

فاعلية عزلة محلية من النيماطودا الممرضة للحشرات *Heterorhabditis bacteriophora* في مكافحة ذبابة البحر المتوسط *Ceratitis capitata* Wied. (Diptera: Tephritidae) ضمن الظروف المخبرية

نبيل أبو كف⁽¹⁾ وغادة زيني*⁽²⁾ ومازن البودي⁽²⁾ وماجدة مفلح⁽³⁾

- (1). قسم وقاية النبات، كلية الهندسة الزراعية، جامعة تشرين، اللاذقية، سورية.
 (2). مركز البحوث الزراعية باللاذقية، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دمشق، سورية.
 (3). الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دمشق، سورية.
 (*المراسلة: م. غادة زيني، البريد الإلكتروني: ghadahasanzeini@tishreen.edu.sy).

تاريخ القبول: 2022/03/7

تاريخ الاستلام: 2021/10/4

الملخص

تعدّ ذبابة فاكهة البحر المتوسط *Ceratitis capitata* Wiedemann 1824 (Medfly) واحدة من أهم الآفات الحشرية على ثمار الفاكهة في جميع أنحاء العالم. تقضي هذه الحشرة جزءاً من دورة حياتها (العذارى) في التربة، مما يجعلها هدفاً للنيماطودا الممرضة للحشرات (EPNs) Entomopathogenic nematodes. هدفت الدراسة الحالية لتقييم كفاءة تطبيق تراكيز مختلفة من العزلة المحلية من النيماطودا الممرضة للحشرات (*Heterorhabditis bacteriophora* GA1(MK474645.1) على يرقات العمر الثالث وعذارى ذبابة الفاكهة *C. capitata* ضمن مخبر النيماطودا في مركز بحوث اللاذقية- الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية GCSAR. طُبِّقت النيماطودا باستخدام 10 تراكيز متزايدة (100، 200، 300، 400، 500، 1000، 2000، 3000، 4000 و5000) من أفراد الطور المعدي Infective Juveniles (IJs) / مل و500، 1000 و2000 فرد معدي/ مل على عذارى بعمر (1-3) و(4-8) يوماً، أُجريت الاختبارات الحيوية بخمسة مكررات ضمن أطباق بتري يحتوي كل منها على 10 أفراد من العائل. أظهرت نتائج التحليل الإحصائي تفوق معالمتي التركيز 5000 و4000 فرد معدي/ مل على بقية المعاملات، وعدم وجود فروق معنوية بينهما، وأن العزلة المحلية قد حققت أعلى نسب موت ليرقات ذبابة الفاكهة (69.77) و(65.33)% عند هذين التركيزين على التوالي، وأعلى نسب موت للعذارى (51.61) و(39.72)% بعمر (1-3) و(4-8) يوماً على التوالي عند التركيز 2000 فرد معدي/ مل.

الكلمات المفتاحية: مكافحة حيوية، *Ceratitis capitata*، *Heterorhabditis bacteriophora*، فاعلية، اللاذقية، سورية.

المقدمة :

تنتشر أفراد فصيلة ذباب الفاكهة Tephritidae في جميع أنحاء العالم وتضم حوالي 4000-4500 نوع موصّف في 500 جنس (White and Elson-Harris, 1992; Rull, 2008) من بينها 1500 نوع مرافق لثمار الفاكهة، تشكل الأنواع ذات الأهمية الاقتصادية 17% منها فقط (Zhihong et al., 2013).

تعدّ ذبابة فاكهة البحر المتوسط (Medfly) *Ceratitis capitata* Wiedemann 1824 واحدة من الآفات الاقتصادية الهامة على ثمار الفاكهة في جميع أنحاء العالم (Liquido et al., 1991; Ovruski et al., 2003; Lance et al., 2014)، وتتوفر لها الظروف المناخية المثلى في المناطق الدافئة من حوض البحر المتوسط، وبشكل رئيسي في الحيازات الزراعية غير المتجانسة ذات بساتين الفاكهة المختلطة حيث تستطيع الأنثى أن تجد عوائلها من ثمار الفاكهة لوضع البيض على مدار السنة (Ortu et al., 2009)، ويعود خطرها إلى المدى العوالم الواسع، وارتفاع نسبة الإصابة التي يمكن أن تهدد المحصول بكامله لدى بعض العوائل (Delrio, 1986; Talhouk, 1969). وقدّر Malavasi (2014) الضرر الاقتصادي السنوي الناتج عن ذبابة الفاكهة على الثمار بـ 2 مليار دولار على الأقل في جميع أنحاء العالم، ونشأت مشاكل بيئية عديدة نتيجة الاستخدام غير المدروس للمبيدات الحشرية في مكافحة يرقاتها وبالغاتها، وكان لابد مؤخراً من تطوير استراتيجيات متوافقة بيئياً لإدارة مجتمعاتها كاستخدام البكتريا، الأوليات، النيماطودا، الفطريات والفيروسات الممرضة للحشرات كعوامل مكافحة حيوية (Castillo et al., 2000; Lacey et al., 2001). وقد أشار Malan وHatting (2015) إلى أهمية تعريف الأعداء الطبيعية لذبابة الفاكهة الموجودة محلياً، في مكافحتها لأنها متكيفة مسبقاً مع النظام البيئي الطبيعي المحلي.

