تأثير بعض الأوساط الزرعية السائلة في بعض مؤشرات نمو وحيوية الفطر *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.

منى حمودي خماس، *حسين مكطوف ديوان، إبراهيم قدوري قدو، *هادي مهدي عبود

قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة بغداد. بغداد – العراق.

*مركز المكافحة المتكاملة للآفات الزراعية، دائرة البحوث الزراعية، وزارة العلوم والتكنولوجيا. بغداد – العراق.

الملخص

تم اختبار تأثير ثمانية توليفات لأوساط زرعية سائلة في بعض معايير نمو الفطر *Beauveria bassiana* (معدل التبوغ والوزن الجاف للفطر) خلال الحضن لمدة 1و 2 و 3 و 4 أيام عند درجة حرارة 28±1م. تكونت التوليفات بصورة عامة من المحلول الملحي الأساس(S) مزود اما بمصدر كاربوني (8غ/لترمن الوسط الزرعي) اوبمصدر نيتروجيني (0.33غ/لتر من الوسط الزرعي) او بكليهما بنسبة N:C 1:24 وهذه التوليفات هي؛ مستخلص حبوب الرز مع الكازائين (CRM) ومستخلص حبوب الرزمع مستخلص الخميرة (YRM) ومستخلص بذور الحنطة مع الكازائين (CWM) ومستخلص بذور الحنطة مع مستخلص الخميرة (YWM) ومستخلص حبوب الرز (RM) ومستخلص الخميرة (YM) ومستخلص بذورالحنطة (WM) وكازائين (CM)، كما تم تقويم حيوية ابواغ الفطر في الوسط الزرعي المنتخب CRM ومقارنة ذلك مع حيوية الفطر في المحلول الملحي والوسطين الزرعيين RMوCMبعد مدد حضن 1 و 2 و 3 و 4 و 8 ايام عند درجة حرارة 28±1م.أظهرت النتائج تفوق التوليفة(CRM) معنويا ($P<0.05$) في زيادة معدل إنتاج الابواغ للفطر (133.3×10^5 بوغ/مل) والوزن الجاف له(16 ملغ/مل) بعد أربعة ايام من الحضن فيما كانت التوليفة(CWM) والوسط (YM) اقل كفاءة في تحفيز الفطر على إنتاج الابواغ (60.8×10^5بوغ/مل) وإنتاج الكتلة الحيوية (معدل الوزن الجاف للفطر 5.54 ملغ/مل وسط زرعي) على التوالي عند نفس المدة من الحضن. كما بينت النتائج تفوق التوليفة (CRM) في تسجيل الفطر لنسبة حيوية عالية بلغ معدلها 63% مقارنة بالوسط (RM) (42.9%) و(CM) (41.5%) والمحلول الملحي الاساس (20.1%) .

EFFECT OF SOME OF LIQUID MEDIA ON SOME GROWTH PARAMETERS AND VIABILITY OF *BEAUVERIA BASSIANA* (BALS.) VUILL.

Muna Hemudi Khamas, *Hussein Magtoff Diwan, Ibrahim K. Kaddou, *Hadi Mehdi Aboud

Department of Biology, College of Science, University of Baghdad. Baghdad - Iraq.

*Department of Biological Control of Plant Pathogens, Center of Integrated Control, Directorate of Agricultural Research, Ministry of Science & Technology. Baghdad - Iraq.

Abstract

Eight liquid culture medium formulations were evaluated for their efficiency in enhancing some growth parameters (sporulation and biomass dry weight) of *Beauveria bassiana* after1, 2, 3 and 4days of incubation at 28±1C°. The formulations consist of saline solution (S), carbon source (8g/litre) and nitrogen

source (0.33g/litre) as individually or as mixture of both sources with a C: N ratio of 24:1. These formulations were ; rice grains extract and casein (CRM), rice grains extract and yeast extract (YRM) , wheat seeds extract (CWM) and wheat seeds extract and yeast extract (YWM), rice grains extract (RM),yeast extract(YM), wheat seeds extract(WM), casein(CM).In other hand the spores viability were evaluated on selected medium CRM comparising with their viability on S,RM,CM after 1,2,3,4 and 8 days of incubation at 28±1C°. The results showed that the CRM was statistically in increasing the spore yield($133.3x10^5$spore/ml) and dry weight (16mg/ml) after 4 days of incubation, while CWM and YM were less efficient for fungal sporulation ($60.8x10^5$spore/ml) and dry weight increment (5.54mg/ml), respectively at the same time of incubation. CRM was ideal for high percent viability (63%) compared with RM (42.9%), CM (41.5%) and S (20.1%).

