

تأثير تلقيح بذار البندورة بعزلتين محليتين من الفطر *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. في نمو النباتات وفي السيطرة على يرقات حافرة أوراق البندورة *Tuta absoluta* (Meyrick)

أمل حاج حسن⁽¹⁾ * ومحمد أحمد⁽²⁾ وعمر حمودي⁽¹⁾ وماجدة مفلح⁽³⁾

(1). مركز البحوث العلمية الزراعية باللاذقية، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، سورية.

(2). قسم وقاية النبات، كلية الهندسة الزراعية، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.

(3). الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دمشق، سورية.

(*) للمراسلة: أمل حاج حسن. البريد الإلكتروني amal.haj@gmail.com هاتف: 0944612582.

تاريخ القبول: 2024/08/5

تاريخ الاستلام: 2024/05/17

الملخص

أجريت هذه الدراسة لتقييم الاستعمار الداخلي لنباتات البندورة بعزلتين محليتين من الفطر الممرض للحشرات (Sordariomycetes: *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin Hypocreales) هما b8 المعزولة من عذراء حشرة سوسة النخيل و b10 المعزولة من تربة بستان حمضيات في محافظة اللاذقية وأثر ذلك في نمو نبات البندورة وفي السيطرة على حافرة أوراق البندورة *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera Gelechiidae) عن طريق البذور باستخدام ثلاث تقنيات مختلفة هي نقع البذور بالمعلق البوغي للفطر ونقع البذور بالصمغ والمعلق البوغي وسقاية البذور. خلال الفترات 30 و 45 و 60 يوما بعد التلقيح، وبينت النتائج كفاءة كلا العزلتين في استعمار كافة أجزاء النبات (جذر، ساق وأوراق) بنسب متفاوتة دون وجود فرق معنوي بينهما، وأعلى نسبة استعمار تم تسجيلها على الأوراق 100% للعزلة b8 و 96.30% للعزلة b10 بعد 45 يوما من التلقيح بطريقة سقاية البذار بمعلق الفطر. تفوقت طريقة السقاية معنويا على الطريقتين الأخريين بعد 30 يوما من التلقيح، أما في باقي الأيام 45 و 60 يوما لم يسجل فرق معنوي بين طرق التلقيح، كذلك تفوق معدل استعمار الأوراق معنويا عن معدل استعمار الجذور والسيقان معظم أوقات التقييم وبكافة طرق التلقيح. زادت كلا عزلتي الفطر من طول نباتات البندورة والوزن الرطب والجاف لها بشكل معنوي مقارنة مع نباتات الشاهد بعد 60 يوما من التلقيح. اختلفت نسب الموت التي سببتها عزلتا الفطر ليرقات حافرة أوراق البندورة باختلاف طريقة التلقيح خلال أيام التجربة وتم تسجيل أعلى نسبة موت (89.67±9.43%) لدى العزلة b8 و (86.67±4.17%) لدى العزلة b10 في اليوم الأخير للتجربة وذلك في معاملة سقاية البذار بمعلق الفطر.

الكلمات المفتاحية: الاستعمار الداخلي للنباتات، حافرة أوراق البندورة *Tuta absoluta*، الفطور الممرضة للحشرات، الفطر *Beauveria bassiana*، نباتات البندورة.

المقدمة:

حافرة أوراق البندورة (*Lepidoptera: Gelechiidae*) *Tuta absoluta* (Meyrick)، واحدة من أهم الآفات التي تصيب نباتات البندورة *Solanum lycopersicum* L. سواء المزروعة بالحقول المكشوفة أو ضمن البيوت المحمية في العالم، وكان أول ظهور لها هو البيرو في أمريكا الجنوبية عام 1917 بعد ذلك انتشرت في جميع أنحاء أمريكا الجنوبية (Biondi et al., 2018). ويعتقد أنها انتقلت إلى أوروبا خلال المبادلات التجارية حيث تم اكتشافها لأول مرة في اسبانيا عام 2006 ومنها انتشرت إلى باقي الدول الأوروبية ومن ثم إلى إفريقيا وآسيا (Campos et al., 2017; Biondi et al., 2018). تحدث يرقات هذه الحشرة الضرر للنبات عن طريق الحفر ضمن أوراق وسيقان وثمار النباتات (Miranda et al., 1998; Desneux et al., 2010) وذكر Cherif وVerheggen (2019) بأن هذه الحشرة تتغذى على 44 نوعاً من النباتات المزروعة والأعشاب لمختلف الفصائل النباتية وخاصة نباتات العائلة الباذنجانية وارتفع هذا العدد إلى 52 عائلاً حسب ما تم إضافته مؤخراً من قبل Colmenarez وآخرون (2022). وفي الحقيقة غالباً ما تقشل مكافحة الكيمائية لها في تحقيق الغرض المنشود منها بسبب طبيعة تغذية الحشرة ضمن أنسجة النبات مما يؤدي إلى زيادة أنواع ومعدلات استخدام المبيدات الكيميائية ضدها من قبل المزارعين (Desneux et al., 2010). وهذا الاستخدام المفرط للمبيدات كان سبباً في اكتساب صفة المقاومة لمعظم المبيدات لدى الحشرة (Guedes and Picanço, 2012; Roditakis et al., 2018; Guedes et al., 2019) هذا بالإضافة إلى ما تخلفه هذه المبيدات من الآثار السلبية الكبيرة على البيئة وصحة الإنسان وكذلك على الأعداء الحيوية النافعة (Biondi et al., 2018; Pandey et al., 2023)، الأمر الذي دفع إلى البحث عن طرق مكافحة بديلة تعتمد على الحد من استخدام المبيدات الكيميائية في السيطرة على هذه الآفة (Biondi et al., 2023; Colmenarez et al., 2022; Pandey et al., 2023). ومن أهم هذه البدائل لدينا مكافحة الحيوية التي تتضمن استخدام الفطور الممرضة للحشرات التي تتمكن أبواغها من الدخول بشكل مباشر إلى جسم الحشرة والانتاش هناك والتكاثر ضمن هيولى الحشرة مسببة الموت لها (Zacharuk, 1981; Vega et al., 2012; Joop and Vilcinskas, 2016)، ومن أهم هذه الفطور لدينا الفطر (*Ascomycota: Hypocreales*) *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil الذي نجح في السيطرة على العديد من الآفات الحشرية أولاً بسهولة عزله وسرعة تكاثره وعدم حاجته لمتطلبات غذائية خاصة وتأثيره الإيجابي في نمو الكثير من النباتات فضلاً عن تأثيره في كبح الكثير من المسببات المرضية للنبات وبآليات مختلفة (Agrios, 2005). وعادة ما يتم تطبيق الفطور الممرضة للحشرات عن طريق الرش المباشر على الآفات مثل المبيدات الكيميائية لكن حديثاً أظهرت الدراسات أن الفطور الممرضة للحشرات ومن ضمنها الفطر *B. bassiana* لديها القدرة على استعمار أنسجة النباتات المختلفة والعيش ضمنها دون إحداث أي ضرر وعرفت هذه الظاهرة بمصطلح (Endophytes) (Wilson, 1995) وبهذه الحالة يكون لها تأثير على الآفات الحشرية وتلعب دوراً إيجابياً في تعزيز نمو وتطور النبات (Vega et al., 2008; Gurulingappa et al., 2011; Jaber and Ownley, 2018). ولقد ذكر بأن وجود الفطور الممرضة للحشرات داخل النبات يؤمن لها الحماية من الظروف البيئية المعاكسة كالحرارة والاشعاع الشمسي والجفاف مما يزيد من استمراريته (Resquin-Romero et al., 2016)، حالياً يوجد بضعة دراسات بحثت في استعمار نباتات البندورة من قبل الفطور الممرضة للحشرات وأثر ذلك في مكافحة حافرة أوراق البندورة وفي تعزيز نمو نباتات البندورة (Klieber and Reineke, 2016; Allegrucci et al., 2017; Agbessenou et al., 2020; Silva et al., 2020; Ibrahim et al., 2021; Agbessenou et al., 2022; Tasci and MUSTU, 2023; Giannoulakis et al., 2023). يهدف هذا البحث لدراسة مقدرة العزلتين المحليتين (b8 و b10) من الفطر الممرض للحشرات *B. bassiana* على الاستعمار