استخدمت النيماطودا الممرضة للحشرات Entomopathogenic Nematodes (EPNs) بشكل فعال كأحد عوامل مكافحة الحيوية للحشرات في برامج إدارتها (Grewal et al., 2005)، وهي تمتلك عدداً من الصفات التي تسهل استخدامها كعوامل مكافحة حيوية، كقدرتها على البحث عن عوائلها، سرعة التأثير وتخفيض كثافات الآفة نظراً لقدرتها التكاثرية العالية، غير ممرضة للإنسان، آمنة على البيئة، إمكانية تربيتها بشكل كمي، وتصنيع مستحضراتها وتطبيقها (Lacey & Georgis, 2012; Koppenhöfer et al., 2012).

أجريت الكثير من الأبحاث والدراسات المخبرية لتحديد تأثير أنواع وسلالات من النيماطودا الممرضة للحشرات على أطوار نمو مختلفة من *C. capitata*، ففي تركيا استخدمت Chergui وآخرون (2019) سلالة محلية من النوع *Steinernema feltiae* ضد يرقات العمر الأخير والعداري والبالغات لذبابة الفاكهة ضمن الظروف المخبرية. وفي البرازيل طُبقت السلالة JPM4 من النوع *Heterorhabditis amazonensis* والسلالة ALL من النوع *S. carpocapsae* على يرقات وعداري ذبابة الفاكهة ضمن أطباق بتري وفي التربة تحت الظروف المخبرية والبيت المحمي (Rohde et al., 2020)، بينما استخدم Mokrini وآخرون (2020) عدة سلالات مغربية (HB-MOR1 و HB-MOR7 و HB-MOR8) من النوع *H. bacteriophora* والسلالتين (SF-MOR9 و SF-MOR10) من النوع *S. feltiae* لدراسة فعاليتها على يرقات ذبابة الفاكهة في المخبر والبيت الزجاجي، وفي مصر طبق Shaurub وآخرون (2015) السلالات *H. bacteriophora* HP88، *S. carpocapsae* ALL، و *S. riobrave* ML29 و *H.*

bacteriophora AS1 على العمر اليرقي الأخير، وقد أظهرت نتائج الدراسات أنفة الذكر أن النيماتودا الممرضة للحشرات أداة واحدة لتخفيض طور اليرقي لمجتمعات ذبابة الفاكهة *C. capitata* بشكل فعال، ويمكن استخدامها بشكل منتظم ضمن برامج الإدارة المتكاملة لمكافحة هذه الآفة.

وبما أن إدارة ذباب الفاكهة تشكل تحدياً نظراً لأن يرقات العمر الثالث تترك الثمار الفاسدة وتسقط إلى الأرض للتغذر في التربة، وبالتالي فإن كل من اليرقات والعداري في الثمار والتربة ستكون محمية من المبيدات الحشرية المستخدمة سطحياً (Heve et al., 2016)، وبسبب انتشار النوع *C. capitata* على مدار العام في المنطقة الساحلية (Ahmad et al., 2001) ولكون ذبابة الفاكهة من الآفات الرئيسية على محاصيل مختلفة في سورية وفي مقدمتها الحمضيات واللوزيات والتفاحيات وللمساهمة في إيجاد أسلوب مناسب لإدارتها والتقليل من أضرارها كان لابد من تكثيف الدراسات البحثية حول مكافحتها، فقد هدفت هذه الدراسة إلى تقييم كفاءة تطبيق تراكيز مختلفة من العزلة المحلية *Heterorhabditis bacteriophora* GA1(MK474645.1) في مكافحة يرقات العمر الثالث وعداري بعمر (1-3) و(4-8) يوماً لذبابة فاكهة البحر المتوسط ضمن الظروف المخبرية لتطوير استراتيجيات الإدارة المتكاملة لها في بساتين الحمضيات المصابة.

مواد البحث وطرقه

مكان إجراء البحث: مخبر النيماتودا- مركز بحوث اللاذقية- الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية GCSAR في العام 2021.

مصدر الحشرات وتربيتها

بدأت تربية الآفة الحشرية من طور العذراء بعد جمع ثمار حمضيات (ساتزوما، كلمنتين) مصابة بذبابة الفاكهة من أحد البساتين في قرية المغريط- محافظة اللاذقية، حيث وُضعت هذه الثمار على رمل ناعم معقم، ثم عُزلت العذارى بعد عدة أيام تدريجياً، ونُقلت إلى مرطبات بلاستيكية مزودة بنوافذ من الشاش ومصادر مياه، يزيد كل مرطبان بطبق بتري بقطر 5 سم يحوي 50 عذراء من *C. capitata*، وبخروج الحشرات الكاملة ستبحث الإناث عن مصدر بروتيني لذا يزود المرطبان بمصدر غذائي (عسل: خميرة/1:3)، تُبدل مصادر المياه والغذاء أسبوعياً، تضع البالغات البيض عبر ثقوب الشاش، فيتم استقباله في أطباق بتري زجاجية بقطر 15 سم موضوعة تحت كل مرطبان وتحوي حمض كلور الماء 1% للتعقيم، تم رفع البيض يومياً ونُقل إلى أطباق تحوي بيئة النيباجين الصناعية، تُغطى الأطباق لمدة 3-4 أيام لضمان الرطوبة الجيدة لفقس البيض، ثم تفتح هذه الأطباق لاحقاً وتوضع على رمل ناعم معقم، تقفز يرقات العمر الثالث للتغذر، تُزال العذارى بعد 7 أيام من دخول اليرقات في الرمل باستخدام منخل، تُنقل العذارى إلى أقفاص جديدة قبل 2-3 يوم من خروج الحشرة الكاملة، تمت التربية بكافة مراحلها ضمن حاضنة بدرجة حرارة 26 س ورطوبة 60% وفترة إضاءة (D: L) (8:16) (Ali, 2010, Ekesi and Mohamed, 2011).

