى قيمة هلاك يرقات الطور الأخير في الأيام هو اليوم الخامس من المعاملة (2.8) وبنسبة(56) وأقل قيمة هلاك يرقات الطور الأخير في اليوم الأول من المعاملة (0.3) وبنسبة(6%). ولوحظ وجود فروقات معنوية في التداخل بين الأيام والتراكيز المختلفة من المستحضر الحيوي لبكتيريا B. thuringiensis ،أذ بلغ أعلى هلاك في اليوم الأول من المعاملة (1.0) وبنسبة(10%) عند التركيز 5غم /لتر من المستحضر الحيوي لبكتيريا B. thuringiensis و(0.6) وبنسبة(6%) عند التركيز 4غم /لتر من المستحضر الحيوي لبكتيريا B. thuringiensis وأقل قيمة هلاك (0.0) وبنسبة(0%) عند تركيز 2،1غم /لتر من المستحضر الحيوي لبكتيريا B. thuringiensis مقارنة مع معاملة السيطرة (0.0) وبنسبة(0%) . و أعلى قيمة هلاك في اليوم الثاني من المعاملة (1.3) وبنسبة(13%) عند تركيز 5غم /لتر من المستحضر الحيوي وأقل قيمة هلاك (0.0) وبنسبة(0%) عند التركيز 2،1غم /لتر من المستحضر الحيوي لبكتيريا B. thuringiensis مقارنة مع معاملة السيطرة (0.0) وبنسبة(0%). و أعلى قيمة هلاك في اليوم الثالث من المعاملة (1.6) وبنسبة(16%) عند تركيز 4،5غم /لتر من المستحضر الحيوي وأقل قيمة هلاك(0.0) وبنسبة(0%) عند التركيز 2،1غم /لتر من المستحضر الحيوي مقارنة مع معاملة السيطرة (0.0) وبنسبة(0%). و أعلى قيمة هلاك في اليوم الرابع من المعاملة (3.0) وبنسبة(30%) عند التركيز 3غم /لتر من المستحضر الحيوي لبكتيريا B. thuringiensis وأقل قيمة هلاك (0.3) وبنسبة(3%) عند التركيز 2،1غم /لتر من المستحضر الحيوي لبكتيريا B. thuringiensis مقارنة مع معاملة السيطرة (0.0)

وبنسبة(0%). و أعلى قيمة هلاك في اليوم الخامس من المعاملة (4.0) وبنسبة(40%) عند تركيز 4،5غم /لتر من المستحضر الحيوي لبكتيريا B. thuringiensis وأقل قيمة هلاك(2.3) وبنسبة(23%) عند التركيز 1غم /لتر من المستحضر الحيوي لبكتيريا B. thuringiensis مقارنة مع معاملة السيطرة (0.3) وبنسبة(3%).

جدول (3):تأثير تراكيز مختلفة من البكتيريا *B.thuringiensis* في معدل هلاك الطور اليرقي الأخير لذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus*.

تركيز البكتيريا غم/لتر *Bt*	معدلات هلاك الادور اليرقي الأخير الأيام					تأثير تركيز
	1	2	3	4	5	
	Mean ±S.D	Mean ±S.D	Mean ±S.D	Mean ±S.D	Mean ±S.D	Mean ±S.D
1	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.3±0.5	2.3±1.5	0.5±1.1
2	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.3±0.5	3.0±2.6	0.6±1.5
3	0.3±0.5	0.6±0.5	0.6±0.5	3.0±1.0	3.3±2.8	1.6±1.8
4	0.6±0.5	1.0±1.0	1.6±0.5	2.0±2.0	4.0±1.0	2.0±1.4
5	1.0±1.0	1.3±0.5	1.6±1.1	2.0±1.0	4.0±1.7	2.0±1.4
معاملة السيطرة	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.3±0.5	0.07±0.2
LSD للتداخل بين والأيام تركيز	1.104					LSDلتركيز=1.944
تأثير الأيام	0.3±0.5	0.5±0.7	0.6±0.9	1.2±1.4	2.8±2.0	
LSD الأيام=	1.607					