الداخلي لنباتات البندورة عن طريق البذور الملقحة بها بعدة تقنيات (نقع بالمعلق البوغي، نقع بالصمغ والمعلق البوغي وسقاية البذور بالمعلق البوغي) وتأثير ذلك على نمو نباتات البندورة وعلى السيطرة على يرقات حافرة أوراق البندورة *T. absoluta*.
طرائق البحث ومواده:

عزلات الفطر *Beauveria bassiana*:

استخدم في البحث العزلتان (b8, b10) من النوع *B. bassiana* جدول (1) المعزولتان خلال عامي 2018/2019 بطريقة Galleria Bait Method الموصوفة من قبل Zimmermann (1986)، واللذان تم تعريفهما بناءً على مظهر الإصابة على اليرقات ثم على الشكل المورفولوجي للمستعمرات الفطرية وعلى شكل وحجم وأبعاد الأبواغ من خلال الفحص الميكروسكوبي وباعتماد المفاتيح التصنيفية لكل من (Samson, 1981, Poiner and Thomas, 1984, Humber 2012)، وقد أظهرت كلتا العزلتين قدرتهما الإيمراضية المرتفعة لكافة أطوار حافرة أوراق البندورة (بيض ويرقات وبالغات) مخبرياً في دراسة سابقة (أحمد، وآخرون 2023).

الجدول (1): مصدر عزلات النوع الفطر *Beauveria bassiana* المستخدمة في التجارب المستخدمة في البحث

العزلة	المصدر	المنطقة	الاحداثيات الجغرافية	تاريخ العزل
b8	عذراء سوسة النخيل	محافظة اللاذقية مدينة النخيل	35°31'N 35° 47'E	2018/11/19
b10	تربة (بستان زيتون)	منجلا	35°32'53"N 35°55'8"E	2019/3/12

تحضير المعلق البوغي:

نميت عزلات الفطر المراد اختبارها في أطباق بتري 9 سم تحوي مستنبت PDA (Potato Dextrose Agar)، حيث زرعت ثلاثة أطباق من كل عزلة فطرية مراد اختبارها، ثم حضنت الأطباق في الظلام على درجة حرارة $25 \pm 2^\circ\text{C}$ لمدة 10 يوم حتى تمام التبوغ. حصدت الأبواغ بإضافة 10 مل من الماء المقطر المعقم المضاف إليه محلول Tween 80 0.05% في كل طبق وتم ترشيح المعلق البوغي عبر طبقتين من ورق الترشيح العادي المعقم. ثم حسب تركيز المعلق البوغي باستخدام شريحة ميكرومترية. وغُذِل المعلق البوغي بإضافة ماء معقم مضافاً له محلول Tween 80 0.05% للوصول إلى التركيز المطلوب للدراسة 10^8 بوغة/مل (Lacey, 2012).

قُدرت نسبة إنبات الأبواغ من خلال تلقيح طبقي بتري بقطرة من المعلق البوغي لكل عزلة، ثم حُضنت الأطباق على درجة حرارة $25 \pm 2^\circ\text{C}$ لمدة 24 ساعة، ثم فحصت حوالي 200 بوغة كونيديا على الأقل من كل طبق، واعتبرت البوغة منتشة إذا تجاوز طول انبوبة الانبات نصف طول البوغة.

معاملة البذور وتقنيات التلقيح:

استخدم في التجربة بذار بندورة صنف (Westfrisian – the Netherland) Mandaloun F1، عقت البذور سطحياً قبل التجربة باستخدام محلول الايثانول 70% لمدة 5 دقائق ومن ثم شطفها بالماء المعقم 5 مرات ثم وضعها على ورق ترشيح عادي معقم لمدة نصف ساعة لتجف هوائياً قبل إجراء معاملات الإلقاح، وللتأكد من جودة التعقيم تم زراعة 15 بذرة اخذت بشكل عشوائي على مستنبت PDA في ثلاثة أطباق بتري (9سم) بمعدل 5 بذار في الطبقة الواحد وحضنت على حرارة $25 \pm 2^\circ\text{C}$ س (Parsa et al., 2013, Allegrucci et al., 2017). وباقي البذار استخدمت في عملية التلقيح على الشكل التالي:

1. نقع بالمعلق البوغي للفطر لمدة 24 ساعة قبل الزراعة تركيز 1×10^8 بوغة/مل
2. نقع البذور بالصمغ العربي وذلك بإضافة 0.5 مل من الصمغ ل 0.5 مل من المحلول البوغي تركيز 1×10^8 بوغة/مل
3. سقاية البذور 20 مل من المعلق البوغي للعزلتين المدروستين تركيز 1×10^8 بوغة/مل عند الزراعة.

4. نباتات الشاهد مجموعة نفعت البذار بالماء المعقم الحاوي على توين 80 بتركيز 0.02% لمدة 24 ساعة ومجموعة ثانية سقيت 20 مل من الماء المعقم الحاوي على توين 80 بتركيز 0.02%.

ضمت كل معاملة 3 مكررات كل مكرر 10 نباتات

جففت البذار المنقوعة بكل من المعلق البوغي للفطر والصمغ العربي والماء بعد 24 ساعة على ورق ترشيح معقم في غرفة العزل لمدة 30 دقيقة تقريباً ثم زرعت في اكواب بلاستيكية (قطر 15 سم) على عمق 2 سم تقريباً وتمت الزراعة في خلطة ترابية مكونة من مزيج رمل + تربة + تورب (1:1:1) المعقمة في الأتوغلاف لمدة ساعة لثلاث مرات قبل بضعة أيام من استخدامها. ووضعت الأكواب ضمن أحواض بلاستيكية تحوي الماء للسقاية بشكل مستمر حتى لا يحدث فقد لأبواغ الفطر نتيجة إضافة ماء السقاية فوق النباتات ووضعت الأحواض في المخبر على درجة حرارة $25 \pm 2^\circ$ س لحين الإنبات ثم نقلت إلى الأقفاص الشبكية. ولتقدير تركيز ابواغ الفطر في البذار في معاملة النقع بالمعلق البوغي والتغليف بالصمغ العربي، تم أخذ 5 بذور من كل معاملة بعد تجفيف البذار وأضيف إليها 1 مل ماء مقطر معقم وهرست جيداً في جفنة بورسلان وإجريت 3 تخفيفات للمحلول الأم لحساب ال CFU (عدد المستعمرات المتشكلة) من البذرة (Klieber and Reineke, 2016).