مصدر النيماتودا الممرضة للحشرات وإكثارها

استُخدمت العزلة المحلية *H. bacteriophora* GA1(MK474645.1) من النيماتودا الممرضة للحشرات (Rhabditida: (Heterorhabditidae)، وهي مستخلصة من تربة بستان حمضيات في قرية غيو- محافظة

اللاذقية، وموصفة مورفولوجياً (أبو كف وآخرون، 2018) وجزيئياً (Zeini et al., 2019)، ومحفوظة في مخبر النيमतودا - مركز البحوث العلمية الزراعية باللاذقية.

تم إكثار هذه العزلة المحلية على يرقات العمر الأخير لدودة الشمع الكبرى *Galleria mellonella* L., 1758 (Lepidoptera: Pyralidae) وفقاً لـ Kaya و Stock (1997)، وحصلنا على الطور المعدي الثالث باستخدام مصائد مائية (White Trap)، حُفظت النيमतودا في معلق مائي على الدرجة 10س لمدة لا تتجاوز الأسبوعين، ووضعت المعلقات لمدة ساعة واحدة بدرجة حرارة المخبر قبل استخدامها المباشر.

تقييم فاعلية العزلة المحلية من النيमतودا الممرضة للحشرات على يرقات العمر الثالث لـ *C. capitata* مخبرياً
صُممت الاختبارات الحيوية باستخدام العشوائية الكاملة بـ 5 مكررات لكل تركيز، كل مكرر مؤلف من طبق بتري بلاستيكي بقطر (5) سم يحتوي على 3 أوراق ترشيع، ووضعت في كل طبق 10 يرقات في العمر الثالث من ذبابة الفاكهة *C. capitata*، ثم أُضيف لكل طبق 1 مل من معلق نيमतودي بتركيز مختلفة ومتزايدة (100، 200، 300، 400، 500، 1000، 2000، 3000، 4000 و 5000) من أفراد الطور المعدي Infective Juveniles (IJs) /مل، وأعطيت معاملات التركيب السابقة الرموز (D1، D2، D3، D4، D5، D6، D7، D8، D9، D10) على التوالي، عُرضت اليرقات في معاملة الشاهد لـ 1 مل ماء مقطر فقط، أُغلقت الأطباق واستُخدم ورق بارافيلم لتغليفها، ووضعت في حاضنة على درجة حرارة 25±2س ورطوبة 70±10% وفترة إضاءة 8:16 (L:D). تم تقييم الاختبار بعد 5 أيام، سُجّلت معدلات موت اليرقات من خلال مراقبة أعراض الإصابة أو التشريح (Rohde et al., 2012).

تقييم فاعلية العزلة المحلية من النيमतودا الممرضة للحشرات على عذارى *C. capitata* مخبرياً
نُفذ هذا الاختبار بإجراءات مماثلة لاختبار تقييم الفاعلية على يرقات العمر الأخير لـ *C. capitata*، باستبدال اليرقات بعذارى ذات أعمار (1-3) و (4-8) يوماً، وتطبيق التراكيز (500، 1000، 2000) فرد معدي/مل.

التحليل الإحصائي

حُسبت معدلات الموت في كل معاملة وصُححت باستخدام معادلة Abbott (1925)، تم تحويل قيم التراكيز المستخدمة في الدراسة إلى لوغاريتم التركيز، استُخدم تحليل البروبيت Probit analysis في برنامج (IBM-SPSS Stat. V.21) لتحويل النسب المئوية المصححة للموت إلى قيم احتمالية (وحدات بروبيت) وتحليل ارتباط هذه القيم مع لوغاريتم تراكيز النيमतودا والحصول على معادلة خط الانحدار ($y = a + bx$) حيث y تمثل القيم المحتملة للقتل، a قيمة ثابتة تنتج من واقع البيانات، b ميل الخط المستقيم، x لوغاريتم التركيز، ثم حُسبت قيمة التركيز القاتل النصفية LC_{50} من جدول الاحتمالية ومعادلة خط الانحدار، تم تحليل النتائج إحصائياً وفق اختبار Duncan عند مستوى معنوية 5%.

النتائج

فاعلية العزلة المحلية من النيमतودا الممرضة للحشرات على يرقات العمر الثالث لـ *C. capitata* مخبرياً
بيّنت المعطيات أن يرقات العمر الثالث لـ *C. capitata* كانت حساسة للعزلة المحلية *H. bacteriophora* GA1(MK474645.1) عند مختلف معاملات التراكيز المطبقة، فتراجعت نسب الموت المصححة من 17.11 عند التركيز D1 إلى 69.77% عند التركيز D10، مقارنة مع الشاهد (جدول 1)، وقد تزايدت هذه المعدلات بشكل موازي

لازدياد تراكيز المعلق النيما تودي، كما توزعت المعاملات ضمن خمسة مستويات من حيث المعنوية، حيث تفوقت معاملات التركيز D_{10} و D_9 على بقية المعاملات بمعدلات موت 69.77 و 65.33 % على التوالي، مع عدم وجود فروق معنوية بينهما، يليها معاملة التركيز D_8 بمعدل موت 47.77 %، بينما توزعت معاملتي التركيز D_7 و D_6 في المستوى نفسه وبمعدلات موت 43.11 و 32.44 % على التوالي، وتساوت معاملات التركيز D_7 و D_6 و D_5 و D_4 بمستوى المعنوية، وتفوقت على بقية المعاملات.

الجدول (1): نسب الموت المصححة (المتوسط \pm الانحراف المعياري) ليرقات العمر الثالث لـ *C. capitata* عند معاملتها بتراكيز مختلفة من للعزلة المحلية لـ *H. bacteriophora* GA1 MK474645.1 في المخبر.