بعد تغذي اليرقات على قطع من نبات القرع المعامل بالبكتريا تظهر عليها أعراض تغير في السلوك بعد مدة 24ساعة من بدء التغذي, حيث يلاحظ أن اليرقات تتباطأ حركتها تدريجيا حتى تتوقف عن الحركة وتبدو منكمشة, ويمكن التأكد من حيويتها وذلك بمحاولة وخزها وحثها على الحركة. يبدأ لون اليرقة بالتغير نحو الاسوداد شيئا فشيئا وتنقطع عن الطعام وتموت كمافي صورة رقم 1.وهذا يتفق مع **(42)** الذين بينوا أن امتناع اليرقات المصابة عن الغذاء يعود الى تأثير البروتين البلوري السام Crystal protein الذي يتحلل في القناة الهضمية الوسطى لليرقات ويرتبط بالمستقبلات Receptors على الحافة الفرشاتية Brush border لغشاء القناة الهضمية الوسطى فيدخل السم بداخل الغشاء مسبباً ضعف الخلايا الطلائية وانتفاخها ثم انحلالها محدثاً ثقوباً في الغشاء مما يسهل انتقال السبورات الى السائل الدموي لليرقة

ويتسبب عنه تسمم الدم Septicemia ثم تغير اللون الى البني ثم الاسود بعد الموت،أن هلاك اليرقات بفعل بكتريا *B.thuringiensis* قد يعود إلى أن البكتريا وجدت طريقها إلى داخل التجويف الدموي hemocoel لليرقات مسببة تسمم الدم septicemia, و مؤدية إلى اسوداد اليرقات وموتها بفعل السموم التي تفرزها هذه البكتريا, و مؤثرة في الجهاز العصبي لليرقات المصابة، أو أن سموم البكتريا قد أدت إلى حدوث خلل في الجهاز العصبي مؤدية إلى شلل في الأعضاء المسؤولة عن التغذي ومن ثم موت اليرقات من الجوع وهذا ويتفق مع ما أورده **(43)** في أن معاملة يرقات فراشة اللهانة بالطورها الثالث ببكتريا *B. thuringiensis kurstaki* أدى إلى ظهور أعراض إصابة وهي بطأ في الحركة, التوقف عن التغذية, الشلل العام, وتغير اللون إلى البني الغامق ثم الأسود، تتفق نتائج الدراسة الحالية مع نتائج **(44)** من خلال دراستهم للسيطرة الحيوية الفعالة لسلالات بكتيريا *Bacillus thuringiensis* على يرقات وبالغات ذبابة البحر المتوسط *Ceratitis capitata*، اذ بلغت نسبة هلاك يرقات الطور الثالث المعاملة بسموم سلالات Bt A7 Bt M-Ag21.6 و 68% وتتفق النتائج أيضا مع **(45)**اذ بين ان نسبة هلاك الأطوار اليرقية لحشرة عثة التين *Ephestia cautelal* تزداد بزيادة تركيز المبيد البكتيري *Bt* فكان أعلى معدل لهلاك يرقات الطور الأول للعزلة المحلية عند التركيز 5×10^{-1} هو 72.8% في حين اقل معدل هلاك عند تركيز 10^{-3} هو 22.7%.

الصورة 1 :تأثير المستحضر الحيوي لبكتريا *Bacillus thringiensis* على يرقات الطور الأخير لذبابة القرعيات

مصورة

بوساطة مجهر ضوئي وبقوة تكبير45X.