حشرات الاختبار:

جمعت أوراق بندورة مصابة بالحافرة من بيوت محمية مزروعة بالبندورة لتربية حشرة حافرة أنفاق البندورة من مناطق جبلة وبانياس، ونقلت إلى أقفاص تحوي نباتات بندورة مزروعة في أصص بلاستيكية سعة 4 ليتر، وبعد تكاثرها والتأكد من خلو المستعمرات من الإصابة بأي عدو حيوي أو ممرضات حشرية نقلت فراشات الجبل الجديد إلى نفق بلاستيكي مزروع بالبندورة ومعد لتربية الحشرة وتركت للتكاثر على نباتات البندورة، بعد انتشار العدوى بنسبة تجاوزت 95% على النباتات المزروعة جمعت الأوراق والأفرع المصابة بالحشرة في أكياس من البولي إيثيلين ونقلت إلى مخبر الحشرات الاقتصادية في مركز البحوث العلمية باللاذقية، ثم وضعت في علب بلاستيكية (10×15×25) سم مزودة بغطاء يحوي فتحة من الموسيلين الناعم ووضعت في الحاضنة على درجة حرارة $25 \pm 2^\circ$ س لإجبار اليرقات على الخروج من الأنفاق عند جفاف الأوراق والأفرع، ثم جمعها باستخدام فرشاة ناعمة من شعر الجمل، وتم فصل الأطوار اليرقية حسب طول اليرقة حوالي 1.6، 2.8، 4.7، 7.7 مم للعمر الأول والثاني والثالث والرابع على التوالي (Nayana et al., 2015).

تقييم الاستعمار الداخلي للفطر لشتول البندورة:

تم الكشف عن الاستعمار الداخلي لعزلي الفطر *B. bassiana* (b8 و b10) في شتول البندورة بعد 30، 45 و 60 يوم من الزراعة، وفي كل تاريخ للتقييم تم اقتلاع 5 نباتات من كل معاملة عشوائياً، ثم غسلها جيداً بماء الصنبور الجاري، ثم أخذ من كل نبات 3 وريقات و 3 قطع من الساق بطول 5 سم تقريباً لكل قطعة وكذلك 3 قطع من الجذور بطول 5 سم وغسلت بالماء العادي وتم تعقيمها سطحياً بغمسها بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم 2.5% لثلاث دقائق ثم بالكحول الإيثيلي 70% لدقيقتين من ثم غسلت بالماء المعقم ثلاث مرات لمدة دقيقتين كل مرة ووضعت على ورق نشاف معقم عادي في غرفة العزل حوالي نصف ساعة لتجف، وقد تم أخذ 3 مل من ماء الغسيل النهائي ووزعت على 3 أطباق بتري تحوي مستنبت PDA 1 (مل/طبق) وحضنت لمدة أسبوعين للتأكد من فاعلية عملية التعقيم بحال لم يتشكل لدينا أي نمو فطري. أما الأجزاء النباتية المعقمة (أوراق، سوق وجذور) بعد جفافها تم قص حوافها بمقص معقم لاستبعاد الانسجة الميتة جراء عملية التعقيم ثم تقطيعها إلى قطع صغيرة متماثلة (4-5 مم تقريباً) باستخدام مشروط معقم بشكل عشوائي، وتم وضع 9 قطع من كل جزء نباتي في أطباق بتري (9 سم) يحوي مستنبت PDA بواقع

ثلاث مكررات من كل جزء (جذر/ساق/ورقة) ومن ثم وضعت في الحاضنة في الظلام على درجة حرارة $25 \pm 2^\circ\text{C}$ لمدة أسبوعين (Parsa et al., 2013, Allegrucci et al., 2017) وفحصت بانتظام لمراقبة نمو الفطر عليها. وبحال ظهور الفطر يتم نقله لطبق بتري جديد يحتوي على مستتب PDA وتحضينه ومتابعة نموه ودراسته مورفولوجيا تحت المجهر الضوئي للتأكد من أنه الفطر المدروس، بعد ذلك تم حساب استعمار الأجزاء المختلفة للنبات (جذر، ساق، ورقة) بالعزلتين المدروستين (b_8 ، b_{10}) على النحو التالي (Petrini & Fisher, 1986):

$$\% \text{ الاستعمار} = [\text{عدد القطع النباتية التي تواجد عليها الفطر} / \text{العدد الإجمالي للقطع النباتية}] \times 100$$

تقييم دور الاستعمار الداخلي لعزلتي الفطر *B. bassiana* على نمو نباتات البندورة:

تم دراسة تأثير الاستعمار الداخلي لكلا العزلتين (b_8 و b_{10}) في نمو البندورة عن طريق حساب ارتفاع النبات والوزن الطري والوزن الجاف للنباتات المستعمرة بطرق الإلقاح المختلفة، أخذت 5 نباتات عشوائياً من كل معاملة بعد حوالي 60 يوماً وحسب طول النبات من سطح التربة إلى قمة النبات بالمسطرة ثم قلعت النباتات مع الجذور ونقلت إلى المختبر وتم حساب وزنها الطري، ثم وضعت في أكياس ورقية ووضعت في الفرن على درجة حرارة 60°C س وبعد ثلاثة أيام تم حساب الوزن الجاف للنباتات بالميزان نفسه (Canassa et al., 2019).

تأثير التلقيح بعزلتي الفطر *B. bassiana* (b_8 و b_{10}) على يرقات حافرة أوراق البندورة:

تم وضع أوراق (1-2 ورقة) من نباتات البندورة المستعمرة بكلتا العزلتين (b_8 و b_{10}) من الفطر *B. bassiana* باستخدام طرق التلقيح الثلاثة للبذار الموصوفة سابقاً في أطباق بتري (9 سم) تحتوي على روق ترشيح مرطب في أسفلها وتم نقل 10 يرقات من حافرة أوراق البندورة بالعمر الثاني أو الثالث إليها وتم حساب نسبة الموت كل يومين لمدة 8 أيام. خلال هذه الفترة تم إضافة أوراق جديدة غير مستعمرة للتغذية كل يومين أما في معاملة الشاهد تم إضافة أوراق من نباتات غير مستعمرة، حيث تنقل اليرقات الميتة في كل قراءة إلى أطباق بتري معقمة تحوي ورقة ترشيح مرطبة ووضعها في الحاضنة ومتابعتها للتأكد أن الموت حدث بسبب الإصابة بالفطر *B. bassiana* (Silva et al., 2020) وفي نهاية التجربة تم حساب نسبة موت اليرقات (%) على النحو التالي:

$$\% \text{ نسبة الموت} = (\text{عدد اليرقات الميتة} / \text{عدد اليرقات الكلية}) \times 100$$

التحليل الإحصائي:

حللت النتائج احصائياً باستخدام البرنامج الإحصائي CO-STAT 6.4 وتم استخدام تحليل التباين (ANOVA) لتقييم الاختلافات بين تقنيات الإلقاح ووقت تواجد الفطر في أجزاء النبات المختلفة والتفاعل بين المتغيرين، واختبرت الفروق المعنوية بين المتوسطات باختبار LSD عند مستوى معنوية 5%.