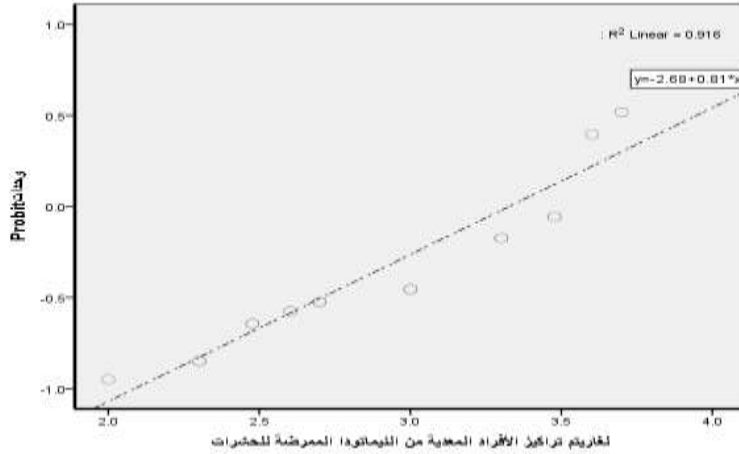
| رمز التركيز | التراكيز المستخدمة (IJs / مل) | نسب الموت المصححة (المتوسط \pm الانحراف المعياري) ليرقات العمر الثالث لـ <i>C. capitata</i> |
|-----------------|-------------------------------|--|
| D ₁ | 100 | 8.66 \pm 17.11 ^e |
| D ₂ | 200 | 9.56 \pm 19.77 ^e |
| D ₃ | 300 | 14.59 \pm 25.99 ^{de} |
| D ₄ | 400 | 18.45 \pm 28.22 ^{cde} |
| D ₅ | 500 | 14.49 \pm 29.99 ^{cde} |
| D ₆ | 1000 | 6.41 \pm 32.44 ^{cde} |
| D ₇ | 2000 | 10.97 \pm 43.11 ^{cd} |
| D ₈ | 3000 | 19.91 \pm 47.77 ^{bc} |
| D ₉ | 4000 | 17.83 \pm 65.33 ^{ab} |
| D ₁₀ | 5000 | 13.57 \pm 69.77 ^a |

*القيم المتوقعة بأحرف متشابهة لا يوجد بينها فروق معنوية عند مستوى معنوية 5 %.

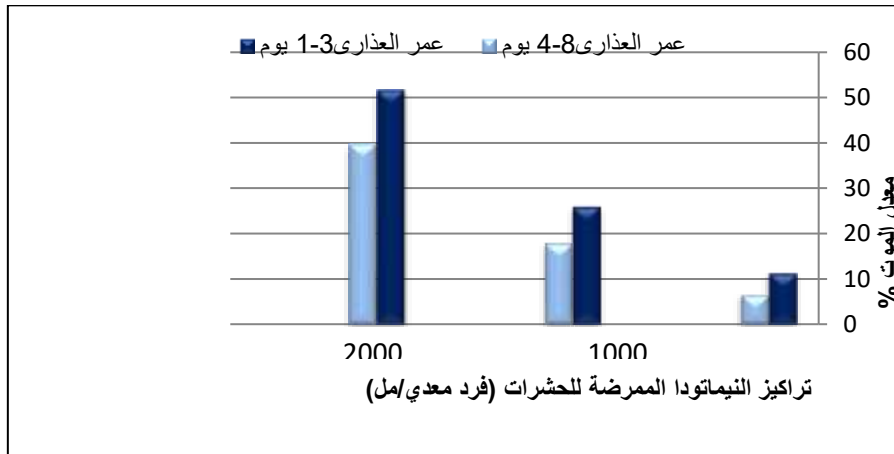
تظهر العلاقة الوثيقة بين معدلات موت يرقات *C. capitata* والتراكيز المطبقة من العزلة المحلية *H. bacteriophora* GA1 MK474645.1 من خلال تحليل الانحدار (شكل 1)، حيث بلغت قيمة معامل التحديد $R^2 = (0.916)$ ، وحُسبت قيمة التركيز القاتل النصفية LC_{50} من جدول الاحتمالية ومعادلة خط الانحدار فبلغت 2139 فرد معدي/مل.

فاعلية العزلة المحلية من النيما تودا الممرضة للحشرات على عذارى *C. capitata* مخبرياً

حققت العزلة المحلية (*H. bacteriophora* GA1(MK474645.1) معدلات موت منخفضة على العذارى بعمر (4-8) يوم ومعدلات موت معتدلة على العذارى بعمر (1-3) يوم وذلك مقارنة مع معدلات موت اليرقات، فبلغت 11.17 - 51.61 % للعذارى بعمر (1-3) يوم و 6.44 - 39.72 % للعذارى بعمر (4-8) يوم (شكل 2)، وبذلك يكون العمر اليرقي الثالث لـ *C. capitata* أكثر حساسية للنيما تودا من طور العذارى، والعذارى بعمر (1-3) يوم أكثر حساسية للنيما تودا من العذارى بعمر (4-8) يوم، وقد تفوقت معاملة التركيز (2000) فرد معدي/مل - وهو الأعلى - على معاملات التراكيز (1000) و (500) فرد معدي/مل، فبلغت معدلات الموت 51.61 و 39.72 % للعذارى بعمر (1-3) و (4-8) يوماً على التوالي، مع عدم وجود فروق معنوية بين معاملتي التركيز (2000) و (1000) فرد معدي/مل، بينما وجدت الفروق بين معاملتي التركيز (2000) و (500) فرد معدي/مل.



