الجمهورية العربية السورية
جامعة دمشق
كلية الهندسة الزراعية
قسم وقاية النبات

تأثير البكتيريا *Bacillus* spp. على أكاروس الفريز العنكبوتي *Tetranychus turkestani*

Effect of *Bacillus* spp. On Strawberry Spider Mite *Tetranychus Turkestani*

رسالة علمية أعدت لنيل درجة الماجستير في الهندسة الزراعية "وقاية النبات"

إعداد المهندسة

لمى حسن الحلاق

المشرف
الدكتور محمد قنوع
كلية الزراعة–جامعة دمشق

المشرف المشارك
الدكتورة عايدة جلول
كلية الزراعة–جامعة دمشق

2022

فهرس المحتويات TABLE OF CONTENTS

المحتوى	رقم الصفحة
فهرس المحتويات	2
فهرس الأشكال	5
فهرس الجداول	7
الملخص	8
قائمة المصطلحات العلمية الواردة في متن الرسالة	10
الجزء التمهيدي	12
المقدمة	13
الإشكالية البحثية	15
تساؤلات البحث	16
فرضيات البحث	17
أهمية البحث	17
مسوغات البحث	18
أهداف البحث	18
الفصل الأول (الدراسة المرجعية)	19
1-1 نبات الفريز Strawberry – Fragaria	20
1-2 أكاروس الفريز العنكبوتي *Tetranychus turkestani*	21
1-2-1 الموقع التصنيفي والمدى العائلي	21
1-2-2 دورة حياة الأكاروس	23
1-2-3 الأهمية الاقتصادية والضرر	25
1-2-4 الوصف المورفولوجي	28
1-3 نظام الإدارة المتكاملة للأكاروس IPM	31
1-4 البكتيريا الممرضة التابعة للجنس *Bacillus*	33
1-4-1 الموقع التصنيفي والانتشار	33
1-4-2 الخصائص المورفولوجية والحيوية	34
1-4-3 دورة حياة البكتيريا	34

1-4-4 آلية تأثير البكتيريا على الآفة	35
1-4-5 استخدام البكتيريا *Bacillus* في المكافحة الحيوية	36
1-4-6 أمثلة تطبيقية لاستخدام البكتيريا *Bacillus* في مكافحة الأكاروسات	38
الفصل الثاني (المواد وطرائق العمل)	40
2-1 مكان تنفيذ البحث	41
2-2 تربية المستعمرات المخبرية للأكاروس العنكبوتي *T. turkestani*	41
2-3 التوصيف المورفولوجي والبيولوجي لأكاروس الفريز العنكبوتي *T. turkestani*	42
2-4 عزل البكتيريا الممرضة لأكاروس الفريز العنكبوتي *T. turkestani*	44
2-5 تعريف البكتيريا	45
2-5-1 الاختبارات المورفولوجية والبيو كيمائية	45
2-5-2 اختبار القدرة الإمراضية للبكتيريا: (إحداث عدوى صناعية وتطبيق فرضيات كوخ)	45
2-6 تقييم كفاءة العزلات البكتيرية في قتل الأكاروس	46
2-7 التحليل الإحصائي	46
الفصل الثالث (النتائج والمناقشة)	47
3-1 الصفات الشكلية لأكاروس الفريز العنكبوتي	48
3-2 عزل وتوصيف البكتيريا الممرضة لأكاروس الفريز العنكبوتي *T. turkestani*	51
3-3 تقييم كفاءة العزلات البكتيرية	54
3-3-1 تأثير تركيز البكتيريا على الطور البالغ لأكاروس الفريز العنكبوتي *T. turkestani*	54
3-3-2 تقييم كفاءة تأثير العزلات البكتيرية على حيوية بيوض أكاروس الفريز العنكبوتي	55
3-3-3 تقييم كفاءة تأثير العزلات البكتيرية على حوريات أكاروس الفريز العنكبوتي	57
3-3-4 تقييم كفاءة العزلات البكتيرية على الأفراد البالغة لأكاروس الفريز العنكبوتي	59
3-4 تأثير تراكيز مختلفة من عزلات *Bacillus* الأكثر شراسة على الأفراد البالغة لأكاروس الفريز العنكبوتي	61
الاستنتاجات	63

المقترحات والتوصيات	63
المراجع العربية	65
المراجع الأجنبية	66
الملخص الأجنبي	81
الغلاف الأجنبي	82

فهرس الأشكال TABLE OF SHAPES

رقم الشكل	المحتوى	رقم الصفحة
1	أعراض الإصابة بأكاروس الفريز العنكبوتي *T. turkestani* على نبات الفريز (البحث الحالي،2022)	14
2	الأطوار المختلفة لأكاروس الفريز العنكبوتي *T. turkestani* (Jiang وآخرون،2017)	25
3	الأضرار الناجمة عن أكاروس الفريز العنكبوتي على الأجزاء النباتية المصابة لنبات الفريز (**Migeon و Dorkeld، 2017**)	28
4	رسم تخطيطي للوجهين الظهري والبطني للأكاروس (Zhang وآخرون،2002– 2003)	30
5	صور بالمجهر الالكتروني الماسح لأهم الصفات المورفولوجية للأكاروس (Zhang وآخرون،2003)	31
6	الصفات المورفولوجية للجنس *Bacillus* (Goldman، 2008)	34
7	التربية المخبرية لأكاروس الفريز العنكبوتي *T. turkestani* (البحث الحالي،2022)	41
8	الوجه الظهري وتوزع الأشعار لأكاروس الفريز العنكبوتي البالغ (البحث الحالي، 2022)	43
9	تحضير العزلات البكتيرية الممرضة للأكاروس	45
10	الأشكال المختلفة للبيوض وتفاوت درجة النضج لجنين أكاروس الفريز العنكبوتي (البحث الحالي، 2022)	48
11	الأطوار المختلفة لأكاروس الفريز العنكبوتي (البحث الحالي، 2022)	50
12	تراكيز المعلقات البكتيرية لعزلات *Bacillus* المطبقة خلال العدوى الاصطناعية (البحث الحالي، 2022)	53