النتائج والمناقشة:

الاستعمار الداخلي لأجزاء نبات البندورة بعزلتي الفطر *B. bassiana* (b_8 و b_{10}):

أظهرت النتائج كفاءة كل من العزلتين b_8 و b_{10} من الفطر *B. bassiana* في استعمار كافة أجزاء نبات البندورة (جذر، ساق وأوراق) صناعياً عن طريق البذار بالطرق الثلاثة المتبعة في التلقيح (نقع البذار بمعلق الفطر، النقع بالصمغ ومعلق الفطر وري البذار بالمعلق الفطري) حيث عزلت كلتا العزلتين من أجزاء النبات المختلفة بعد 30، 45 و 60 يوماً من التلقيح في حين لم يسجل أي وجود فطري في أي من معاملات الشاهد، ومن الجدير بالذكر أنه لم يسجل أي نمو فطري من ماء الغسيل الأخير لأجزاء النبات ولا من أطباق البذور المعقمة وهذا يدل على كفاءة عملية التعقيم وأن الفطور المعزولة هي ناتجة عن عميلة التلقيح، وكان هناك

فرق معنوي بين طرق التلقيح الثلاثة بعزلتي الفطر b8 ($F=5.121$, $df=2$, $p=0.017$) و b10 ($F=9.538$, $df=2$, $p=0.001$)، كذلك تم تسجيل فروقات معنوية في نسبة استعمار أجزاء النبات المختلفة لدى العزلتين b8 ($F=7.847$, $df=2$, $p=0.004$) و b10 ($F=27.998$, $df=2$, $p<0.0001$) بعد 30 يوماً من التلقيح. وسجلت أعلى نسبة استعمار على الأوراق 92.59% للعزلة b8 و 88.89% للعزلة b10 وذلك في معاملة سقاية البذور. كانت أقل نسبة استعمار في الجذر 44.44% و 48.15% لكل من العزلتين b10 و b8 على التوالي في معاملة النقع بالصمغ مع معلق الفطر وذلك بعد 30 يوماً من التلقيح (جدول 2، 3). وقد تفوقت معاملة سقاية البذار بالفطر معنوياً على كل من معاملي النقع بالمعلق الفطري والنقع بالصمغ فكان متوسط نسبة الاستعمار الكلية لأجزاء النبات الثلاثة 77.78% لديها في حين كانت 65.43 و 62.96% لدى معاملي النقع بالمعلق لوحده والنقع بالصمغ مع المعلق الفطري على التوالي. وتوقع متوسط نسبة استعمار كل من الساق والأوراق معنوياً على متوسط نسبة استعمار الجذر لدى عزلي الفطر بعد 30 يوماً من التلقيح (جدول 2، 3). أما بعد 45 يوماً من التلقيح بدأت نسبة استعمار تنخفض في الساق والجذر وبالعزلتين b8 و b10 على التوالي (جدول 2 و 3) وقد تفوق متوسط نسبة استعمار الأوراق وسجلت أعلى نسبة لها 100 و 96.30% في معاملة السقاية لكلا العزلتين b8 و b10 على التوالي (جدول 2 و 3) وقد تفوق متوسط نسبة استعمار الأوراق معنوياً بطرق التلقيح الثلاثة تلاها متوسط نسبة استعمار الساق فالجذر للعزلتين b8 و b10 ($F=22.4$, $df=2$, $p<0.0001$) و ($F=20.36$, $df=2$, $p<0.0001$) على التوالي، ولم يتم تسجيل فروقات معنوية بين طرق التلقيح الثلاثة لكلا العزلتين b8 ($F=1.4$, $df=2$, $p=0.27$) و b10 ($F=1.28$, $df=2$, $p=0.33$). بعد 60 يوماً من التلقيح بالفطر لم يوجد فرق معنوي بين طرق التلقيح الثلاثة المستخدمة لكلا العزلتين b8 ($F=0.107$, $df=2$, $p=0.9$) و b10 ($F=0.322$, $df=2$, $p=0.73$). سجلت فروقات معنوية بين معدلات استعمار أجزاء النبات المختلفة (جذر، ساق وأوراق) لكل من العزلة b8 ($F=8.07$, $df=2$, $p=0.003$) والعزلة b10 ($F=15.52$, $df=2$, $p=0.001$) حيث تفوق متوسط نسب استعمار الأوراق والسوق معنوياً للعزلة b8 (64.20%) والعزلة b10 (51.85%) على التوالي على متوسط استعمار الجذور لكلا العزلتين 19.75% و 22.22% (b10) الجدولين (2 و 3). سجلت نسب استعمار النبات الأعلى لدى طريقة سقاية البذور بمحلول الفطر خلال كافة مراحل الكشف على الفطر ضمن النباتات وكانت معدلات استعمار الأوراق الأعلى بمعظم الحالات. ولقد تم الحصول على نتائج مقاربة مع نتائج هذه الدراسة لدى العديد من الباحثين فقد أفاد Klieber and Reineke (2016) أن المستحضر التجاري Naturalis® للفطر *B. bassiana* كان موجوداً بنسبة 100% في جميع أوراق البندورة الملقحة به بعد 18 يوماً، وقام Allegrucci وآخرون (2017) بتقييم الاستعمار الفطري لشتول البندورة بعد 7 و 14 و 28 يوماً من التلقيح بأبواغ الفطر *B. bassiana* وكانت أعلى القيم 29.44% لرش الأوراق و 22.21% لتغطية الجذور والأقل لغمر البذور بعد 7 أيام، كذلك Agbessenou وآخرون (2020) لقحوا نباتات البندورة ب 15 عزلة من الفطريات الممرضة للحشرات تنتمي إلى 7 أجناس مختلفة (*Beauveria* (7), *Metarhizium* (3), *Trichoderma* (3), *Hypocrea* (1), *Fusarium* (1)) باستخدام طريقة تلقيح البذور وأفاد أن 12 عزلة استعمرت جذور وسيقان و أوراق البندورة بمعدلات مختلفة بعد 4-5 أسابيع من التلقيح، Silva وآخرون (2020) سجلوا بأن الفطر *B. bassiana* استعمر جذور وسيقان شتول البندورة بعد 21 يوماً من التلقيح واستعمر النبات بأكمله بنسبة 100% بعد 30 يوماً، كما قام Ibrahim وآخرون (2021) بتلقيح نباتات البندورة بالفطرين *B. bassiana* و *Metarhizium anisopliae* عن طريق تلقيح البذور والحقن وذكروا أن معدل استعمار أوراق البندورة بعد 4 أسابيع من تلقيح البذور كان 75% للفطر *M. anisopliae* و 66.7% للفطر *B. bassiana*، وقال Agbessenou وآخرون (2022) أن معدلات

استعمار جذور وسيقان وأوراق البندورة بلغت 95، 90 و 85% على التوالي نتيجة تلقيح البذور بالعزلة M2RT4 من الفطر *Trichoderma asperellum*، وقد ذكر Tasci و Mustu (2023) بأن معدل استعمار نباتات البندورة بالفطرين *B. bassiana* و *Isaria farinose* يزداد مع مرور الأسابيع وأعلى نسبة استعمار لكلا الفطرين تم الحصول عليها في طريقة رش الأوراق بنسبة 100 و 69% على التوالي، أكدت الدراسات المذكورة اختلافات كبيرة في معدلات الاستعمار في النبات وفقا لطرق تلقيح النبات بالفطر الممرض للحشرات، والاختلاف بين الأنواع والعزلات والوقت المنقضي بعد التلقيح وكذلك تركيز الفطر المستخدم في التلقيح.