الشكل (1): تحليل الانحدار لمعدلات موت يرقات العمر الثالث لـ *C. capitata* بعد تعرضها لتراكيز مختلفة من الطور المعدي للعزلة المحلية *H. bacteriophora* GA1 (MK474645.1)



الشكل (2): معدل موت عذارى *C. capitata* عند العمرين (1-3) و(4-8) يوماً بعد معاملتها بتراكيز مختلفة من الطور المعدي للعزلة المحلية *H. bacteriophora* GA1 (MK474645.1) في المختبر.

المناقشة

ألقت هذه الدراسة الضوء على كفاءة العزلة المحلية *H. bacteriophora* GA1 (MK474645.1) كعامل مكافحة حيوية ضد يرقات وعذارى ذبابة الفاكهة *C. capitata*، وبناءً على النتائج المتحصل عليها ومقارنتها مع نتائج الدراسات السابقة نجد تبايناً في نسب الموت بين الأنواع والسلالات المستخدمة من النيما تودا المرصّة للحشرات. وقد أشارت Kamali وآخرون (2013) إلى أن الاختلافات في فعالية أنواع النيما تودا المرصّة للحشرات قد ترتبط باستراتيجيات أفراد النيما تودا المعديّة في البحث عن العائل ويسلوك يرقات العمر الثالث من ذباب الفاكهة، وتبينت في دراستها لفعالية النوع *H. bacteriophora* على ذبابة ثمار القرعيات الصغرى (*Dacus ciliatus* (Diptera: Tephritidae) أن التباين في فاعلية النيما تودا في التربة وعلى أوراق الترشيح قد يكون ناتجاً عن الاختلافات السلوكية ليرقات ذبابة ثمار القرعيات في الوسطين، فقد أبدت اليرقات سلوك القفز في وسط ورق الترشيح غير الطبيعي، وهذا السلوك قد يخفف فرصة اختراق الأفراد المعديّة للنيما تودا من النوع *H. bacteriophora* ليرقات العائل لأن السلوك الطبيعي لهذا النوع من النيما تودا هو البحث بشكل نشط عن مفصليات الأرجل وإصابتها. وبالعكس فقد عزت القيم المتشابهة من التركيز القاتل النصفية LC_{50}

للنوع *S. carpocapsae* في كلا الوسطين إلى تكيف الطور المعدي لهذا النوع للقفز لربط جسمها إلى فريسة متحركة، وهذا يتوافق مع مشاهدات من دراستنا حيث طبقت النيماتودا الممرضة للحشرات في أطباق بتري تحتوي على أوراق الترشيح، وقد لوحظ سلوك القفز لدى يرقات *C. capitata* وهروبها من أوراق الترشيح المبللة بمعلق النيماتودا وتعلقها بغطاء الطبق، وبذلك تتجنب الإصابة بالنيماتودا.

أظهرت العزلة المحلية *H. bacteriophora* GA1 (MK474645.1) فعالية أعلى على يرقات *C. capitata* مما على العذارى بمختلف الأعمار، وقد يعود ذلك إلى حساسية أكبر لدى اليرقات تجاه النيماتودا الممرضة للحشرات بسبب حركتها النشطة في هذا الطور والإطلاق الغزير لـ CO_2 الذي يعمل على جذب النيماتودا (Shapiro-Ilan *et al.*, 2017)، وقد تكون عذارى ذبابة الفاكهة غير القابلة للحركة والأقل نشاطاً والأكثر مقاومة نتيجة تحفيز أنزيم tyrosine hydroxylase (Chen *et al.*, 2017) أقل جاذبية لأفراد الطور المعدي مما سيسهم في توزيع أكبر للنيماتودا الممرضة للحشرات للبحث عن الإشارات المرسله من العائل (Kaplan *et al.*, 2012; Heve *et al.*, 2017). كما أشار Minas وآخرون (2016) إلى ضخامة الفتحات الطبيعية في جسم يرقات ذبابة الفاكهة وضعف تصلب جدار الجسم (مقارنة مع طور العذراء) مما يسهل إصابة الحشرة بالنيماتودا، بينما ربط Toledo وآخرون (2005) الحساسية المنخفضة لعذارى ذبابة الفاكهة بحجم الفتحات التنفسية التي قد تكون صغيرة جداً، أو لكون العذراء محمية بقساوة غلافها، مما يجعل عملية اختراق النيماتودا لجسم العائل أكثر صعوبة.

إن عمر العذارى المختبرة ذو أهمية بالغة، فقد تبقى النيماتودا قادرة على إصابة العذارى قبل اكتمال تصلب غلاف التعذر، وقد أكد Godjo وآخرون (2018) على أن جدار الجسم في العذارى حديثة العمر هو تحت عملية تصلب وبذلك ستكون أكثر حساسية للنيماتودا.

توصل Hussein و Noh (2014) في دراسة لاختبار تأثير السلالة *H. bacteriophora* HP88 على طور العذراء بعمر 8 و 14 يوماً لذبابة الفاكهة *C. capitata* إلى متوسط نسبة موت 68 و 60.4% لكلا العمرين على التوالي، بينما حققت السلالة *S. carpocapsae* All متوسط نسبة موت 62 و 46.8% لهذين العمرين على التوالي أيضاً، ولم تتوافق هذه الاستنتاجات مع دراسة Soliman (2007) عن حساسية طور العذراء لذبابة ثمار الخوخ *Bactrocera zonata* و *C. capitata* للنيماتودا الممرضة من النوعين *S. riobrave* و *H. bacteriophora* عند الأعمار (1، 3، 6، 8، 12، 24) ساعة و 8 أيام، حيث لم يكن هناك موت للعذارى بعمر أكبر من 8 ساعات.