المصادر

1. **الكتاب السنوي للإحصائيات الزراعية العربية** (2008) . جامعة الدول العربية – المنظمة العربية للتنمية الزراعية ، المجلد 30 (28) : 59-65 .
2. **مهدي** ، حسن سليمان احمد (2000) . دراسات بيئية وحياتية لحشرة ذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* (Loew) (Diptera : Tephritidae) وبعض طرق مكافحتها ، أطروحة دكتوراه ، كلي الزراعة ، جامعة بغداد ، العراق
3. **Hancock**, D. L. (1986) . Classification of the Trypetinae (Diptera: Tephritidae) with a discussion of Afro tropical fauna, J. Entomol. Soc. South. Afri., 49: 275-305.
4. **Royer** , E. J. and D.L. Hancock (2012). New distribution and lure records of Dacinae (Diptera: Tephritidae) from Gweenland. Asturalia and description of a new species of Dacus fabricius. Australian Journal of Entomology. 51:239-247
5. **Gillani** , W.A. , T.Bashir and M. Ilyas(2002). Studies on population dynamics of fruit flies (Diptera : Tephritidae) in Guava and Nectrin orchards in Islamabad , Pakistan Journal Biological Sciences 5(4): 452-454.
6. **Moanas,** A. M. H. and Abdul-Rassoul, M. S. (1988) . First record of *Dacus ciliatus* (Loew) (Diptera: Tephritidae) as a pest of cucumber in Iraq . Bull. Iraq Nat. His. Mus., 8(2): 3-174
7. **Aldawood**, A.S.(2013). Comparative study of Cucurbit fly: *Dacus ciliatus* Loew (Diptera: Tephritidae) infestation on Zucchini squash (Cucurbita pepo L.) at Huraimila and Diraab, Riyadh Region, Saudi Arabia. Journal of Biolog. Sci., 6(2): 91 – 96 .
8. **IIE** (1995) . Distribution maps of pest, series A No. 323 (1st revision) . CAB International, Wallingford, UK.
9. **شعبان** ، عواد والملاح ، نزار مصطفى ، (1993) . المبيدات ، دار الكتب للطباعة والنشر ، وزارة التعليم العالي والبحث العلمي ، جامعة الموصل ، العراق ، 520 صفحة
10. **Hugue**, H. and Ahmed, CH. R. (1969) . Studies on the Control of Dacus ciliatus (Loew) (Diptera: Tephritidae) by Sterile male release technique . Int. J. Appl. Radiat. Isotopes. 20: 791-795.

11. **-بلاسم،** حذام صالح؛ الطويل ،احمد اياد وجاسم، مها اسماعيل(2014). اختبار فاعلية عزلات بكتريا *Bacillus thuringiensis* (Berliner) على الأطوار اليرقية لحشرة عثة التين *Ephestia cautella* (Walker). مجلة بغداد للعلوم.11(2):943-951.

12. **-الوائلي** , ضياء سالم ؛عبد القادر, أياد عبد الوهاب ومجدي, عبود خلف(2014) . تأثير بعض العوامل الاحيائي و الكيميائي و في مكافحة ذبابة القرعيات الكبرى Dacus Iongistylus ((Tephritidae:Diptera على نبات البطيخ في بصرة. مجلة علوم ذي قار،4(2):37-44.

13. **-George**, Z.O.(2011). Expression and genetic manipulation of *Bacillus thuringiensis* toxins for improved toxicity and development of a protocol for in vivo selection of toxin variants with improved activity. Ph.D. thesis, School of Life Scieces, University of Sussex:259.

14. **-Hoq**, M.MD ; Shishir ,A.; Akter, A.; Hassan,H .Md. ; Kibria, G.; Ilias ,M. and Khan,N. S.(2012). Characterization of locally isolated *Bacillus thuringiensis* for the Development of Eco-friendly Biopesticides in Bangladesh . Jurnal Biopest, 5: 216-222 .

15. **-بلاسم،** حذام صالح؛ الطويل ،احمد اياد وجاسم، مها اسماعيل(2014). اختبار فاعلية عزلات بكتريا *Bacillus thuringiensis* (Berliner) على الأطوار اليرقية لحشرة عثة التين *Ephestia cautella* (Walker). مجلة بغداد للعلوم.11(2):943-951.

16. **-Palma**, L.; Muñoz ,D.; Berry, C.; Murillo, J. and Caballero ,P.(2014) *Bacillus thuringiensis* Toxins: An Overview of Their Biocidal Activity . Open Access Toxinology Journal, 6: 3296-3325 .