13	تأثير تراكيز مختلفة من العزلة S'6 على الطور البالغ لأكاروس الفريز العنكبوتي (البحث الحالي، 2022)	54
14	تأثر البيوض المعاملة بالمعلق البكتيري للعزلة (S'6) (البحث الحالي، 2022)	55
15	تأثير عزلات*Bacillus* على حيوية بيوض أكاروس الفريز العنكبوتي (البحث الحالي، 2022)	56
16	تأثير العزلة البكتيرية (S'6) على حوريات أكاروس الفريز العنكبوتي (البحث الحالي، 2022)	57
17	تأثير عزلات*Bacillus* على حوريات أكاروس الفريز العنكبوتي (البحث الحالي، 2022)	58
18	تأثير العزلة البكتيرية (S'6) على الأفراد البالغة لأكاروس الفريز العنكبوتي (البحث الحالي، 2022)	59
19	تأثير عزلات*Bacillus* على الأفراد البالغة لأكاروس الفريز العنكبوتي (البحث الحالي، 2022)	61
20	تأثير تراكيز مختلفة من عزلات *Bacillus* الأكثر شراسة على الأفراد البالغة (البحث الحالي، 2022)	62

فهرس الجداول TABLES

رقم الجدول	الجدول	رقم الصفحة
1	أهم الأنواع الأكاروسية التابعة لفصيلة الأكاروسات العنكبوتية الحمراء العادية *Tetranychid* Mites (Migeon و Dorkeld، 2006-2017)	22
2	الموقع التصنيفي للبكتيريا التابعة للجنس *Bacillus* (De Lucca وزملاؤه، 1981)	33
3	أهم المجموعات التصنيفية للبكتيريا *Bacillus* تبعاً لشكل الأبواغ (Gordon وزملاؤه، 1973)	36
4	خصائص البكتيريا المعزولة (البحث الحالي، 2022)	51

الملخص

نُفذ البحث خلال الفترة الممتدة بين 2018–2022 في مخابر قسم وقاية النبات (مخبر ممرضات النبات البكتيرية، مخبر الآفات الحيوانية غير الحشرية) كلية الزراعة، جامعة دمشق.

وهدف هذا البحث إلى عزل البكتيريا *Bacillus* spp. ودراسة تأثيرها ضد أطوار مختلفة (بيض– حوريات– بالغات) من أكاروس الفريز العنكبوتي *Tetranychus turkestani*

تم عزل 9 عزلات بكتيرية (A، B،AD ، C° ، SW°، S'6، S"6،S'9 ، S"9) تنتمي إلى الجنس*Bacillus* وممرضة لأكاروس الفريز العنكبوتي كما استخدمت عزلتين تجاريتين (BT، BTm) من نوع *Bacillus thuringiensis* للمقارنة مع العزلات المحلية المختبرة.

وأظهرت النتائج ضعف تأثير العزلات البكتيرية بعد 24 و48 ساعة من المعاملة، وأن تأثير العزلات اقتصر على انخفاض نشاط الأفراد وقلة التغذية وضعف قدرة الأنثى على وضع البيض، بينما عند 72 ساعة من إجراء العدوى الاصطناعية كانت نسبة موت الأفراد أعظمية.

تميزت العزلات (S'6؛ S"6؛ S'9؛ S"9) بشراستها العالية ضد الأطوار المختلفة لأكاروس الفريز العنكبوتي *Tetranychus turkestani* دون وجود فروق معنوية فيما بينها عند 72 ساعة من المعاملة، حيث تراوحت نسب الموت في العزلات الشرسة بين (60%–90%) مقارنة بالعزلتين التجاريتين حيث بلغت نسب الموت (40%) والشاهد غير المعامل (10%).

كما أظهرت نتائجنا أن لتركيز المعلق البكتيري المستخدم في العدوى تأثير على كفاءة العزلة في قتل الأفراد البالغة لأكاروس الفريز العنكبوتي *T. turkestani*، حيث سبب تركيز المعلق البكتيري 10^8cfu /مل نسبة موت أعلى لأفراد أكاروس الفريز العنكبوتي من 10^7cfu /مل.

هدفت هذه الدراسة الأولية للتمهيد لدراسات مستقبلية تهدف لإنتاج مبيد حيوي من عزلات محلية للبكتيريا *Bacillus* تستخدم في المكافحة الحيوية لأكاروس الفريز العنكبوتي ضمن برامج الإدارة المتكاملة لهذه الآفة.

كلمات مفتاحية: أكاروس الفريز العنكبوتي *Tetranychus turkestani*، بكتيريا *Bacillus* spp.، العزلة البكتيرية، فعالية العزلة، نسبة الموت.

قائمة المصطلحات العلمية الواردة في متن الرسالة

Aedeagus	عضو سفاد (الذكور)
Anal Setae	شعيرات شرجية
Reproduction	التكاثر
Development Stage Rate	فترة التطور لكل طور
Sex-Ratio	النسبة الجنسية
Longevity	العمر البيولوجي للأنثى البالغة
Anterior Para-Anal Setae	شعيرات محاذية للشرج أمامية
Chelicera	الفكوك المخلبية المتحركة
Protonymph	حوريات أولى
Deutonymph	حوريات ثانية
Double Setae	الشعيرات المضاعفة
Empodium	المخلب الوسطي
Hysterosoma	منطقة الأرجل الخلفية ومؤخرة الجسم
Pedipalp	الملمس القدمي
Opisthosoma	الجزء الخلفي للجسم
Economic damage	الضرر الاقتصادي للآفة
Pathogenic bacteria	البكتيريا الممرضة
Concentration	تركيز البكتيريا
Cell formation unit (CFU)	عدد الخلية المشكلة للمستعمرة
Biocontrol	المكافحة الحيوية

Resistance	المقاومة
Bacterial pathogens	الممرضات البكتيرية
Biological Control Agents	عوامل مكافحة حيوية
Crystal protein or δ-endotoxinas (Cry)	بلورات بروتينية سامة
Cytolytic protein or toxin (Cyt)	الأنزيمات محللة
Pore- forming toxin (PFT) Parasporin	سموم بكتيرية مشكلة للمسام
Vegetative Insecticidal Protein (VIP)	سموم بروتينية بكتيرية تتشكل أثناء النمو الخضري للبكتيريا وتقتل الحشرات

الجزء التمهيدي

المقدمة

الفريز المزروع (الفراولة) *Fragaria grandiflora* L. (*Fragaria ananasa*) نبات عشبي معمر، موطنه الأصلي أمريكا الشمالية، وينتمي الى الجنس *Fragaria* والفصيلة الوردية Rosaceae.