الجدول (2) % نسبة استعمار نباتات البندورة بالعزلة b10 من الفطر *B. bassiana* % الناتجة عن بذار معاملة بطرق مختلفة بعد 30، 45 و 60 يوم من التطبيق

الزمن	بعد 30 يوم من المعاملة			بعد 45 يوم من المعاملة			بعد 60 يوم من المعاملة			المتوسط	المعاملة
	جذر%	ساق%	ورقة%	جذر%	ساق%	ورقة%	جذر%	ساق%	ورقة%		
نقع بمعلق الفطر	51.85	70.37	74.07	48.15	59.26	81.48	25.93	48.15	62.96	a45.68	
نقع بالصمغ مع فطر	44.44	74.07	70.37	40.74	44.44	77.78	22.22	48.15	59.26	a43.21	
سقاية بذار بالفطر	62.96	81.48	88.89	37.04	62.96	96.30	18.52	59.26	70.37	a49.38	
المتوسط	*b53.08	a75.31	a77.78	c41.98	b55.55	a85.19	b22.22	a51.85	a64.20		
LSD 5%	A		B	A		B	A		B		
	7.64		7.64	14.21		14.21	16.27		16.27		

حيث A: طريقة التلقيح B: الجزء النباتي المستعمل

* القيم التي يتبعها حروف متشابهة ضمن الصف والعمود الواحد تدل على عدم وجود فرق معنوي بين المعاملات عند مستوى معنوية 5%

الجدول (3) % نسبة استعمار نباتات البندورة بالعزلة b8 من الفطر *B. bassiana* % الناتجة عن بذار معاملة بطرق مختلفة بعد 30، 45 و 60 يوم من التطبيق

الزمن	بعد 30 يوم من المعاملة			بعد 45 يوم من المعاملة			بعد 60 يوم من المعاملة			المتوسط	المعاملة
	جذر%	ساق%	ورقة%	جذر%	ساق%	ورقة%	جذر%	ساق%	ورقة%		
نقع بمعلق الفطر	55.56	66.67	70.37	48.15	59.26	74.07	29.63	40.74	55.56	a41.98	
نقع بالصمغ مع فطر	48.15	70.37	74.07	40.74	44.44	85.19	18.52	40.74	62.96	a40.74	
سقاية بذار بالفطر	66.67	81.48	92.59	37.04	66.67	100.00	11.11	51.85	74.07	a45.68	
المتوسط	*b56.79	a72.84	a79.01	c41.98	b56.79	a86.42	b19.75	a44.44	a64.20		
LSD 5%	A		B	A		B	A		B		
	12.17		12.17	14.21		14.21	23.3		23.3		

العامل A: طريقة التلقيح العامل B: الجزء النباتي المستعمل

* القيم التي يتبعها حروف متشابهة ضمن الصف والعمود الواحد تدل على عدم وجود فرق معنوي بين المعاملات عند مستوى معنوية 5%

تأثير التلقيح بعزلاتي الفطر *B. bassiana* (b8 و b10) على نمو نباتات البندورة:

أظهرت النتائج تأثيراً إيجابياً في مؤشرات نمو نباتات البندورة المدروسة (طول النبات، الوزن الرطب والوزن الجاف) بوجود عزلاتي الفطر *B. bassiana* داخله بعد 60 يوماً من التلقيح بالطرق المذكورة أعلاه، سجلت فروق معنوية بين العزلتين b8 و b10 والشاهد (F = 12.573, p = 0.004) وكذلك سجلت اختلافات معنوية بين طرق التلقيح الثلاثة المدروسة (F = 3.195, p = 0.07) حيث أعلى قياسات للطول تم تسجيله لدى النباتات المعاملة بالعزلة b8 فكان 49 سم في معاملة السقاية و 45.67 سم في معاملة النقع بالمعلق البوغي و 44 سم في معاملة النقع بالصمغ مع المعلق البوغي في حين كانت الأطوال المسجلة مع العزلة b10 (47.67،

44.67 و 42.33 سم) بطرق التلقيح الثلاثة على التوالي وبذلك لا يوجد فرق معنوي بين متوسط الطول للمعاملات الثلاثة للعزلتين b8 و b10 لكن كان هناك فرق معنوي بينهما وبين معاملة الشاهد، وسجلت فروق معنوية بين متوسطات الأطوال المسجلة بكل طريقة تلقيح فقد تفوقت معاملة سقاية البذار معنوياً على الطرق الثلاثة تلتها معاملة النقع بالمعلق البوغي فمعاملة النقع بالصمغ مع المعلق البوغي، وأعطت بيانات الوزن الجاف والرطب دلالات إحصائية وفروقا معنوية بين العزلتين وطرق التلقيح مماثلة لما تم تسجيله مع أطوال النباتات (جدول 4). في الوزن الجاف ($F = 10.874, p = 0.008$) للعزلتين والشاهد، ($F = 3.121, p = 0.0686$) لطرق التلقيح والوزن الرطب ($F = 14.530, p = 0.002$) للعزلتين والشاهد، ($F = 2.798, p = 0.0875$) لطرق التلقيح الثلاثة. لقد أظهرت العديد من الدراسات التأثير الإيجابي للتعايش الداخلي لأنواع مختلفة من الفطور ونمو العديد من النباتات المضيفة بما في ذلك البنندورة (Dash et al., 2018, Wei et al., 2020, Russo et al., 2018, Elena et al., 2011, Liu et al., 2022, Sani et al., 2023) وهذا ما أكدته النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة إذا عملية تلقيح نباتات البنندورة بعزلات الفطر *B. bassiana* أدت إلى زيادة في طول النبات وكذلك زيادة في الوزن الرطب والجاف مقارنة مع نباتات الشاهد وأنت هذه النتيجة متوافقة مع ما ذكره Wakil وآخرون (2024) من أن هناك تحسين في ارتفاع النباتات وطول الجذر وعدد الأوراق والكتلة الحيوية للنبات فوق وتحت التربة بشكل ملحوظ بعد تلقيح نباتات البنندورة بالعزلة WG-12 من الفطر *B. bassiana*، وكذلك عندما قام Zheng وآخرون (2023) بتلقيح نباتات البنندورة بخمسة أنواع مختلفة من الفطور الممرضة للحشرات من بينها الفطر *B. bassiana* أكدوا كل الأنواع المدروسة عززت من نمو النباتات مقارنة بالشاهد غير الملقح، وقد يكون تعزيز النمو في النباتات المستعمرة بسبب إنتاج مواد نشطة حيوية من قبل أجناس النوع *Beauveria* spp (Ownley&Jaber, 2018).

الجدول (4): الطول والوزن الرطب والجاف للنبات بعد معاملة البذار بالعزلتين b10 و b8 من الفطر *B. bassiana* في نهاية التجربة

المعاملة/العزلة		طول النبات / سم			الوزن الرطب للنبات / غ			الوزن الجاف للنبات / غ		
		b8	b10	شاهد	متوسط	b8	b10	شاهد	متوسط	شاهد
نقع بمعلق الفطر	ab45.52	45.6	44.6	39.6	ab43.34	278.3	289.9	221.3	ab263.21	40.0
نقع بصمغ مع فطر	b42.82	44.0	42.3	39.6	b42.00	250.6	264.6	221.3	b245.53	40.0
سقاية بذار بالفطر	a48.13	49.0	47.6	39.6	a45.45	305.5	301.7	221.3	a276.21	40.0
المتوسط		a46.2	a44.8	b39.67		a278.16	a285.45	b221.35	a46.67	b40.05
		A	A	B		A	A	B	A	B
		2.9	2.9	2.9		27.53	27.53	27.53	4.47	4.47
										LSD 5%

العامل A: طريقة التلقيح العامل B: العزلتين المدروسة والشاهد

* القيم التي يتبعها حروف متشابهة ضمن الصف والعمود الواحد تدل على عدم وجود فرق معنوي بين المعاملات عند مستوى معنوية 5%