بحث Lacey و Patterson Stark (1999) في أنماط ممكنة للدخول إلى غلاف العذراء بناءً على مكان وجود الأفراد المعدية للنيماتودا، فوجدت الأفراد المختبرة من مجموعة heterorhabditids متجمعة قرب الفم والشرح بينما كانت أفراد مجموعة steinernematids ملتصقة بالثغور التنفسية أو النهاية الخلفية لغلاف العذراء، ومع هذا لا توجد دراسات حول الممرات على غلاف العذراء لذبابة الفاكهة، ولا عن درجة إغلاق الفتحات الطبيعية لليرقات المتعذرة (James, 2017). كما أن ملاحظة حدوث موت بعض اليرقات المصابة بالنيماتودا الممرضة للحشرات كعذارى في دراستنا قد توافقت مع كثير من الدراسات على ذبابة الفاكهة *C. capitata* وأنواع أخرى من فصيلة Tephritidae ماتت بعد تشكيل غلاف التعذر (Sirjani *et al.*, 2009; Rohde *et al.*, 2012; Kamali *et al.*, 2013).

وجد Minas وآخرون (2016) تزايداً لمعدل موت يرقات وغازي *C. capitata* بشكل تناسبي مع تركيز أنواع النيماتودا المستخدمة (*Heterorhabditis* sp. LPP17، *Heterorhabditis* sp. LPP14، *H. baujardi* LPP7)، وبينت نتائج دراستهم حساسية عالية ليرقات ذبابة الفاكهة بنسب موت 80% إلى 100% عند التعرض لتركيز 237 و 553 فرد معدي/سم² على التوالي، لكنهم وجدوا معدل عالي لموت العذاري (تقريباً 80%) باستخدام تراكيز أعلى من 800 فرد معدي/سم²، وهو تركيز أعلى بأضعاف من التركيز المستخدم في دراستنا الحالية، ورغم أن ذباب الفاكهة يتطلب بشكل عام تطبيق معدلات عالية من النيماتودا الممرضة للحشرات من أجل مكافحة فعالة (Minas et al., 2006; Toledo et al., 2016)، فقد اقترح Rohde وآخرون (2020) في دراسة في البرازيل أن استخدام النيماتودا *S. carpocapsae* ALL بتركيز أعلى من 220 فرد معدي/سم² على يرقات *C. capitata* وما يفوق 260 فرد معدي/سم² على العذاري سيؤدي إلى تناقص نسبي في نسب الموت بسبب التنافس بين أفراد النوع الواحد، وبين أن التراكيز 220، 260، 300 فرد معدي/سم² هي الأفضل لعذاري حديثة العمر (0-2) يوم، وأن التركيز 260 فرد معدي/سم² حقق أعلى معدل موت لعذاري بعمر (6-8) يوم.

الاستنتاجات

- فاعلية السلالة المحلية (*H. bacteriophora* GA1 (MK474645.1) في مكافحة يرقات وغازي ذبابة الفاكهة، وتفوق معاملي التركيز 5000 و 4000 IJs/مل على بقية معاملات التراكيز الأخرى بنسب موت (69.77) و (65.33)% على التوالي، وأبدت يرقات العمر الثالث لذبابة الفاكهة حساسية أكثر للنيماتودا الممرضة للحشرات من طور العذراء، بينما كانت العذاري بعمر (1-3) يوم أكثر حساسية للنيماتودا من العذاري بعمر (4-8) يوم.
- توفر هذه الدراسة بيانات جديدة عن العزلات المحلية من النيماتودا الممرضة للحشرات كعوامل مكافحة حيوية إضافية يمكن دمجها في برامج الإدارة المتكاملة (IPM) لذبابة فاكهة البحر الأبيض المتوسط *C. capitata* بشكل مستدام وفعال.

المراجع

أبو كف، نبيل وغادة زيني ومازن البودي وماجدة مفلح. 2018. الوجود الطبيعي للنيماتودا الممرضة للحشرات EPNs في بساتين الحمضيات في محافظة اللاذقية، سورية. مجلة جامعة تشرين. سلسلة العلوم البيولوجية، المجلد (40)، العدد (5).

Abbott, W.S. (1925). A method for computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18, 265–267.

Ahmad, M.; M. Mofleh, and I. Ajjan (2001). The relationships between Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* Wiedmann (Diptera: Tephritidae) and its host plants in the coastal region of Syria. Arab Journal of Plant Protection, 19, 27–34.

Ali, Y.A. 2010. Studies on the effectiveness of entomopathogenic fungi in integrated pest management using the fruit flies *Ceratitis capitata* and *Rhagoletis cerasi* (Diptera:Tephritidae) as examples. Ph. D. Dissertation. Division Phytomedicine. Humboldt University, Berlin. 153 pp.