يتميز الفريز بقيمة غذائية عالية ويعد مصدراً مهماً لفيتامين C والمنغنيز وفيتامين B9 والبوتاسيوم كما يحتوي على نسبة عالية من سكر الفركتوز المناسب لمرضى السكري والأطفال وكبار السن والعديد من الأحماض الأمينية والكربوهيدرات والأملاح المعدنية (Bjarnadottir، 2019).

يصاب هذا المحصول بعدد من الآفات الزراعية التي تسبب فقداً في كمية المحصول ونوعيته وجودة ثماره وقيمته التسويقية، مما دفع المختصين لإيجاد وسائل مكافحة فعالة لإدارة هذه الآفات أو ضبط تعدادها إلى ما دون الحد الاقتصادي الحرج بغية الوصول الى محصول يتميز بالجودة والإنتاجية، ومن أهم هذه الآفات أكاروس الفريز العنكبوتي*Tetranychus turkestani* Ugarov & Nikolski

يهاجم أكاروس الفريز العنكبوتي عدداً من المحاصيل حول العالم، وتتركز الإصابة به على السطح السفلي للأوراق الغضة، مُحدثةً بقعاً بيضاء لا تلبث أن تتحول إلى اللون الرمادي، (الشكل 1). كما يترافق ذلك مع إفراز غزير لنسيج عنكبوتي دقيق تُغطى به الأجزاء النباتية المصابة، ويساعد هذا النسيج مع ازدياد أعداد الأكاروسات في الانتشار ومهاجمة بقية الأجزاء النباتية وصولاً إلى الثمار، تؤدي مجمل هذه الإصابات إلى تساقط الأوراق وتلف الثمار وضعف النبات عامة وينتهي به الأمر إلى موت النبات (Sohrabiو Shishehbor، 2007).

الشكل رقم (1): أعراض الإصابة بأكاروس الفريز العنكبوتي*T. turkestani* على نبات الفريز

(البحث الحالي،2022)

ونتيجة لظهور صفة المقاومة لدى الأكاروس ضد معظم المبيدات الكيميائية الناتج عن الاستخدام العشوائي لها، فقد لجأ المختصون إلى البحث عن بدائل مكافَحة آمنة واقتصادية في القضاء على هذه الآفة وضبط تعدادها، ومن أهمها المكافحة الحيوية للأكاروس باستخدام المتطفلات والمفترسات والمسببات المرضية (الفطريات، البكتيريا، وغيرها)، حيث ازداد التوجه في الآونة الأخيرة إلى استخدام البكتيريا في مكافحة الأكاروسات العنكبوتية حيوياً. وجدير بالذكر قلة الأبحاث المتوفرة في هذا الصدد على المستوى العربي عامةً، والمحلي خاصةً.

وهدف هذا البحث إلى دراسة تأثير عزلات مختلفة من البكتيريا *Bacillus spp.* ضد أطوار مختلفة (بيض– حوريات– بالغات) من أكاروس الفريز العنكبوتي *T.turkestani*

الإشكالية البحثية:

يحدث أكاروس الفريز العنكبوتي (Acari: Tetranychidae) *T. turkestani* أضراراً كبيرة وخسائر اقتصادية على محصول الفريز في مختلف أنحاء العالم وهو من الآفات الحيوانية غير الحشرية المهمة (Jeppson وآخرون، 1975؛ Migeon و Dorkeld، 2006–2017) ونتيجة لهذه الأضرار استخدمت مجموعات مختلفة من المبيدات الكيميائية للحد من انتشاره وضرره (Doker وآخرون، 2016)؛ إلا أن ظهور صفة المقاومة لهذه المبيدات، أدى إلى الحد من استعمالها، فضلاً على أنها تعمل على تلويث البيئة (الهواء والماء والتربة) ويؤدي ذلك إلى تغير الصفات النوعية لهذه الأجزاء الحيوية من المحيط الحيوي مما ينتج عنه تأثيرات ضارة للإنسان والحيوان والنبات (Holemans وآخرون،1997)، إضافة إلى التأثير السلبي لهذه المبيدات على الكائنات غير المستهدفة بما فيها الأعداء الحيوية الطبيعية للآفات, ما دفع الكثير من المختصين للبحث عن بدائل آمنة لهذه المبيدات (Fatemikia وآخرون،2014؛ Vásquez وآخرون، 2016), والتوجه إلى وسائل أخرى لمكافحة الآفات مثل استخدام وسائل المكافحة الحيوية (Bale وآخرون،2008) ، والتي حققت انتقائية وقابلية للتحلل في منتجات غير سامة ومتوافقة مع برامج الإدارة المتكاملة للآفات (Guptaو Dikshit ،2010)، كالممرضات البكتيرية والتي أظهرت كفاءة عالية في مكافحة الآفات الحشرية وغير الحشرية المختلفة (شعبان والملاح، 1993) وعُدت ذات طيف إمراضي واسع للعدد من الكائنات الحية مثل البروتوزوا، النيماتودا، الأكاروسات، الحشرات وممرضات أخرى (schiesari وآخرون، 2013).