تأثير النباتات المستعمرة داخلياً بالفطر *B. bassiana* في نسبة موت يرقات حافرة أوراق البنندورة *T. absoluta*:

أحدثت تغذية يرقات حافرة أوراق البنندورة على نباتات مستعمرة بالفطر نسباً متفاوتة من الموت لدى عزلتي الفطر (b8 و b10) وبطرق التلقيح الثلاثة المختبرة، حيث سجل الموت منذ اليوم الثاني لعملية التغذية ومع تقدم الوقت ارتفعت نسب الموت تدريجياً في اليوم الرابع والسادس وفي اليوم الثامن والأخير من التجربة بلغت أعلى نسبة موت 89.47% للعزلة b8 و 86.67% للعزلة b10 في معاملة سقاية البذار بالمعلق البوغي للفطر وأقل نسبة موت 50% لدى العزلة b10 في معاملة النقع بمعلق الفطر وكانت نسب الموت المسجلة في معاملة النقع بالصمغ مع الفطر 56.67% للعزلة b10 و 66.67% للعزلة b8 في اليوم الأخير للتجربة في

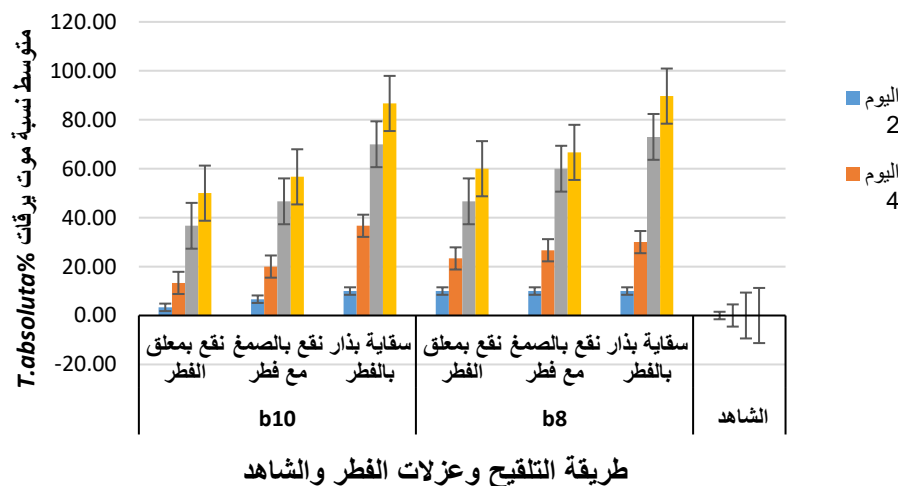
حين لم يسجل أي موتا في معاملة الشاهد (جدول 5) وعليه كان تأثير كلا عزلتي الفطر المدروسة إيجابيا ومتقاربا، وبملاحظة الشكل (1) يتبين أن التلقيح عن طريق سقاية البذار بمعلق الفطر كانت الأفضل في السيطرة على الحشرة تلتها معاملة النقع بالصمغ والفطر وأخيرا معاملة النقع بمعلق الفطر.

هذا وقد أظهرت دراسات سابقة أن الفطر *B. Bassiana* كان قادرا على استعمار نباتات البندورة والباذنجان وحقق حماية للنباتات من الإصابة بحافرة أوراق البندورة (Agbessenou, 2020)، و ذكر Allegrucci وآخرون (2017) أن أعلى نسبة موت ليرقات حافرة أوراق البندورة نتيجة التغذية على نباتات بندورة ملقحة بالفطر *B. bassiana* كانت $20.6 \pm 75.5\%$ بعد 10 أيام من التغذية وكانت $5 \pm 10\%$ في معاملة الشاهد، وبينت Silva وآخرون (2020) أن بقاء يرقات العمر الثاني والثالث لحافرة أوراق البندورة على أوراق بندورة ملقحة بالعزلة LPP139 من الفطر *B. bassiana* بمعدل 50% بعد 4 أيام وماتت جميع اليرقات في اليوم السابع، وقال Mustu و Tasci (2023) أنه تم الحصول على أعلى معدل وفيات ليرقات حافرة أوراق البندورة في معاملة تلقيح النباتات عن طريق البذار بالفطر *B. bassiana* وكانت النسبة 64% في نهاية التجربة وكذلك ذكر Zheng وآخرون (2023) أن الاستعمار الداخلي لنباتات البندورة بالفطور الممرضة للحشرات أثر سلبا على أداء وجداول حياة حافرة أوراق البندورة، وقد يعود هذا التفاوت في التأثير إلى اختلاف طرق التطبيق والسلالات المختلفة المستخدمة في تلك الدراسات (Mantzoukas and Eliopoulous. 2020).

الجدول (5) متوسط النسبة المئوية لموت يرقات حافرة أوراق البندورة نتيجة تعرضها لأوراق بندورة مستعمرة بالعزلتين b10 و b8 من

الفطر *B. bassiana* بعد معاملة البذار بها وقيم الانحراف المعياري لها

العزلة	المعاملة/اليوم	الثاني	الرابع	السادس	الثامن
b10	نقع بمعلق الفطر	3.33 ± 4.17	13.33 ± 12.47	36.67 ± 4.17	50 ± 14.14
	نقع بالصمغ مع فطر	6.67 ± 4.17	20 ± 8.16	46.67 ± 12.47	56.67 ± 18.86
	سقاية بذار بالفطر	10 ± 8.16	36.67 ± 9.43	70 ± 8.16	86.67 ± 4.17
b8	نقع بمعلق الفطر	10 ± 0.00	23.33 ± 12.47	46.67 ± 17	60 ± 14.14
	نقع بالصمغ مع فطر	10 ± 0.00	26.67 ± 4.17	60 ± 14.14	66.67 ± 20.55
	سقاية بذار بالفطر	10 ± 8.16	30 ± 8.16	73 ± 8.16	89.67 ± 9.43
الشاهد	الشاهد	0.00	0.00	0.00	0.00



الشكل (1): متوسط النسبة المئوية وأشربة الخطأ القياسي لموت يرقات حافرة أوراق البندورة بالعمر الثالث نتيجة التغذية على أوراق بندورة ناتجة عن تلقيح البذار بثلاث طرق مختلفة بعزلي الفطر *B. bassiana* (b10 و b8) خلال (2، 4، 6، 8) أيام.

الاستنتاجات والتوصيات:

مما سبق يتبين أن العزلتان المحليتان (b8 و b10) من الفطر *B. bassiana* تمكنا من استعمار كامل أجزاء نبات البندورة بنسب متفاوتة عن طريق معاملة البذار بها قبل الزراعة بطريقة النقع بالمعلق البوغي للفطر والنقع بالصمغ مع المعلق البوغي وطريقة سقاية البذار عند الزراعة بالمعلق البوغي للفطر وحققت الطريقة الأخيرة أعلى نسب استعمار للنباتات لدى العزلتين تلتها طريقة النقع بالمعلق البوغي للفطر بطريقة النقع بالصمغ مع المعلق البوغي، وعزز تواجد الفطر ضمن النبات من نمو النباتات وكذلك سبب موتا ليرقات حافرة أوراق البندورة بنسبة 89% في معاملة سقاية البذار. وعليه يعتبر استعمار البندورة بالفطر *B. bassiana* طريقة واعدة في السيطرة على حافرة أوراق البندورة *T. absoluta* خاصة أنه تم الكشف عن الفطر لمدة 60 يوما بعد التلقيح وهذا مؤشرا جيدا في مثابرة الفطر ضمن النبات خلال مراحل نموه مما يحقق فعالية أعلى لعملية مكافحة الآفات، وهذه المدة المسجلة في هذه الدراسة أعلى من أي مدة سجلتها الدراسات السابقة لنفس الفطر وعلى نفس النبات. لذا يمكن أن نوصي باستخدام هاتين العزلتين من فطر *B. bassiana* لتحسين نمو النبات والسيطرة على الإصابة بحشرة *T. absoluta*.