- Castillo M. A.; P. Moya; E. Hernandez and E. Primo-Yufer (2000). Susceptibility of *Ceratitidis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) to entomopathogenic fungi and their extracts. *Biological Control*, 19: 274-282.
- Chen E.H.; Q.L. Hou; D.D. Wei; W. Dou; Z. Liu; P.J. Yang; G. Smagghe and J.J. Wang (2017). Tyrosine hydroxylase coordinates larval-pupal tanning and immunity in oriental fruit fly (*Bactrocera dorsalis*). *Pest Management Science* 74:569-578.
- Chergui, S.; A. Benzehra; Kh. Boudjemaa; H. Barkou and I. Karaca (2019). Efficacy of Turkish isolate of *Steinernema feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae) in controlling the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) under laboratory conditions. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 29: 01-07.
- Delrio, A. (1986). Tephritid pests in Citriculture – proc. Exp. Meet. Integrated pest control in citrus – groves: A. A. Balkema publish Rotterdam– Boston – p 135- 149.
- Ekesi, S. And S. A. Mohamed. (2011). Mass rearing and quality control parameters for tephritid fruit flies of economic importance in Africa. In I. Akyar (Ed.), *Wide spectra of quality control*.6. Rijeka: InTech Publishing, pp. 387-410.
- Godjo A; L. Zadji; W. Decraemer; A. Willems and L. Afouda (2018). Pathogenicity of indigenous entomopathogenic nematodes from Benin against mango fruit fly (*Bactrocera dorsalis*) under laboratory conditions. *Biol Control* 117:68–77.
- Grewal P.S.; R.U. Ehlers and D.I. Shapiro-Ilan (2005). *Nematodes as Biocontrol Agents*. CABI Pub. pp. 505.
- Heve, W.K.; F.E. El-Borai; D. Carrillo and L.W. Duncan (2016). Biological control potential of entomopathogenic nematodes for management of Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa* Loew (Tephritidae). *Pest Manag. Sci*.
- Heve W.K.; F.E. El-Borai; D. Carrillo and L.W. Duncan (2017). Biological control potential of entomopathogenic nematodes for management of Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa* Loew (Tephritidae). *Pest Manag Sci* 73(6):1220–1228.
- James, M. (2017). Investigating biological control agents for the management of *Ceratitidis capitata* (Wiedemann). Master Thesis. Stellenbosch University, South Africa. 142 Pp.
- Kamali S.; J. Karimi; M. Hosseini; R. Campos-Herrera and L.W. Duncan (2013). Biocontrol potential of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae* on cucurbit fly, *Dacus ciliatus* (Diptera: Tephritidae). *Biocontrol Sci Technol* 23(11):1307–1323.
- Kaplan F.; H.T. Alborn; S.H. von Reuss, R. Ajredini; J.G. Ali; F. Akyazi; L.L. Stelinski; A.S. Edison; F.C. Schroeder and P.E. Teal (2012). Interspecific nematode signals regulate dispersal behavior. *PLoS One* 7(6):e38735.
- Kaya, H.K. and S.P. Stock (1997). Techniques in insect nematology. In: Lacey, L.A. (Ed.), *Manual of Techniques in Insect Pathology*. Academic Press, New York, pp. 281–324.
- Koppenhöfer, A. M.; T. A. Jackson and M. G. Klein (2012). Bacteria for use against soil-inhabiting insects. In: L.A. Lacey (Eds.), *Manual of techniques in insect pathology*. London, UK., 373- 426.
- Lacey, L. A.; R. Frutos; H. K. Kaya and P. Vail (2001). Insect pathogens as biological control agents: do they have a future?. *Biological Control*, 21: 230-248.

- Lacey, L.A. and R. Georgis (2012). Entomopathogenic nematodes for control of insect pests above and below ground with comments on commercial production. *Journal of Nematology*. Vol. 44, No.(2), 218-225.
- Lance, D. R.; W. M. Woods and M. Stefan (2014). Invasive insects in plant biosecurity: Case study - Mediterranean fruit fly. In G. Gorgh and S. McKirdy (Eds.), *The handbook of plant biosecurity*, pp. 447–484.
- Liquido, N.J.; L.A. Shinoda and R.T Cunningham (1991). Host plants of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae): An Annotated World Review. *MPPEAL 77*: 1- 52.
- Malan, A.P. and J. Hatting (2015). Entomopathogenic nematodes exploitation: case studies in laboratory and field applications from South Africa, in: Campos-Herrera, R. (Ed.), *Nematode pathogenesis of insects and other pests*. Springer, Switzerland, pp. 477–508.
- Malavasi, A. (2014). Introductory remarks. In *Trapping and the Detection, Control, and Regulation of Tephritid Fruit Flies ix-x* (eds Shelly, T. et al.)
- Minas, R.S.; R.M. Souza; C. Dolinski; R.S. Carvalho and R.S. Burla (2016). Potential of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae) to control Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) soil stages. *Nematoda 3*:e02016.
- Mokrini, F.; S.E Laasli; Y. Benseddik; A.B Joutei; A. Blenzar; H. Lakhali; M. Sbaghi; M. Imren; G. Özer; T. Paulitz; R. Lahlali and A.A Dababat (2020). Potential of Moroccan entomopathogenic nematodes for the control of the Mediterranean fruit fly *Ceratitidis capitata* Wiedemann. *Scientific Reports*, 10(1), 1–11.
- Nouh, G.M., M.A. Hussein (2014). The role of entomopathogenic nematodes as biocontrol agents against some tephritid flies. *Adv Biol Res 8*(6):301–306.
- Ortu, S.; A. Cocco and R. Dau (2009). Evaluation of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* strain ATCC 74040 for the management of *Ceratitidis capitata*. *Bulletin of Insectology 62* (2): 245-252.
- Ovruski, S.; P. Schliserman, and M. Aluja (2003). Native and introduced host plants of *Anastrepha fraterculus* and *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) in Northwestern Argentina. *Journal of Economic Entomology*, 96, 1108–1118
- Rohde, C.; A.M. Junior; M.A.T. Silva and F.D. Carvalho (2012). Effect of *Heterorhabditis* sp. and *Steinernema carpocapsae* applied in different periods of soil infestation with larvae of *Ceratitidis capitata* (Wiedemann). *Brazilian J. of Applied Technology for Agricultural Science*, Guarapuava-PR, v.5, n.3, p.79-84.
- Rohde, C.; N.R. Mertz and A.J. Moino (2020). Entomopathogenic nematodes on control of mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Rev. Caatinga, Mossoró*, v. 33, n. 4, p. 974 – 984.
- Rull, J. (2008). Phylogeny, biology, behavior, and management of tephritid fruit flies: An overview. In *Tropical Biology and Conservation Management*; Del Claro, K., Paulo, S., Oliveira, P.S., Rico-Gray, V., Eds.; *Encyclopedia of Life Support Systems (EOLSS)*, Developed under the Auspices of the UNESCO, Eolss Publishers: Oxford, UK, Volume vii.
- Shapiro-Ilan, D. I.; S. Hazir and I. Glazer (2017). Basic and applied research: entomopathogenic nematodes. In: LACEY, L. A. (Ed.). *Microbial control of insect and mite pests: from theory to practice*. London: Academic Press,. cap. 6, p. 91-105.