من أهم هذه الممرضات بعض أنواع البكتيريا التابعة للجنس *Bacillus* Cohn والتي لجأ إليها الباحثون في بعض بلدان العالم كحل بديل وآمن للمبيدات الكيميائية في مكافحة الآفات الأكاروسية، والتي بدورها أعطت نتائج جيدة وفعالة في التطبيق الحقلي ضد العديد من الآفات الأكاروسية، وتُنتج هذه البكتيريا سموماً داخلية ومركبات أخرى تؤدي عند حدوث العدوى إلى التحكم في تعداد أفراد الآفة الأكاروسية وذلك

لتأثيرها في معدلات الوفيات والخصوبة والتغذية عند الأكاروسات العنكبوتية (Pérez، 2007، Veloorvalappil وآخرون، 2013).

وعليه فقد هدف البحث الحالي إلى دراسة تأثير عزلات محلية من بكتيريا *Bacillus* spp. وكفاءتها في الحد من مجتمعات أكاروس الفريز العنكبوتي، كخطوة مهمة لإدراجها لاحقاً في برامج الإدارة المتكاملة لهذه الآفة.

تساؤلات البحث:

- ما هي الخصائص المورفولوجية والبيولوجية الدقيقة للسلالة المحلية المختبرة من أكاروس الفريز العنكبوتي؟
- هل تختلف السلالة المدروسة من أكاروس الفريز العنكبوتي عن التوصيف العالمي المعتمد للنوع؟
- ماهي أهم المواصفات الشكلية المعتمدة في التوصيف الدقيق للنوع الأكاروس؟
- ماهي التطبيقات الحديثة في مكافحة الأكاروس؟
- ماهي وسائل المكافحة الحيوية المستخدمة حديثاً في القضاء على الأكاروس؟
- هل يوجد في البيئة المحلية بكتيريا تؤثر على أكاروس الفريز العنكبوتي؟
- الى أي مجموعة تصنيفية تنتمي هذه البكتيريا؟
- هل لهذه البكتيريا قيمة تطبيقية في مكافحة الأكاروس؟
- ماهي آلية تأثير البكتيريا على الأكاروسات وكيفية القضاء عليها؟

فرضيات البحث:

1. أن يكون للبكتيريا المختبرة تأثير ضد الأكاروسات.
2. أن يكون للتراكيز المختبرة كفاءة وفعالية ضد الأطوار المختلفة من الأكاروس (بيض–حوريات – أفراد بالغة).
3. ازدياد فعالية التراكيز المختبرة من العزلات البكتيرية ضد الأطوار المختلفة من الأكاروس (بيض– حوريات– أفراد بالغة) بمرور الوقت.
4. إمكانية إدراج المكافحة باستخدام البكتيريا في برامج الإدارة المتكاملة للأكاروس.

أهمية البحث:

يهاجم أكاروس الفريز العنكبوتي *T. turkestani* عدداً كبيراً من المحاصيل الزراعية مما يؤدي إلى انخفاض الإنتاجية ورداءة في الجودة. وتعود خطورته الأساسية لامتصاص عصارة النبات ومحتويات الخلية مما يؤدي إلى فتك خلايا بشرة الأنسجة النباتية المصابة، وخلل في مستوى التمثيل الضوئي وعملية تصنيع اليخضور (Zhang، 2003؛ Sohrabi وShishehbor؛ 2008).

ونظراً للانتشار الكثيف لهذه الأكاروسات وقلة فاعلية إجراءات المكافحة التقليدية المتبعة عادةً للحد من خطورتها وأضرارها في معظم الحالات، كاستخدام مجموعات مختلفة من المبيدات الكيميائية للحد ما أمكن من آثاره الضارة وذلك عشوائياً وبشكل غير مدروس، الأمر الذي سبب سرعة ظهور صفة المقاومة لدى هذه الآفات ضد عدد من المبيدات الكيميائية المستخدمة وذلك لاتصاف هذا النوع من الأكاروسات بالخصوبة المرتفعة وقصر دورة الحياة وسرعة الانتشار وكثرة عدد الأجيال، ويزداد التوجه في الآونة الأخيرة إلى تفعيل برامج الإدارة المتكاملة وتقييمها على المستوى المحلي وضرورة إيجاد بدائل آمنة للمبيدات الكيميائية في مكافحة الآفات الزراعية، وذلك بالاعتماد على مراكز المكافحة الحيوية الموجودة على امتداد محافظات القطر ونجاح برامج المكافحة حقلياً في كثير من المناطق. وضبط أعداد الآفة والحفاظ على

الأعداء الحيوية بآن واحد فإنه من الضرورة البحث عن عوامل مكافحة حيوية (Biological Control Agents) ذات تأثير محدود على البيئة عامةً وعلى الأعداء الحيوية الطبيعية خاصةً. وتُعد ممرضات الآفات (الفطرية والبكتيرية) من أهم هذه الوسائل الحيوية، ويزداد التوجه في الآونة الأخيرة إلى استخدام البكتيريا في مكافحة الأكاروسات العنكبوتية حيوياً. وجدير بالذكر قلة الأبحاث المتوفرة في هذا الصدد على المستوى العربي عامةً، والمحلي خاصةً.

مسوغات البحث:

- القيمة الغذائية والتسويقية لمحصول الفريز في سورية.
- الأهمية الاقتصادية لأكاروس الفريز العنكبوتي *T. turkestani* ومقدار الضرر الناجم عنه على المحاصيل الزراعية المختلفة وعلى رأسها محصول الفريز.
- التوجه إلى إدراج وسائل المكافحة الحيوية كبدائل آمنة عن المبيدات الكيميائية في برامج الإدارة المتكاملة للآفة.
- فعالية استخدام المسببات المرضية كالبكتيريا من جنس *Bacillus* وتأثيرها بتعداد المجتمع الأكاروسي بأطواره المختلفة.

أهداف البحث:

1- دراسة مورفولوجية وبيولوجية لأكاروس الفريز العنكبوتي *T. turkestani*.

2- عزل البكتيريا *Bacillus* ssp. من البيئات المحلية.

3- دراسة تأثير البكتيريا *Bacillus* ssp. على أكاروس الفريز العنكبوتي *T. turkestani*.