المراجع:

- أحمد، محمد، عمر حمودي، ماجدة مفلح وامل حاج حسن (2023). تقييم فاعلية عدة عزلات محلية من الفطر الممرض للحشرات أحمد، محمد، عمر حمودي، ماجدة مفلح وامل حاج حسن (2023). تقييم فاعلية عدة عزلات محلية من الفطر الممرض للحشرات *Tuta absoluta* (Meyrick) Vuil. *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. في السيطرة على يرقات حافرة أوراق البندورة *Tuta absoluta* (Meyrick) Vuil. مجلة جامعة تشرين. العلوم البيولوجية. 45: 287 - 302.
- Agbessenou A; K.S. Akutse; A.A.Yusuf; S. Ekesi; F.M. Khamis (2022) The Endophyte *Trichoderma asperellum* M2RT4 Induces the Systemic Release of Methyl Salicylate and (Z)-jasmane in Tomato Plant Affecting Host Location and Herbivory of *Tuta absoluta*. Front. Plant Sci. 13:860309. doi: 10.3389/fpls.2022.860309
- Agbessenou A; K.S. Akutse; A.A.Yusuf; S. Ekesi; S. Subramanian; F.M. Khamis (2020). Endophytic fungi protect tomato and nightshade plants against *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) through a hidden friendship and cryptic battle. Sci Rep 10:22195.
- Agrios, N. G. (2005) Plant Pathology- Fifth Edition. Departement of Plant. Pathology. University of Florida. United States of America.
- Allegrucci, N., Velazquez, M.S., Russo, M.L., Perez, E., Scorsetti, A.C. (2017). Endophytic colonisation of tomato by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*: the use of diferent inoculation techniques and their effects on the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *J Plant Prot Res*, 57, 205–211.
- Biondi A; R.N.C. Guedes; F-H. Wan; N. Desneux (2018). Ecology, Worldwide spread, and management of the invasive South American Tomato Pinworm, *Tuta absoluta*: past, present, and future. Annu Rev Entomol. 63, 239–58.
- Campos, M.R.; A. Biondi; A. Adiga; R.N.C. Guedes; N. Desneux (2017). From the western Palaearctic region to beyond: *Tuta absoluta* ten years after invading Europe. *Journal of Pest Science*, 90 (3), 787-796.
- Canassa F, Tall S, Moral RA, Lara IAR d, Delalibera I, Meyling N V.(2019). Effects of bean seed treatment by the entomopathogenic fungi *Metarhizium robertsii* and *Beauveria bassiana* on plant growth, spider mite populations and behavior of predatory mites. Biol Control; 132:199–208.
- Cherif, A.and F.Verheggen (2019). A review of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) host plants and their impact on management strategies. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 23(4), 270-278.
- Colmenárez, Y.C.; C. Vásquez; A.F. Bueno; F. Cantor; E. Hidalgo; N. Corniani and J.J. Lagrava (2022). Sustainable Management of the Invasive *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae):

- an Overview of Case Studies From Latin American Countries Participating in Plantwise. *Journal of Integrated Pest Management*, 13(1): 15; 1–16 <https://doi.org/10.1093/jipm/pmac012>
- Dash, C.K.; B.S. Bamisile; R. Keppanan; M. Qasim; Y. Lin; S.U. Islam; M. Hussain; L. Wang; K. Ravindran (2018). Endophytic entomopathogenic fungi enhance the growth of *Phaseolus vulgaris* L. (Fabaceae) and negatively affect the development and reproduction of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Microb. Pathog.* 125, 385–392.
- Desneux, N.; E. Wajnberg; K.A.G. Wyckhuys; G. Burgio; S. Arpaia; et al. (2010). Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. *Journal of Pest Science*, 83, 197–215.
- Elena, G.J.; P.J. Beatriz; P. Alejandro; R. Lecuona (2011). *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin promotes growth and has endophytic activity in tomato plants. *Adv. Biol. Res.*, 5, 22–27.
- Giannoulakis, E.; S. Mantzoukas; I. Lagogiannis; S. Dervisoglou and D. Perdakis (2023). Efficacy of endophytic wild strains of entomopathogenic fungi against the tomato leafminer *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) in tomato plants. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. 33:19 <https://doi.org/10.1186/s41938-023-00663-6>
- Guedes, R.N.C.; E. Roditakis; M.R. Campos; K. Haddi; P. Bielza; H.A.A. Siqueira; A. Tsagkarakou; J. Vontas; R. Nauen (2019). Insecticide resistance in the tomato pinworm *Tuta absoluta*: patterns, spread, mechanisms, management and outlook. *Journal of Pest Science*, 92, 1329–42.
- Guedes, R.N.C.; M.C. Picanço (2012). The tomato borer *Tuta absoluta* in South America: pest status, management and insecticide resistance, *OEPP/EPPO*. 42, 211–216.
- Gurulingappa, P.; P. M. Gee and G. A. Sword (2011). In Vitro and In Planta Compatibility of Insecticides and the Endophytic Entomopathogen, *Lecanicillium lecanii*. *Mycopathologia*, 172(2), 161–168.
- Humber, R. A. Identification of entomopathogenic fungi. *Manual of techniques in invertebrate pathology*, 2012, 151–187.
- Ibrahim, L, N. Ezzeddine and S. K. Ibrahim.(2021). Response of *Tuta absoluta* to Endophytic Fungal Entomopathogens in Tomato. *Lebanese Science Journal*, Vol. 22, No. 1: 68 – 81.
- Jaber, L.R.; B.H. Ownley (2018). Can we use entomopathogenic fungi as endophytes for dual biological control of insect pests and plant pathogens? *Biol. Control*, 116, 36–45.
- Joop, G.; A. Vilcinskas (2016). Coevolution of parasitic fungi and insect hosts. *Zoology*, 119, 350–358.
- Klieber, J. and A. Reineke (2016). The entomopathogen *Beauveria bassiana* has epiphytic and endophytic activity against the tomato leaf miner *Tuta absoluta*. *Journal of Applied Entomology*, 140(8), 580–589.
- Lacey, L.A. *Manual of techniques in invertebrate pathology*. Second edition. Elsevier Ltd, USA. 2012, 513 pp.
- Liu, Y.; Y. Yang; B. Wang (2022). Entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* play roles of maize (*Zea mays*) growth promoter. *Sci. Rep.*, 12, 15706.
- Mantzoukas, S. and P.A. Eliopoulos (2020). Endophytic entomopathogenic fungi: A valuable biological control tool against plant pests. *Appl Sci*. 10(1):1–13.
- Miranda, M.M.; M. Picanço; J.C. Zanuncio; R.N.C. Guedes (1998). Ecological life table of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Biocontrol Sci. Technol.*, 8, 597–606.