المقدمة

شهدت العقود الأخيرة من القرن العشرين ولحد الآن اهتماماً متزايداً بالمكافحة الأحيائية للآفات الحشرية باستعمال الفطر *Beauveria bassiana* (1) اذ حقق هذا الفطر نجاحا في مكافحة طيف واسع من الآفات الحشرية (2). ولم يقتصر اهتمام الباحثين على كيفية استخدام الفطر *B. bassiana* في مكافحة الآفات الحشرية ، بل تعدى ذلك الى مدى كفاءة الفطر وكلفة انتاجه الموسع باستعمال أوساط زرعية (3). وقد استعملت مخلفات الصناعة الزراعية لتنمية مختلف عوامل المكافحة الإحيائية ومنها الفطر *B. bassiana* للحصول على إنتاجية ملائمة من الأبواغ والكتلة الحيوية (4)وفي بعض البلدان المنتجة والمصدرة لحبوب الرز استخدمت هذه الحبوب لتنمية الكثير من عوامل المكافحة الاحيائية ومنها الفطر *B. Bassiana* (5). وفي نيوزلندا استخدمت بذور الحنطة والشعير وحبوب الرز في تنمية الفطر *B. bassiana* و *B.brogniartii* و *M.anisopliae* (6).

كما استخدمت الأوساط الزرعية السائلة لإنتاج بلاستوسبورات الفطر *B. bassiana* والتي تتميز بعمرها القصير والفتها للماء (7). واستعمل ماء غسل بذور الحنطة وماء غسل حبوب الرز و حققا دعماً لمعدل إنتاج الابواغ والكتلة الحيوية للفطر اذ بلغ 8.17×10^8 و 8.76×10^8 بلاستوسبور / 100مل و 0.49 و 0.51 غ / 100مل، على التوالي (1). وسبّب استعمال الأوساط الزرعية السائلة (مستخلص حبوب الرز + مولاس بنجر السكر) و (مستخلص حبوب الرز + خميرة) و (مستخلص حبوب الرز + مولاس بنجر السكر + خميرة) ارتفاعاً كبيراً في معدل أنتاج الوحدات التكاثرية للفطر *Isaria farinose* و *I.fumosoroseus* (8). واستخدام الوسط مستخلص حبوب الرز + مولاس بنجر السكر كأفضل وسط زرعي لإنتاج اللقاح الفطري الذي يمثل المرحلة الاولى لإنتاج الفطر بشكل واسع وفق تقانة التخمر بمرحلتين Biphasic) Fermentation Technique) ومن ثم يتم إضافة اللقاح الفطري إلى الأوساط الزرعية الصلبة التي هي عبارة عن مخلفات زراعية ليمثل المرحلة الثانية.

وتجسدت أهمية الكازائين بعد ان عد كمصدر نايتروجيني لإنتاج ابواغ الفطر المكافحة الإحيائية *Colletotrichum truncatum* بكفاءة والمستخدم ضد الدغل *Scentless chamomile* (10).

ومن الأسباب التي دعت لاعتماد الأوساط الزرعية السائلة في تنمية الفطر *B. bassiana* هو للحصول على البلاستوسبورات التي تعد أشد ضراوة من الكوينيدات (11) ولكونها أكثر اقتصادية وعملية لإنتاج المبيدات الإحيائية (10).

المواد وطرائق العمل

الفطر *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill وتحضير لقاحه الفطري

استخدمت في هذه الدراسة عزلة من الفطر *B. bassiana* تم الحصول عليها من كلية الزراعة . جامعة بغداد . قسم وقاية النبات و نشطت على الوسط الزرعي اجار مستخلص البطاطا سكروز (PSA) معقم بعد اعادة تنميتها على هذا الوسط عند درجة حرارة 28م ، وحفظت الاطباق في الثلاجة عند درجة حرارة 4-6م لغرض استعمالها في تنفيذ التجارب .

حضر اللقاح الفطري (معلق الابواغ) للفطر *B. bassiana* من وضع 10مل من محلول توين 20 المعقم بتركيز 0.05% على المستعمرات(عمر 10ايام) النامية على الوسط الزرعي PSA (5). حصدت الابواغ وحسب تركيزها (2.3×10^6 بوغ/مل) باستعمال شريحة عد الابواغ (Haemocytometer).