17. **-Gorashi**, N.E.; Tripathi,M.; Kalia,V.and Gujar,G.T.(2014) Identification and characterization of the Sudanese *Bacillus thuringiensis* Strain for their efficacy against *Helicoverpa armigera and Tribolium castaneum.* India journal of experimental biology,52:637-649.

18. **-Bajwa,** W. I. and Kogan, M. (2001). *Bacillus thuringiensis* based biological control of insect pests. Integrated Plant Protection Center (IPPC), Oregon State University, Corvallis :96

19. *Bacillus thuringiensis* **جميل،** جاسر محمد؛ حمد، حسام الدين عبدالله (2014). تقييم كفاءة عزلات بكتريا

المعزولة من ترب محلية على بعض الآفات الحشرية في العراق. مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية ،14(12):214-221

20. **Travers**, R.S.; Martin, P.A.W. and Reichelderfer, C.F. (1987). Selective process for efficient isolation of soil *Bacillus spp*., Appied and Environmental Microbiology, 53: 1263-1266.
21. **Cowan,** S.T and Steel,K.J**.** (2004). Edited and rev. by Barrow, G.I., and Feltham, R.K.A., Manual for the Identification of Medical Bacteria. 3rd edition. Dock House, The water front, Cape Town 8001, South Africa.
22.

تويج ، نبيل سليم سعيد(2009). دراسة إمكانية إنتاج مستحضر حيوي من لقاح البكتريا *Bacillus thuringiensis* لمكافحة حشرة من الخوخ ألخضر *Myzus persicae (Sulzer)*. مجلة القادسية للعلوم الصرفة (فصيلة)،14(2):1-11

23. **Clark** , F.E. 1965 .Agar – plats method for total microbial(C.F.black, 1965 methods of soilanalysis part 2 publisher madeson , wisconsin , USA pp 1572 .
24. **Dohary**, K. L. (1983) . Bionomics of fruit flies Dacus spp. On some fruits. Indian J. Entomol. 45(4): 406-413.
25. **Drew**, R. A. I. (1987) . Behavioral strategies of fruit flies of the genus Dacus (Diptera: Tephritidae) Significant in mating and host-plant relationships. Bull. Entomol. Res. 77: 73-81.
26. **Schroeder**, W. J.; Chambers, D. L. and Miyabara, Y. (1973) . Reproduction of Melon fly , Mating activity and Mating compatibility of flies treated to function in sterile-release programs . J. Econ. Entomol., 1-66: 661-663

27. **-لقرةغولي،** عمار أحمد سلطان (2005). دراسة وراثية ووراثية خلوية لمجتمعات ذبابة ثمار القرعيات *Dacus ciliatus* ((Loew) (Diptera : Tephritidae) المجموعة من مناطق مختلفة من العراق.
28. **-الراوي**,خاشع محمود , عبد العزيز محمد خلف الله . (1980) تصميم تحليل التجارب الزراعية.مطبعة جامعة الموصل.العراق.ص 320.
29. **Schneide**r-Orelli; O.(1947). Entomologisches Parktikum Verlag Sauerlander , Aarau . 237 PP

30. - **مهيار** ،مايسة(2011).انتشار وتوزيع بكتيريا *Bacillus thuringiensis* Berliner في ترب النظم البيئية وزراعية مختلفة في سورية. مجلة جامعة تشرين للبحوث والدراسات العليا المجلد(33) العدد (1)

31. **Martin** , P.A.W. and Travers, R.S.(1989). Worldwide abundance and distribution of *B. thuringiensis* isolates. Appl. Environ . Microbiol., 55: 2436- 2442

32. **Morris**, O.N.; Converse, E.V. and Kanagaratnam, P. (1998). Isolation characterization, and culture of *Bacillus thuringiensis* from Soil and Dust from Grain Storage Bines and their Toxicity for *Mamestra configurata* (Lepidoptera: Noctuidae). Canadian Entomolgist, 130(4): 515- 537

33. **-Chilcott**, C.N. and P.J. Wigley(1993). Isolaion and toxicity of *Bacillus thuringiensis* from soil and insect habitats in New Zealand. Journal of Invertebrate Pathology, Vol. 61, , 244- 247.