- Nayana B. P. and C. M. Kalleshwaraswamy (2015). Biology and external morphology of invasive tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). Pest Management in Horticultural Ecosystems, 21, (2), 169-174.
- Pandey, M.; N. Bhattarai; P. Pandey; P. Chaudhary; D.R. Katuwal and D. Khanal (2023). A review on biology and possible management strategies of tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Meyrick), Lepidoptera: Gelechiidae in Nepal. Heliyon, 9 e16474. Retrieved October 20, 2023, from <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16474>
- Parsa, S.; V. Ortiz; F.E. Vega (2013). Establishing fungal entomopathogens as endophytes: Towards endophytic biological control. J. Vis. Exp. 74, e50360
- Petrini O. and P.J. Fisher (1986). Fungal endophytes in *Salicornia perennis*. Transactions of the British Mycological Society 87 (4): 647–651. DOI: 10.1016/S0007-1536(86)80109-7
- Poinar, J. R. and G. O. Thomas (1984). Laboratory guide to insect pathogens and parasites. New York: Plenum Press.
- Resquín-Romero, G.; I. Garrido-Jurado; C. Delso; A. Ríos-Moreno; E. Quesada-Moraga (2016). Transient endophytic colonizations of plants improve the outcome of foliar applications of mycoinsecticides against chewing insects. *Journal of Invertebrate Pathology*, 136, 23–31.
- Roditakis, E.; E. Vasakis; L. García-Vidal; M.R. Martínez-Aguirre; J.L. Rison; M.O. Haxaire-Lutun; R. Nauen; A. Tsagkarakou; P. Bielza (2018). A four-year survey on insecticide resistance and likelihood of chemical control failure for tomato leaf miner *Tuta absoluta* in the European/Asian region. *J. Pest Sci.* 91, 421–435.
- Russo, M.L.; S. Pelizza; M. Vianna; N. Allegrucci; M.N. Cabello; A.V. Toledo; C. Mourellos; A.C. Scorsetti (2018). Effect of endophytic entomopathogenic fungi on soybean *Glycine max* (L.) Merr. growth and yield. *J. King Saud Univ. Sci.*, 31, 728–736.
- Samson, R. A. (1981). Identification: Entomopathogenic Deuteromycetes. Pages 93-106. In: Microbial control of pests and plant disease 1970 – 1980. H. D. Burges (Editor). Academic Press London.
- Sani, I.; S. Jamian; N. Saad; S. Abdullah; E. Mohd Hata; J. Jalinas; et al. (2023). Inoculation and colonization of the entomopathogenic fungi, *Isaria javanica* and *Purpureocillium lilacinum*, in tomato plants, and their effect on seedling growth, mortality and adult emergence of *Bemisia tabaci* (Gennadius). PLoS ONE 18(5): e0285666. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0285666>
- Silva, A.C.L.; G.A. Silva; P.H.N. Abib; A.T. Carolino; R.I. Samuels (2020). Endophytic colonization of tomato plants by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for controlling the South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*. *CABI Agriculture and Bioscience*, 1(1), 1- 9.
- Tasci, D.Z. and M. Mustu (2023). Endophytic Colonization Of Two Entomopathogenic Fungi On Tomato Plant And Their Mortality Effects Against The South American Tomato Pinworm, *Tuta Absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) Current Trends In Natural Sciences Vol. 12, Issue 24, pp. 17-24, <https://doi.org/10.47068/ctns.2023.v12i24.002>
- Vega, F.E.; F. Posada; M.C. Aime; M. Pava-ripoll (2008). Entomopathogenic fungal endophytes. *Biological Control*, 46, 72–82.
- Vega, F.E.; N. Meyling; J. Luangsa-Ard; M. Blackwell (2012). Fungal entomopathogens. *Insect Pathology*, 2, 171–220.
- Wakil, W.; M.C. Boukouvala; N.G. Kavallieratos; A. Naeem; M.U. Ghazanfar; S.S. Alhewairini (2024) Impact of Three Entomopathogenic Fungal Isolates on the Growth of Tomato Plants—Ectoapplication to Explore Their Effect on *Tetranychus urticae*. *Agronomy*, 14, 665. <https://doi.org/10.3390/>

- Wei, Q.Y.; Y.Y. Li; C. Xu; Y.X. Wu; Y.R. Zhang; H. Liu (2020). Endophytic colonization by *Beauveria bassiana* increases the resistance of tomatoes against *Bemisia tabaci*. *Arthropod Plant Interact.*, 14, 289–300.
- Wilson, D. (1995). Endophyte: the evolution of a term, and clarification of its use and definition. *Oikos*, 274-276.
- Zacharuk, R.Y. (1981). Fungal diseases of terrestrial insects. In: Davidson EW (ed) *Pathogenesis of Invertebrate Microbial Diseases*. (pp 367–402). Totowa: Allanheld, Osmun and Co., Totowa.
- Zheng, Y.; Y. Liu; J. Zhang; X. Liu; Z. Ju; H. Shi; A. Mendoza-Mendoza; W. Zhou (2023). Dual role of endophytic entomopathogenic fungi: induce plant growth and control tomato leafminer *Phthorimaea absoluta*. *Pest Management Science*. July. <https://www.researchgate.net/publication/372252171>
- Zimmermann, G. (1986). The 'Galleria bait method' for detection of entomopathogenic fungi in soil. *Journal of Applied Entomology*, 102. 213–215.

The effect of tomato seeds inoculation with two local isolates of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil. In plant growth and in controlling tomato leaf miner larvae *Tuta absoluta* (Meyrick)

Amal Haj Hassan^{(1)*}, Mohammad Ahmad⁽²⁾, Omar Hammoudi⁽¹⁾, and Magda Mufleh⁽¹⁾

(1). General Commission for scientific Agriculture Research, Lattakia, Syria

(2). Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture Tishreen University, Lattakia, Syria.

(*Corresponding author: Amal Haj Hassan. E-Mail: amal.haj@gmail.com).

Received: 17/05/2024

Accepted: 5/08/2024

Abstract

This study was conducted to evaluate the endophytic colonization of tomato plants with two local isolates of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Sordariomycetes: Hypocreales), b8, which was isolated from the pupa of the palm weevil, and b10, which was isolated from the soil of a citrus orchard in Latakia Governorate, and their effect on the growth of tomato plants and in controlling the tomato leaf miner *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera Gelechiidae) by seeds inoculation with three different techniques: seeds immersion in fungus conidial suspension, seeds immersion in gum and fungus conidial suspension, and seeds irrigation within 30, 45, and 60 days. The results showed the efficiency of both isolates in colonizing all parts of the plant. (root, stem and leaves) in varying rates without a significant difference between them, and the highest colonization rate was recorded on the leaves, 100% for b8 isolate and 96.30% for b10 isolate, 45 days after inoculation by seeds irrigation technique. The irrigation technique was significantly more better than the other two techniques after 30 days time after inoculation, but at 45 and 60 days time, no significant difference was recorded between the inoculation techniques. The leaf colonization rate was also significantly higher than the root and stem colonization rate for most of the evaluation times and for all inoculation

techniques. Both fungal isolates significantly increased the height of tomato plants and their wet and dry weight compared to control plants 60 days after inoculation. The mortality rate caused by the two fungal isolates to tomato leaf miner larvae varied according to the method of inoculation during the days of the experiment. The highest mortality rate ($9.43 \pm 89.67\%$) was recorded for b8 isolate and ($4.17 \pm 86.67\%$) for b10 isolate at the last day of the experiment, in the seeds irrigation technique.

Keywords: endophetic colonization, entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana*, tomato leaf miner *Tuta absoluta*, , tomato plants.