تحضير الاوساط الزرعية السائلة

حضرت ثمانية اوساط زرعية سائلة التي تكونت من مزج المحلول الملحي الاساس(K_2HPO_4، 1غ و$MgSO4$، 0.5غ و KCl ، 0.5 غ و$FeSO_4$ ، 0.01 غ وماء مقطر، 1000مل و كلوروميفنيكول، 100جزء بالمليون)(12و13) مع مستخلص حبوب الرز(36.4غم) ومستخلص بذور الحنطة(40غم) ومستخلص الخميرة(3.587غم) والكازائين(2.2 غم) بتوليفات مختلفة كما موضح ادناه:

الوسط الزرعي	المكونات
RM	مستخلص حبوب الرز مع المحلول الملحي
CRM	مستخلص حبوب الرز مع الكازائين مع المحلول الملحي
YRM	مستخلص حبوب الرز مع مستخلص الخميرة والمحلول الملحي
YM	مستخلص الخميرة مع المحلول الملحي الاساس
WM	مستخلص بذور الحنطة مع المحلول الملحي الاساس
CWM	مستخلص بذورالحنطة مع الكازائين مع المحلول الملحي الاساس
YWM	مستخلص بذورالحنطة معمستخلص الخميرة مع المحلول الملحي
CM	الكازائين مع المحلول الملحي الاساس

وتم ضبط الدالة الهيدروجينية للتوليفات او الاوساط عند دالة هيدروجينية6.5 باستعمال محلول هيدروكسيد الصوديوم او حامض الهايدروكلوريك المركز.

اختبار تاثير التوليف بين المصادر الكاربونية و النايتروجينية في معايير نمو الفطر *B. bassiana* :

لاختبار تأثير التوليف بين المصادر الكاربونية والمصادر النايتروجينية في معدل التبوغ والوزن الجاف للفطر *B. bassiana*، اتبعت طريقة (14) او (15)، أذ وزعت الاوساط الزرعية السائلة المحضرة في قناني زجاجية سعة 250مل بمعدل 50مل/قنينة وبواقع ثلاثة مكررات لكل وسط . وبعد تعقيم الاوساط الزرعية بجهاز الموصدة 1كغ/سم^2 لمدة ربع ساعة اضيف معلق الابواغ (2.3×10^6بوغ/مل) بمعدل مل واحد/قنينة ووضعت القناني في حاضنة هزازة عند درجة حرارة 28±1م وتم حساب عدد الابواغ/مل من كل وسط زرعي والوزن الجاف للكتلة الحيوية النامية للفطر في ملغرام لكل مليلتر من كل وسط زرعي بعد 1 و 2 و 3 و4 ايام من الحضن وفي اختبار آخر تم تقويم حيوية الابواغ المتكونة من تنمية الفطر في اربع اوساط زرعية وهي CRM و RM و CM والمحلول الملحي الاساس بعد اضافة مل واحد من معلق الابواغ المحضر الى كل قنينة معقمة تحتوي على ٥٠مل من وسط معين بعد مدد حضن 1 و 2 و 3 و4و8 ايام(15و18) ،اذ تم حساب الحيوية بحساب النسبة المئوية لانبات ابواغ الفطر بعد 24ساعة من الحضن في الوسط الزرعي السائل سكروز–مستخلص البطاطا عند درجة حرارة 28±1م باستعمال المجهر الضوئي المركب وشريحة عد الابواغ (14).

التحليل الإحصائي:

نفذت التجارب باستعمال التصميم العشوائي الكامل وتم تحليل النتائج باستعمال البرنامج الإحصائي الجاهز SPSS عند مستوى احتمالية (p=0.05).