34. **-Obeidat**, M.; AL- Momani, F. and Saadoun, I.(2000). Diversity of *Bacillus thuringiensis* in different habitats of northern Jordan. J. Basic Microbiol., 40(5-6): 385- 388

35. **-جميل**، جاسر محمد؛ حمد، حسام الدين عبدالله (2014). تقييم كفاءة عزلات بكتريا *Bacillus thuringiensis* المعزولة من ترب محلية على بعض الآفات الحشرية في العراق. مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية ،14(12):214-211.

36. **Ohba**, M. and AIzawa ,K. (1985). Distribution of *B. thuringiensis* in soils of Japan. Journal of Invertebrate Pathology, Vol. 47, , 277- 282

37. **السعيدي** ، محمد عبد عيسى (1923).تكنولوجيا الحبوب . مطابع وكارة التعليم العالي والبحث العلمي 515 صفحة.

38. **-Bone**, L.W., Bottjer, K.P., Gill, S.S. (1987). Alteration of Trichostrongylus colubriformis egg permeability by *Bacillus thuringiensis israelensis* toxin, Journal of Parasitology, 73(2):295-299.

39. **Mohammed**, A. M.; Salama, M. S.; El-Yassaki, W. M. and Hamed, M. S.(2000) The impact of entomopathogenic isolates of *Bacillus thuringiensis* on the fertility and reproductive system of the female mothe of cotton leaf worm *Spodoptera littoralis* (Boisp). Ain Shams Univ. Sci. Rep.

40. **-ألسلتي**، محمد نايف؛ جمال عبد الله الحمادة و بدي، العبد الله (2008). . دور بعض عناصر المكافحة الحيوي لديدان جوز القطن في منطقة دير الزور/سورية .المؤتمر العربي الثاني لتطبيقات البيولوجية للآفات. القاهرة. جمهورية مصر العربية.

41. **-أحمد** ،هارون حسين(2007). الروز الحياتي للبكتريا Bacillus cereus Fr.&Frعلى فراشة اللهانة *Pieris rapae* (L) ومقارنة النتائج مع المبيد الكيميائي Sevin. رسالة ماجستير.كلية علوم . جامعة بغداد:

42. **-العزاوي**، علياء عبد العزيز حميد (2006) . دراسة تأثير بكتريا *Bacillus thuringiensis* في السيطرة على عثة درنات البطاطا *Phthorimaea operculella (zeller)*(Lepidoptera: Gelechiidae).رسالة ماجستير. كلية العلوم للبنات ،جامعة بغداد:109

43. **Lacey**, A.L.; E. Riga; and W. Snyder. (2004). The potential for using insect specific pathogens for control of insect pest of potato . Journal of potato progress. vol. IV. no.1.

44. **-العميدي**, بهاء حمدي(1990).أستخدام البكتريا *Bacillus cereus kurstaki* في مكافحة فراشة اللهانة *pieris rapae* L.,رسالة ماجستير في قسم علوم الحياة ،الأحياء المجهرية،جامعة بغداد.

45. **Aboussaid** ,H. ; El-Aouame1,L.; El-Messoussi ,S.and Oufdou, K. (2010). Biological Activity of *Bacillus thuringiensis (Berliner)* Strains on Larvae and Adults of *Ceratitis capitata (Wiedemann)* (Diptera: Tephritidae). Journal of Environmental Protection, 1: 337-345.

46. --**بلاسم**، حذام صالح؛ الطويل ،احمد اياد وجاسم، مها اسماعيل(2014). اختبار فاعلية عزلات بكتريا(Berliner) *Bacillus thuringiensis* على الأطوار اليرقية لحشرة عثة التين *Ephestia cautella* (Walker). مجلة بغداد للعلوم.11(2):943-951.