4- تعريف العزلات البكتيرية الفعّالة على هذا الأكاروس وتوصيفها.

5- تقييم كفاءة استخدام العزلات البكتيرية الأكثر فعالية في ضبط تعداد مجتمعات أكاروس الفريز العنكبوتي في ظروف التجريبية المخبرية.

الفصل الأول: الدراسة المرجعية

1-1 نبات الفريز Strawberry – Fragaria

الفريز المزروع (الفراولة) *Fragaria grandiflora L.* (*Fragaria ananasa*) نبات عشبي معمر، موطنه الأصلي أمريكا الشمالية، وينتمي إلى الجنس*Fragaria* والفصيلة الوردية Rosaceae.

تشير أغلب المصادر إلى أن الموطن الأصلي لهذه النبتة هو أمريكا الشمالية وهو هجين ناتج عن صنفين هما توت الأرض البري *Fragaria virginiana* الذي وجد في السهول المرتفعة الواقعة في الشمال الشرقي للقارة الأمريكية وتوت الأرض الساحلي *F. chiloensis* الذي وجد على طول شواطئ المحيط الهادئ وعلى السواحل الشيلية وفي جزر هاواي (Pua وDavey، 2007)

تشتهر زراعة الفريز في معظم دول العالم، وهو من المحاصيل المهمة نظراً لسهولة تكاثره وإنتاجه المبكر وتأقلمه مع الظروف البيئية المختلفة، إضافة إلى كونه من المحاصيل ذات العائد الاقتصادي الكبير حيث يبلغ الإنتاج العالمي سنوياً مايقارب9 مليون طن، وتعد الصين أكثر دول العالم إنتاجاً له تليها الولايات المتحدة الأمريكية في المرتبة الثانية؛ وعربياً تحتل مصر المرتبة الأولى ويبلغ متوسط إنتاجها سنوياً مايقارب500 طن، وتعد زراعته في سورية حديثة العهد كزراعة حقلية أو محمية ضمن البيوت البلاستيكية على حد سواء (FAOSTAT، 2019).

يتميز الفريز بقيمة غذائية عالية فيعد مصدراً هاماً لفيتامين C والمنغنيز وفيتامين B9 والبوتاسيوم كما يحتوي على نسبة عالية من سكر الفركتوز المناسب لمرضى السكري والأطفال وكبار السن وعديد من الأحماض الأمينية والكربوهيدرات والأملاح المعدنية (Bjarnadottir، 2019)؛ كما أثبتت مكوناته فعالية ضد عديد من أمراض صحة الإنسان كارتفاع ضغط الدم والسكري والخلايا السرطانية (Giampieri وآخرون، 2013؛ Arizaوآخرون، 2016؛ Basu وآخرون،2020).

يصاب الفريز بعدد من الآفات الزراعية التي تسبب فقداً في كمية المحصول وفي نوعيته وقيمته التسويقية، مما يستدعي مكافحتها أو ضبط تعدادها إلى ما دون الحد الاقتصادي الحرج بغية الوصول الى

محصول يتميز بالجودة والإنتاجية العالية، ومن أهم الآفات الفطرية العفن الرمادي *Botrytis cinerea* والبياض الدقيقي *Sphaerotheca macularis*، كما يصاب بالآفات الحشرية ومنها منّ الدراق الأخضر *Mysus persicae*ومنّ الفريز *Chaetosiphon fragaefolii* منّ القطن أو منّ الشمام *Aphis gossypii* والتربس *Frankiniella occidentalis*، ومن أهم الآفات غير الحشرية أكاروس الفريز العنكبوتي *T. turkestani*

2-1 أكاروس الفريز العنكبوتي *T. turkestani*

1-2-1 الموقع التصنيفي والمدى العائلي:

يعد أكاروس الفريز العنكبوتي *T. turkestani* (Acari: Tetranychidae) من أكثر الآفات الحيوانية غير الحشرية المسببة لأضرار اقتصادية كبيرة على محصول الفريز في مختلف أنحاء العالم (Jeppson وآخرون، 1975؛ Migeon وDorkeld، 2006-2017).

ينتمي هذا الأكاروس إلى فوق فصيلة الأكاروسات الحمراء Tetranychoidea (تحت-رتبة Prostigmata ورتبة Trombidiformes) (Krantz وWalter، 2009)، وفصيلة الأكاروسات العنكبوتية الحمراء العادية Tetranychidae Mites؛ ويندرج تحتها أنواع الأكاروسات نباتية التغذية الأكثر أهمية من الناحية الاقتصادية وهي1310 نوع متوزعة في 73 جنساً، ومسجلة على ما يقارب 3808 عائل نباتي مختلف على مستوى العالم(جدول 1) (Migeon وDorkeld، 2006-2017)، مسببة أضراراً اقتصادية مهمة وانخفاضاً ملحوظاً في الإنتاج كماً ونوعاً (Zhang، 2003؛ Sohrabi و Shishehbor؛ 2007).

الجدول رقم (1): أهم الأنواع الأكاروسية التابعة لفصيلة الأكاروسات العنكبوتية الحمراء العادية Tetranychidae Mites (Migeon و Dorkeld، 2006-2017).

أهم الأنواع التابعة لفصيلة **Tetranychidae**	
الاسم العربي للأكاروس	**الاسم العلمي**
الأكاروس الأحمر العنكبوتي ذو البقعتين	*Tetranychus urticae* (Koch)
الأكاروس العنكبوتي القرمزي	*T. cinnabarinus* (Boisduval)
أكاروس الفريز العنكبوتي	*T. turkestani* (Ugarov & Nikolski)
أكاروس البندورة العنكبوتي الأحمر	*T. evansi* (Baker & Pritchard)
الأكاروس الأحمر الأوروبي	*Panonychus ulmi* (Koch)
أكاروس الحمضيات الأحمر	*P. citri* (McGregor)
الأكاروس الأحمر الشرقي	*Eutetranychus orientalis* (Klein)
أكاروس أشجار الفاكهة البني	*Bryobia rubrioculus* (Scheuten)