النتائج والمناقشة

تأثير التوليف بين المصادر الكربونية والنتروجينية في تبوغ الفطر *B . bassiana*

أظهرت النتائج المبينة في (الجدول 1) أن التوليف بين المصادر الكربونية (مستخلص حبوب الرز ومستخلص بذور الحنطة) والمصادر النتروجينية (كازائين ومستخلص الخميرة) ذو كفاءة عالية في تحفيز الفطر على إنتاج الأبواغ والكتلة الحيوية، وأظهر تأثيرا تآزريا في معدلات التبوغ والوزن الجاف للفطر *B . bassiana* فقد بدى ذلك واضحابعد 3 و4 ايام من الحضن. ومقارنة بين تلك التوليفات المذكورة في الجدول من جهة والمصادر الكربونية والنتروجينية كل على حدة من جهة أخرى، أظهر الفطر أعلى معدل معنوي ($P < 0.05$) من إنتاج الابواغ في الوسط الزرعي CRM بعد 3 و4ايام من الحضن والذي بلغ (97.9 و 133.3 × 10^5 بوغ / مل) على التوالي مقارنة بمعدل إنتاجه في الوسط RM (67.0 و 80.6 × 10^5 بوغ / مل) والوسط CM (36.1 و 50.8 × 10^5 بوغ / مل) على التوالي.

كما أثر مستخلص الخميرة غير معنويا ($P \geq 0.05$) في رفع معدل إنتاج الأبواغ للفطر *B.bassiana* بعد 4 ايام من الحضن والذي بلغ 80.6× 10^5 بوغ / مل في الوسط RM وأصبح 97.9 × 10^5 بوغ / مل في الوسط YRM وكانت الزيادة ايضا في معدل التبوغ(81.6 × ب10^5 وغ / مل) غير معنوية($P \geq 0.05$) في الوسط YWM . فيما لم يؤثر الكازائين بشكل معنوي في زيادة معدل إنتاج الأبواغ للفطر في الوسط الزرعي CWM الذي بلغ 60.8 × بوغ/مل10^5 بعدما كان 43.1 × 10^5 بوغ / مل في الوسط الزرعي WM كما هو موضح في (الجدول 1). وأظهرت النتائج أيضا التأثير الإيجابي المعنوي ($P < 0.05$) لمستخلص الخميرة إذ سبب توليفه مع مستخلص بذور الحنطة إلى مضاعفة إنتاج الأبواغ

تقريبا بعد 4ايام من الحضن في الوسط الزرعي YWM الذي بلغ معدله 81.6 × 10^5 بوغ / مل.

بينت معظم الدراسات (14، 12، 7، 16، 17) التي استخدمت فيها مدد حضن 1 و 2 و 3 و 4 و 5 و 6 ايام إن إضافة المصادر النتروجينية إلى الأوساط الزرعية المجهزة بمصادر كربونية مختلفة هي حالة مشتركة تقريبا أتفق عليها معظم الباحثون لدعم تلك الأوساط الزرعية، كما اتجهوا إلى استخدام تلك المصادر بتراكيز مختلفة لاختيار أفضلها وبكلفة أدنى.

جاءت هذه النتائج متوافقة مع نتائج دراسة سابقة (18) لتأثير عدد من المصادر الكاربونية والنايتروجينية في نمو الفطر *B . bassiana* في أوساط زرعية سائلة إذ أثر الكازائين أو مستخلص نقيع الذرة Corn steep – liquor بشكل كبير في إنتاج كميات كبيرة من كونيدات الفطر الذي بلغ معدله 180 و 270 × بوغ10^5 / مل ، على التوالي.

كما توافقت هذه النتائج مع ما أكدته دراسة سابقة (12) من أهمية كبيرة لمستخلص الخميرة في انتاج كميات كبيرة من كونيدات الفطر *B . bassiana* بعد استعماله بتركيز 0.5% مع السكروز بتركيز 2% في الأوساط الزرعية السائلة التي استخدم فيها تراكيز مختلفة من كلا المصدرين إذ بلغ معدل انتاج الكونيدات 170 × 10^6 كونيدة / مل. كما شابهت هذه النتائج ما أظهرته دراسة سابقة (19) باستخدام الأوساط الزرعية السائلة في إجراء العديد من التوليفات بين المصادر النتروجينية متمثلة بالأحماض الأمينية من جهة ومستخلص الخميرة من جهة أخرى مع سكر الدكستروز وتأثيراتها في النمو القطري والتبوغ للفطر *Entomopthora. virulenta* ، وقد زادت التوليفة (مستخلص الخميرة مع الدكستروز) من معدل إنتاج الأبواغ الذي بلغ 14 ×10^5 بوغ / مل فيما لوحظ أنَّ إضافة مستخلص الخميرة إلى الوسط الزرعي السائل الذي يحتوي على سكر الكلوكوز كمصدر للكاربون قلل من عدد البلاستوسبورات المنتجة للفطر *B . bassiana* وذلك بسبب تكون أو إنتاج الغزل الفطري من البلاستوسبورات (15).