- Shaurub, E.H.; N.A. Soliman; A.G. Hashem and A.M. Abdel-Rahman (2015). Infectivity of Four Entomopathogenic Nematodes in Relation to Environmental Factors and Their Effects on the Biochemistry of the Medfly *Ceratitis capitata* (Wied.). *Neotrop Entomol.* 44:610-618.
- Sirjani, F.O.; E.E. Lewis and H.K. Kaya (2009). Evaluation of entomopathogenic nematodes against the olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae). *Biol Control.* 48(3):274–280.
- Soliman N. A. (2007). Pathogenicity of three entomopathogenic nematodes to the peach fruit fly, *Bacterocera zonata* (Saunders) and the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). *Egypt J Biol Pest Cont* 17:121–124.
- Stark, J.E.P. and L.A. Lacey (1999). Susceptibility of Western fruit fly (Diptera: Tephritidae) to five species of entomopathogenic nematodes in laboratory studies. *J Invertebr Pathol* 74:206–208.
- Talhok, A. S. (1969). Insects and mites injuries to crops in Middle Eastern Countries. Verlag Paul Paray, Hamburg and Berlin, West Germany, 239 pp.
- Toledo, J.; J.E. Ibarra; P. Liedo; A. Gómez; M.A. Rasgado and T. Williams (2005). Infection of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) larvae by *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) under laboratory and field conditions. *Biocontrol Sci Tech* 15(6):627–634.
- Toledo, J.; M.A. Rasgado; E.J. Ibarra; A. Gómez; P. Liedo and T. Williams (2006). Infection of *Anastrepha ludens* following soil applications of *Heterorhabditis bacteriophora* in a mango orchard. *Entomol Exp Appl* 119:155–162.
- White, I.M. and M.M. Elson-Harris (1992). *Fruit Flies of Economic Significance; Their Identification and Bionomics*; CAB International: Wallingford, UK.
- Zeini, Gh.; N. Abo Kaf; M. Al-Body and M. Mofleh (2019). Molecular Characterization of Several Isolates of Entomopathogenic Nematode *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar (Rhabditida, Heterorhabditidae) from Soil of Citrus Orchards in Latakia, Syria. *SSRG International Journal of Agriculture and Environmental Science*, 6(2), 70-74.
- Zhihong, L.; J. Fan; M. Xingli; F. Yan; S. Zhuangzhi; Q. Yujia and W. Qiaoling (2013). Review on prevention and control techniques of Tephritidae invasion. *Plant. Quar.* 27, 1–10.

Efficiency of local isolate of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* against *Ceratitis capitata* Wied. (Diptera: Tephritidae) under laboratory conditions

Nabil Abo Kaf⁽¹⁾ Ghadah Zeini^{*(2)} Mazen Al- Body⁽²⁾ and Majeda Mofleh⁽³⁾

(1). Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Tishreen University, Latakia, Syria.

(2). Agriculture Research Center in Lattakia, General Commission for Scientific Agricultural Research, (GCSAR), Damascus, Syria.

(3). (GCSAR), Damascus, Syria.

(*Corresponding author: Ghadah Zeini. E-Mail: ghadahasanzeini@tishreen.edu.sy .

Received: 4/10/2021

Accepted: 7/03/2022

Abstract

The Mediterranean fruit fly (Medfly), *Ceratitis capitata* Wiedemann is among the most important pests of cultivated fruits. Utilization of entomopathogenic nematodes (EPNs) is one emerging option for controlling this pest since the larvae come out from the fruit for pupation in the soil at depth of few centimeters. The present study aimed to estimate the efficiency of local isolate, *H. bacteriophora* GA1(MK474645.1) against the third instar larvae (L3) and pupae of medfly at ten different concentrations of (100, 200, 300, 400, 500, 1000, 2000, 3000, 4000 and 5000) Infective Juveniles (IJs)/ mL and 500, 1000, 2000 (IJs)/ mL under laboratory conditions. Controls were treated with 1 mL of distilled water. The bioassays were organized in petri dishes with five replications. The results showed that the third-instar *C. capitata* larvae were susceptible to the tested local isolate. The overall mortality ranged from 16.66 to 69.77%. Mortality of the third-instar larvae of *C. capitata* proportionally increased with increased nematode concentration. The highest larvae mortality rates (69.77) and (65.33) % . were obtained at concentrations D₁₀ and D₉ respectively, and no significant differences between these two treatments. The highest mortality rates of pupae were (51.61) and (39.72)% at dosage of 2000 (IJs)/ mL. Young pupae (1-3 day old) were more susceptible to the nematode than older pupae (4-8 day old).

Keywords: Biological control, *Ceratitis capitata*, efficiency, *Heterorhabditis bacteriophora*, Lattakia, Syria.