سُجِّل أكاروس الفريز العنكبوتي *T. turkestani* في عديد من بلدان حوض المتوسط والدول المجاورة (العراق، تركيا، إيران، الكويت، تونس، فرنسا، إسبانيا) (Migeon و Dorkeld، 2006-2017). وفي سورية، فقد ذكر لبابيدي وعيشة (1995) انتشار هذا النوع في معظم مناطق القطر على عدد كبير من النباتات، في أواخر الربيع وبدايات الصيف، وكذلك في الخريف، وقد سُجل مؤخراً على عدد من النباتات في دراسة أجريت في الساحل السوري (13 نوع نباتي، 11 فصيلة) وأهمها الباذنجان *Solanum*

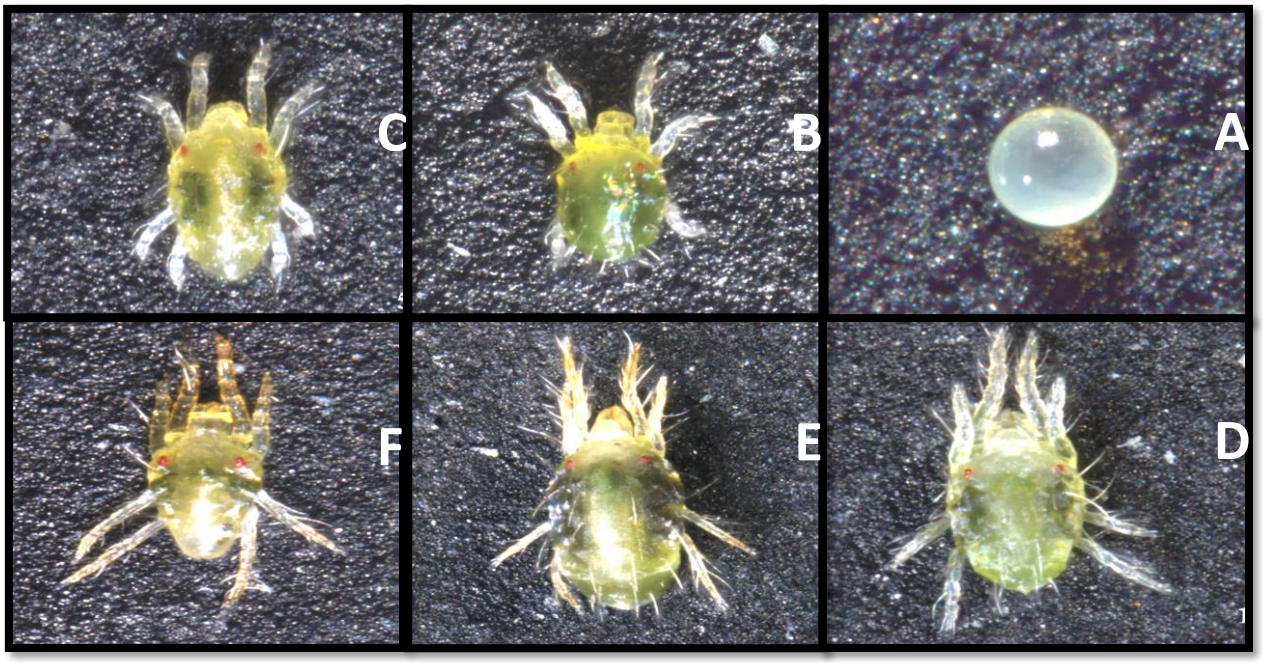
melongena، الفاصولياء *Phaseolus vulgaris*، البرسيم *Medicago sativa*، الجوز *Juglansregia*.sp، الأزدرخت *Melia azedarach*، وسُجّل كذلك في المنطقة الجنوبية على عدد كبير من الأعشاب البرية (12 نوع عشبي؛ 9 فصائل) (Zriki وآخرون، 2015).

1-2-2 دورة حياة الأكاروس:

تعد دراسة دورة حياة الأكاروس وفهم طريقة التكاثر على عوائله النباتية المختلفة أمراً مهماً، وذلك لتقدير طبيعة الإصابة ومقدار الضرر على العائل، واختيار الطريقة الأمثل والوقت المناسب للتدخل بالمكافحة.

تضع الإناث المخصبة البيوضEggs (الشكل 2A) بشكل غير منتظم على الأجزاء النباتية (مفضلةً السطح السفلي للأوراق بالقرب من العصب الرئيسي للورقة)، يتراوح حجم البيض (129.55 ± 1.86 نانومتر) (Jiang وآخرون،2017)؛ ويختلف حجم البيضة ولونها وعدد البيوض الموضوعة من قبل الأنثى الواحدة حسب النوع الأكاروسي والظروف المحيطة؛ وأثبتت الدراسات أن البيض غير المخصب (الذي يعطي ذكور) يكون أصغر حجماً من البيض المخصب (الذي يعطي إناثاً) وأن البيض الناتج عن الإناث المخصبة يكون أكبر عادة من البيض الناتج عن الإناث ذات التكاثر البكري وهذا ما ينعكس على حجم الإناث لتكون الإناث المخصبة أكبر حجماً من الإناث الناتجة عن التكاثر البكري، وتكون البيوض حديثة الوضع غالباً بلون كريمي شفاف مصفر ثم تصبح أكثر قتامة بلون أصفر خلال يومين من الوضع وتظهر البقع العينية في اليوم الثالث؛ وتفقس البيضة لتعطي يرقة كروية (الشكل 2B) من خلال شق عامودي، تملك اليرقة Larva ثلاث أزواج من الأرجل، بأبعاد (طول 223.85± 6.24 نانومتر، عرض 139.96± 5.30 نانومتر)، عندما تخرج من البيضة تكون شفافة وذات عيون حمراء، وتبدأ بالتغذية على النسيج النباتي لتتحول إلى اللون الأخضر المصفر أو الأخضر الغامق، وتبدأ في هذه المرحلة ظهور البقع المميزة لهذا النوع على الظهر، وعندما تتغذى غذاء كافياً وتصل إلى مرحلة النضج، تثبت نفسها على سطح الورقة وتتوقف عن التغذية لتدخل في مرحلة راحة ، خلالها يمتد الزوجان الأماميان من الأرجل بشكل