جدول1. تأثيرالتوليفات بين المصادر الكاربونية والمصادر النتروجينية في انتاج الابواغ (× 10^5 بوغ / مل من الوسط الزرعي) والوزن الجاف (ملغ / مل من الوسط الزرعي) للفطر *B.bassiana* في مدد حضن مختلفة عند درجة حرارة 28 ± 1 م°.

الوسط الزرعي	مدة الحضن							
	1 يوم		2 يوم		3 يوم		4 يوم	
	إنتاج الأبواغ	الوزن الجاف	إنتاج الأبواغ	الوزن الجاف	إنتاج الأبواغ	الوزن الجاف	إنتاج الأبواغ	الوزن الجاف
مستخلص حبوب الرز RM	D 2.2 ^{d}	D 0.8^{cb}	C 10.6^{d}	C 2.46^{d}	B 67 ^{b}	B 9.26^{b}	A 80.6 ^{bc}	A 11.86^{bc}
مستخلص حبوب الرز+ كازائين CRM	C 10.2 ^{c}	D 1.74^{b}	C 42.3^{a}	C 6.74^{a}	B 97.8 ^{a}	B 12.06 ^{a}	A 133.3 ^{a}	A 16.0^{a}
مستخلص حبوب الرز + مستخلص الخميرة YRM	C 7.1 ^{c}	D 1.06^{cb}	B 41.4^{a}	C 7.34 ^{a}	B 62.6 ^{b}	B 11.34^{a}	A 97.9 ^{b}	A 13.86^{b}
مستخلص الخميرة YM	C 2.2^{d}	D 0.6^{c}	B 23.1^{c}	C 2.06^{e}	B 28.2 ^{de}	B 3.8^{e}	A 40.2 ^{cd}	A 5.54 ^{d}
مستخلص بذور الحنطة WM	D 1.7^{d}	C 0.66^{c}	C 15.4^{d}	B 3.06^{cd}	B 23.3 ^{e}	A 7.2^{cd}	A 43.1 ^{cd}	B 7.14^{d}
مستخلص بذور الحنطة + كازائين CWM	D 15.5^{b}	B 2.42^{b}	C 30.4^{b}	B 3.46^{c}	B 41.2 ^{cd}	A 8.14^{bc}	A 60.8 ^{cd}	A 10.86^{c}
مستخلص بذور الحنطة + مستخلص الخميرة YWM	C 25.8^{a}	C 4.06^{a}	B 41.7 ^{a}	B 5.66^{b}	B 46.0 ^{c}	B 5.8^{d}	A 81.6 ^{b}	A 6.46^{d}
كازائين CM	C 1.6^{d}	B 0.34^{dc}	C 10.4 ^{e}	B 1.46^{e}	B36.1^{de}	A 6.06^{d}	A 50.8 ^{d}	A 7.34^{d}

- الحروف المتشابهة تعني عدم وجود فروق معنوية بين المعاملات ($P\geq0.05$).

- الحروف الصغيرة للمقارنة بين المعاملات وبين الاوساط الزرعية لكل مدة

- الحروف الكبيرة للمقارنة بين المعاملات وبين المدد

تأثير التوليفات بين المصادر الكربونية والنتروجينية في الوزن الجاف للفطر *B. bassiana*

أظهرت النتائج في (الجدول1) إن إضافة الكازائين ومستخلص الخميرةإلى الوسط الزرعي RM و WM كل على حدة أدى إلى زيادة معنوية ($P< 0.05$) في الأوزان الجافة للفطر *B . bassiana* اذ أظهرت النتائج أن الأوزان الجافة للكتل الحيوية للفطر ازدادت بزيادة مدد الحضن (1 ، 2 ، 3 ، 4 ايام) وإن إضافة الكازائين إلى مستخلص حبوب الرز ومستخلص بذور الحنطة زاد من الكتلة الحيوية المتكونة وقد بدا ذلك واضحا بصورة أكبر بعد 3و4ايام من الحضن ، إذ سجل الفطر زيادة معنوية ($P< 0.05$) في وزنه الجاف بعد تنميته في الوسط CRM، إذ بلغ معدله 12.06 و 16.0 ملغ / مل، على التوالي قياسا إلى وزنه الجاف بعد تنميته في الوسط RM الذي بلغ معدله 9.26 و 11.86 ملغ / مل في مدد الحضن نفسها، كما تفوق الفطر *B . bassiana* في وزنه الجاف في الوسط الزرعي CWM الذي بلغ معدله 8.14 و 10.86 ملغ / مل بعد 3و٤ايام من الحضن، على التوالي مقارنة بمعدل وزنه الجاف على الوسط الزرعي WM والذي بلغ 7.2 و 7.14 ملغ / مل بعد 3و4ايام من الحضن على التوالي. كما أظهرت النتائج في (الجدول 1) تأثير مستخلص الخميرة الفعال في زيادة الوزن الجاف للكتلة الحيوية للفطر بعد إضافته إلى الوسط RM والذي بلغ معدله 11.34 و 13.86ملغ / مل الحضن بعد 3و4ايام من الحضن، فيما بلغ معدل الوزن الجاف بدون هذه الإضافة 9.26 و 11.86ملغ / مل، على التوالي. لم يؤثر مستخلص الخميرة معنويا في معدل إنتاج الكتلة الحيوبة للفطر بعد إضافته إلى الوسط الزرعي WM إذ بلغ معدل الوزن الجاف للفطر قبل الإضافة 7.2 و 7.14ملغ / مل بعد 3و4ايام من الحضن، على التوالي ، وبلغ معدل الوزن الجاف بعد الإضافة 5.8 و 6.46 ملغ / مل بعد 3و4ايام من الحضن ،وهذا يدل على دور مستخلص الخميرة في دعم مستخلص بذور الحنطة لتحفيز الفطر على انتاج الابواغ بطريقة microcycle conidiation(٧، ١٢، ١٥) بدلا من تحفيزه على انتاج الغزل الفطري الذي قد يبدي تاثيره بشكل واضح فيما لو كانت هناك زيادة في نموه مقارنة بعدم وجوده ويتوضح ذلك بصورة اكبر من خلال دور مستخلص الخميرة في تحفيز الفطر بكمية اكبر على انتاج الابواغ وكمية اصغر على انتاج الكتلة الحيوية بعد 3و4ايام من الحضن مقارنة بما حصل عكسيا في الوسط الزرعي المزود بمستخلص بذور الحنطة بعد نفس المدد من الحضن.

جاءت هذه الدراسة مشابهة من حيث الهدف لدراسة سابقة (19)، التي أظهرت اختلافات في تأثير عدد من التوليفات بين المصادر النتروجينية وسكر الدكستروز في معدل النمو الخضري للفطرى *Entomophthora. virulenta* وقد تفوقت التوليفة (مستخلص الخميرة مع الدكستروز) في تأثيرها الإيجابي في الفطر لإنتاج الكتلة الحية التي بلغ معدل وزنها الجاف 2.13 و 2.02 ملغ / مل بعد 24و 48 ساعة من الحضن، على التوالي، مقارنة ببقية التوليفات . وفي الواقع إن دراسة التوليف بين الكازائين ومستخلص الخميرة مع المصادر الكربونية المركبة مثل مستخلص حبوب الرز ومستخلص بذور الحنطة وتأثيرها في معايير نمو الفطريات ومنها الفطر *B . bassiana* قلما تم تناولها.

تأثير المكونات الغذائية في حيوية الفطر *B . bassiana* في مدد حضن مختلفة

بينت النتائج في الجدول 2 تأثر حيوية الفطر في مكونات الأوساط الزرعية طيلة مدة نموه فيها، إذ تفوق الوسط الزرعي CRM في دعم حيوية الفطر *B . bassiana* في مدد الحضن المختلفة مقارنة ببقية الأوساط التي انخفضت فيها حيوية الفطر طيلة مدد الحضن.

كما أثر عامل الزمن في تحديد حيوية الفطر خلال مراحل نموه، ففي الوقت الذي سجل فيه الفطر أعلى مستوى من الحيوية 74.0% في الوسط CRM كان هناك انخفاضاً واضحا ($P< 0.05$) في نسبة حيويته(44.1%) بعد يومين من الحضن و(45.2%) بعد اربعة ايام من الحضن وخفضا غير معنوي ($P\geq 0.05$) بعد ثلاثة ايام(69.6%) وثمانية ايام(63.0%) من الحضن. ومن ناحية أخرى تفوق الفطر بفروق معنوية ($P< 0.05$)في حيويته (50.5%) في الوسط الزرعي CM بعد يوم واحد من الحضن مقارنة بحيويته في الوسط نفسه بعد 2و3و4ايام من الحضن والتي بلغت 36.5% و 24.2% و 15.3% ، على التوالي ،وبفروق غير معنوية ($P\geq 0.05$) مقارنة بحيويته بعد ثمانية ايام من الحضن التي بلغت 41.5% كما موضح في الجدول 2.