مستقيم ويقتربان من بعضهما بينما الزوج الخلفي من الأرجل يمتد إلى الخلف ويكون على مقربة من الجزء الخلفي للجسم opisthosoma. وتتحول إلى طور الحورية الأولى Protonymph (الشكل 2C) ويكون حجمها أكبر من حجم اليرقة، ولها أربع أزواج من الأرجل، ذات لون أخضر شاحب وأغمق من لون اليرقة، وتكون البقع أغمق مقارنة مع اليرقة ولها شكل بيضوي، بأبعاد (طول 267.87± 5.23 نانومتر، عرض 176.69± 5.42 نانومتر)، وتدخل الحورية الأولى بعد مدة قصيرة مرحلة راحة تتوقف خلالها عن التغذية وتبقى ثابتة على السطح النباتي، ثم طور الحورية الثانية Deutonymph (الشكل 2D) وهي غالباً ذات لون أحمر، وأكبر قليلاً من الحورية الأولى، بأبعاد (طول 372.89± 11.78 نانومتر، عرض 212.93± 7.10 نانومتر)، تدخل الحورية الثانية بعد ذلك مرحلة راحة حيث يتقلص جسمها وينخفض حجمها، لتعطي أفراداً كاملة Adults. تمتلك الأفراد البالغة بقعاً وألواناً مختلفة على الجانب الظهري من الجسم حسب نوع الأكاروس والعائل، تنبثق الأفراد البالغة من خلال شق ظهري لبشرة طور الحورية الثانية، ثم تبدأ نشاطها مباشرة. الذكر (الشكل 2F) أصغر حجماً من الأنثى (الشكل 2E)، والجسم أضيق، له نهاية جسم مدببة واضحة. تدخل الإناث الملقحة بطور سكون بنهاية الموسم وذلك في مناطق محمية وعلى الأعشاب عندما تنخفض درجات الحرارة ويقصر النهار وتتغير نوعية الغذاء وغالباً تتلون الإناث باللون الأحمر القرمزي، وعند تغير الظروف المحيطة في الربيع تعود لتنشط وتبدأ بوضع البيض والتغذية على النبات. يتشابه النسيج العنكبوتي الذي تغزله أفراد أكاروس *T. turkestani* مع النسيج الذي تصنعه أفراد *T. urticae* و*T. truncates* (Bostanian و Morrison، 1973)



الشكل (2): الأطوار المختلفة لأكاروس الفريز العنكبوتي *T. turkestani* (Jiangوآخرون،2017)

A: بيضة B: يرقة (سداسية الأرجل) C: حورية أولى D: حورية ثانية E: أنثى F: ذكر

1-2-3 الأهمية الاقتصادية والضرر:

تصيب الأكاروسات مختلف أنواع المحاصيل الزراعية وحتى الأخشاب والحبوب المخزنة، يسبب حجمها الصغير ومظهرها المتماهي مع وسطها صعوبة في اكتشاف الإصابة بها، وعند دخولها لمناطق جديدة فإنها تصل إلى كثافة عالية بسرعة كبيرة وتصبح آفة في هذه المناطق، وذلك ناتج عن مجموعة من الخصائص البيولوجية والبيئية كالخصوبة العالية، وطرق الانتقال المتعددة، والقدرة العالية على التكيف مع الظروف البيئية المختلفة، والمقاومة للكثير من أنواع المبيدات المطبقة عملياً (Zhang،2003).

تختلف أفراد فصيلة الأكاروسات العنكبوتية الحمراء العادية فيما بينها بالسلوك الغذائي، وتقيم أشكالاً مختلفة من العلاقات مع الوسط المحيط، وتشير الكثير من الدراسات الحديثة إلى وجود ارتباط وثيق بين عدد كبير من الأنواع الأكاروسية والنباتات العائلة المتطفلة عليها، فتسهم الخصائص الفيزيائية والبيو-كيميائية لهذه النباتات (هيكلية الورقة، وجود الأوبار والأشعار، الغدد، والتعريق) إسهاماً مُهماً في جذب

أنواعاً محددة من الأكاروسات دون غيرها، وكذلك في زيادة الخصوبة الجنسية عندها، وبالتالي وجودها، تطورها، استمراريتها، وانتشارها، كما تؤثر بشدة الإصابة ومستويات الضرر (Errard وآخرون، 1986؛ Schaller،2008؛ Dicke وآخرون،2009؛ Zhou وآخرون، 2015).

تمتص الأطوار المتحركة لهذا الأكاروس العصارة النباتية من الأجزاء المصابة وهذا ما يؤثر على الأنسجة النباتية ويفتك بها، تتركز الإصابات بهذا الأكاروس على السطح السفلي للأوراق الغضة فتظهر البقع التي يتراوح لونها بين الأبيض والأصفر إلى الفضي؛ ومع تقدم الإصابة تجف وتندمج البقع ويتحول لونها إلى البني، وتؤدي شدة الإصابة إلى جفاف كامل سطح الورقة النباتية ومن ثم موت النبات المصاب، كما تؤثر الإصابة على مجمل الوظائف الحيوية للنبات من تركيب ضوئي وتنفس ونتح وهذا ما يؤثر عامة على الإنتاج والقيمة التسويقية (Sances وآخرون، 1982).