كما تأثرت حيوية الفطر في مدة حضنه طيلة الخمس مدد التي سجل فيها الفطر نسبا مختلفة من الحيوية التي بلغ أعلى معدل لها 74.o% في الوسط CRM و 50.5% في الوسط

CM بعد يوم من الحضن و 42.9% في الوسط RM بعد ثمانية أيام من الحضن و 36.4% في الوسط SM بعد أربعة أيام من الحضن.

على الرغم من حالة التباين الحاصلة في نسبة حيوية الفطر التي تتأثر بطريقة ما في طبيعة المواد الثانوية المنتجة من الفطر ونوعها نتيجة لنشاطه الحيوي في داخل تلك الأوساط المختلفة (20). غير أن حصيلة التأثير العام لمكونات الأوساط الزرعية كانت في اتجاه المحافظة على حيوية الفطر بمستويات لا تختلف معنويا ($P \geq 0.05$) عما هو في مدة الحضن الأولى، وكان من بين أفضل تلك الأوساط التي يمكن الاعتماد عليها للحصول على كميات كبيرة وذات حيوية عالية من الأبواغ هو الوسط CRM.

قد تكون لهذه النتائج أكثر من دلالة في أهميتها تتجاوز حدود تأثير تلك المكونات الغذائية في حيوية الفطر فقط بل لتشمل أهميتها في سرعة الإنبات التي لها دور رئيس في تحديد مستوى كفاءة الفطر في التطفل ناهيك عن دور المكونات الغذائية المخزون منها في أبواغ الفطر في تحفيز بعض الأنزيمات الرئيسة في عملية اختراق الفطر لجسم العائل ، إذ وجدSafaviوآخرون2007 (17) خلال دراستهم أن بعض عزلات الفطر *B . bassiana* تمتلك أنزيم الـ serine (Pr1) protease ذا فاعلية عالية بعد تنميتها في الوسط الزرعي 1% مستخلص خميرة و 2% ببتون مقارنة بتنميته في أوساط زرعية أخرى . كما وجدوا أن نسبة الأبواغ الكونيدية أعلى من نسبة الأبواغ البلاستية . كما بين (21)، إن الأوساط الزرعية قد أثرت في إنبات الفطر *M. anisopliae* وضراوته ونموه الخضري، إذ وجدوا أن الكونيدات المستخلصة من الوسط CZapek المزود بـ 3% من اللاكتوز كانت أكثر ضراوة وأسرع إنباتا مقارنة بالوسط الزرعي اجار – دكستروز – مستخلص البطاطا المزود بمستخلص الخميرة.

جدول2:.تأثير المكونات الغذائية في حيوية الفطر *B.bassiana* % بعد مدد حضن مختلفة عند درجة حرارة 28 ± 1 م°.

الاوساط الزرعية	1 يوم	2 يوم	3 يوم	4 يوم	8يوم
المحلول الملحي الاساس S	A 27.1 dc	A 30.3 a	A 24.8 b	A 36.4 ab	A 20.1 c
وسط مستخلص حبوب الرز RM	AB 34.6 c	BC 33.1 a	D 16.7 c	B 28.8 b	A 42.9 b
وسط الكازائين CM	A 50.5 b	B 36.5 a	C 24.2 bc	D 15.3 c	AB 41.5 c
وسط الكازائين + مستخلص حبوب الرز CRM	A 74.0 a	B 44.1 a	A 69.6 a	B 45.2 a	A 63.0 a

. الحروف المتشابهة تعني لاتوجد فروق معنوية بين المعاملات ($p \geq 0.05$).

. الحروف الصغيرة للمقارنة بين المعاملات في العمود الواحد.

. الحروف الكبيرة للمقارنة بين المعاملات في الصف الواحد.

References

1- Sahayaraj, K., S.K.R. Namasivayam. 2008. Mass production of enomopathogenic fungi using agricultural products and products. African . J. Biotechnol . 7(12). 1907 – 1910.

2- Babu, V., S. Murugan and p. Thangaraja. 2001 . Laboratory studies on the efficacy of neem and the entomopathognic fungus *Beauveria bassiana* on *Spodoptera litura* . Entomology, 56: 56 – 63.

3- Feng, M. G., T. J. Poprawski, , G. G. Khachatourians. 1994. Production, formulation and application on the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control; current status biocont. Sci technol. 4; 3-34.

4- Santa, H.S.D., O.R.D. Santa, D.Brand, L.P.S. Vandenberghe and C.R. Socccol. 2005. Spore production of *Beauveria bassiana* from agro – industrial residues. Braz. Arch. Biol. Technol. 48: 51-60.

5- Jenkins, N. E., G. Heviefo, J. Langewald, A. J. Cherry and, C .J. lower. 1998. Development of mass production technology

for aerial conidia for use as mycopesticides. Biocontrol New and Information. No.1.21N-31N.

6- Nelson, T. L., A. low and T. R. Glare. 1996 .Large scale production OF New Zealand strains of *Beauveria* and *Metarhizium*. Poc.49th N.Z. Plant Protection Conf. 257-261.

7- Rombach, M. C. 1989. Production of *Beauveria bassiana* [Deuteromycotina. Hyphomycetes] sympoduloconidia in submerged culture . Entomophaga .34 (1): 45-52.

8- Mascarin, G.M., S.B. Alves and R.B. Lopes. 2010. Culture media selection for mass production of *Isaria fumosrosea* and *Isaria farinosa*. Braz. Arch. Biol. Technol. 53(4): version ISSN 1516 – 8913.

9- Larone, D.H.2007. Medically Important Fungi. Agide to identification. M.T. (Ascp), M.S. New York. San Francisco, London. pp. 146.

10- Dokken, F. 2007. Submerged fermentation of *Colletotrichum truncatum* for biological control of Scentless Chamomile. A thesis for the degree of master of science. University of Saskatchewan, Saskatoon.

11- Alves , S. B and R. M. pereira .1989. Production of *Metarhizim anisopliae* (Metsch). Sorok and *Beauveria bassiana* (Bals). Unilloin in plastic trays. Ecossistema 14,188-192.

12- Rombach,M.C.,R.M. Aguda and D.W. Roberts. 1988.Production of *Beauveria bassiana* in different liquid media and subsequent conidiation of dry mycelium. Entomophaga. 33: 315-324.

13- Sun, M. H. and X. Z. Liu. 2006. Carbon requirements of some nematophagous entomopathogenic and mycoparasitic Hyphomycetes as fungal biocontrol agents. Myopathological. 161: 295 – 305.

14- Goettle, M.S. and G.D. Inglis. 1997. Fungi: Hyphomycetes . Manual of Technques in Insect Pathology. Edited by A.L. Lacey. Academic Press New York, 410pp.

15- Bidochka, M. J. and G.G. khchatourians. 1987. Hemocytic defense response to the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* in the migratory grasshopper *Melanoplus sanguinipes*. Entomol. Exp. Appl. 45: 151-156.

16- Bansal, R.K., R.K. Walia and D.S. Bhtti. 1988. Evaluation of some agro-industrial wastes for mass propagation of the nematode parasitic fungus *Paecilomyces lilacinus* . Nematol . Medit . 16 : 135-136.

17- Safavi, S. A., F. A. Shah, A. K. Pakdel and G. R. Rasoulian .2007. Effect of nutrition on growth and virulence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* .FEMS Microbiology letters . 270 (1) (Abstract).

18- Samsinakova, A. and S. Kalalova.1981.Mass production of *Beauveria bassiana* for reglution of *Leptinotarsa decemlineata* populations. J.Invertb.Pathol.38.169-174.

19- Perry, D.F. and J.P. Latge. 1980. Chemically defined media for growth and sporulation of *Entomophthora virulenta* . J. Invertb . Pathol . 35 : 43-48 .

20- Müller,E. and W. Loeffler. 1976.Mycology.Translated by Bryce Kendrick and Barlocher.Georg Thieme Publishers Stuttgart.306pp.

21- Ibrahim , L. , T.M. Butt and P.Jenkinson . 2002. Effect of artificial culture media on germination , growth , virulence and surface properties of the entomopathogenic hyphomycete *Metarhizium anisopliae*. Mycol. Res. 106: 705-715. (Abstract)