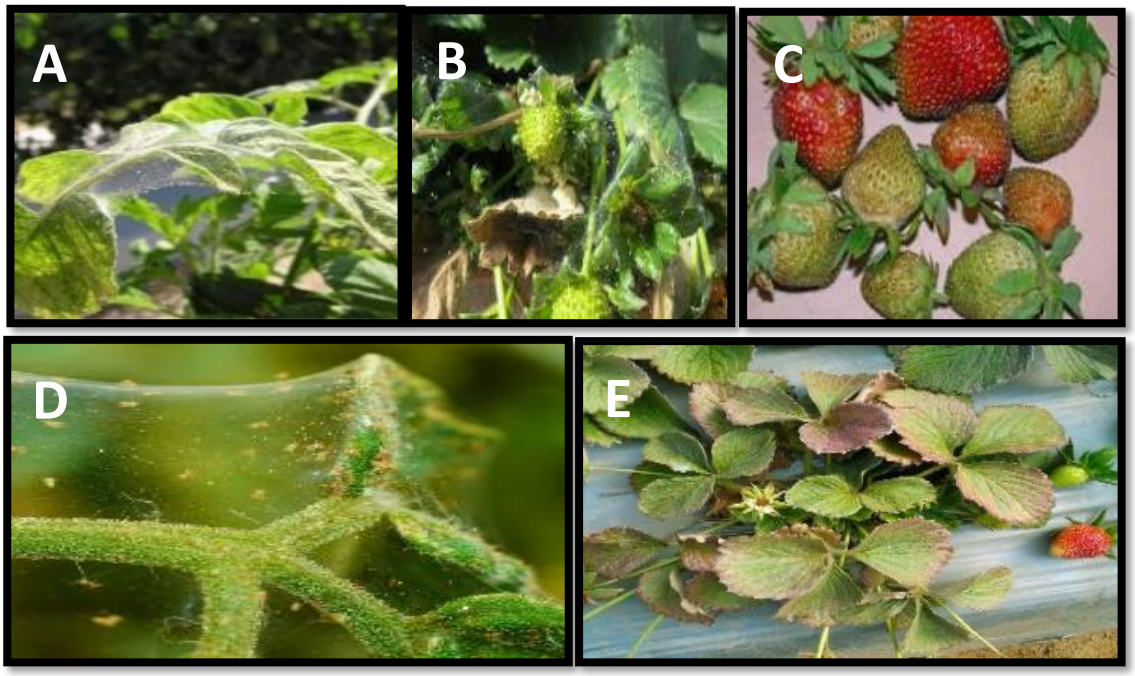
تتميز أفراد جنس *Tetranychus* بإفراز نسيج عنكبوتي دقيق؛ حيث تقوم الإناث بإفراز شبكة من الخيوط تغطي بها البيوض واليرقات وذلك لحمايتها من المتطفلات والعوامل الخارجية الأخرى (Zhang ،2003)، ويساعد هذا النسيج مع ازدياد أعداد الأكاروسات في الانتشار ومهاجمة بقية الأجزاء النباتية وصولاً إلى الثمار، ويؤدي إلى تجميع الغبار وقلة نفاذية سطح بشرة النبات المصاب وخفض مستوى التمثيل الضوئي في النباتات المصابة. كما يؤمن هذا النسيج للأفراد القدرة على الحركة والانتقال والوصول إلى مصادر الغذاء وشريك التزاوج، ويحميها من التأثير التلامسي المباشر مع المبيدات، ووصول بعض الأعداء الحيوية لها (الأحمدي وجمال، 1989).

تؤدي مجمل هذه الإصابات إلى تساقط الأوراق وتلف الثمار وضعف النبات عامة وينتهي به الأمر إلى موت النبات (Sohrabi وShishehbor ،2007). وتشير بعض الدراسات إلى إفراز هذا الأكاروس لمواد سامة يحقنها في الأنسجة النباتية (Simons، 1964؛ Brito وآخرون ،1986).

تقوم هذه الأكاروسات بثقب البشرة الخارجية للنسيج النباتي بواسطة أجزاء فمها الحادة ثم تقوم بامتصاص محتويات الخلايا، تشتد الإصابة مع ازدياد أعداد الأكاروسات حتى تؤدي في النهاية إلى موت النباتات(Jeppson وآخرون، 1975؛ Bolland وآخرون،1998؛ Zhang ،2003؛ Vacante،2010)، وهذا ما أحدثته كثافة قليلة من أفراد النوع *T.urticae* للنسيج الإسفنجي على الفريز وازدادت مساحة الضرر عند زيادة الكثافة مما أدى إلى تخشب البرانشيم (Sances وزملاؤه،1979؛ Kielkiewicz و Van de Vrie ،1983)، وانخفاض مستوى التمثيل الضوئي وامتصاص ثاني أكسيد الكربون والتنفس ومحتوى الكلوروفيل حتى 60% في الأوراق المصابة. وتؤدي الإصابة الشديدة إلى تماوت النبات وانهياره انهياراً كاملاً، كما تسبب تشوه الأوراق وتقزمها، الذبول، وانخفاض كمية المنتج الزراعي ونوعيته والتي تعد أعراضاً إضافية الشكل (3).

وقد بينت الدراسات أنه من خلال تغذيتها المباشرة على النباتات المُهاجَمة تنقل بعض أنواع الأكاروسات بعض الممرضات النباتية الفيروسية مثل فيروس البطاطا Y(PYV) *Potato Y Virus* الذي يصيب عديداً من المحاصيل كالبطاطا والبندورة والتبغ والباذنجان وغيرها التي تنقل بواسطة الأكاروس العنكبوتي ذي البقعتين *T. urticae*؛ كما يمكن أن ينقل فيروس موزاييك التبغ (TMV) *Tobacco Mosaic Virus* وفيروس فسيفساء موزاييك واصفرار الفاصوليا الجنوبية *Bean* Yellow *Mosaic Virus* (BYMV) وفيروس تجعد أوراق القطن (CLCuV) *Cotton Leaf Curl Virus* (Sarwar، 2020).

كما ورد ذكر نفس الأعراض السابقة عند تغذية الأكاروسات التابعة لفصائل مختلفة Eriophyidae، Diptilomiopidae، Tarsonemidae، Tenuipalpidae، Tuckerellidae، Tetranychidae على الحمضيات (Vacante، 2010).



الشكل (3): الأضرار الناجمة عن أكاروس الفريز العنكبوتي على الأجزاء النباتية المصابة لنبات الفريز (Migeon و Dorkeld، 2017)

A B D: شبكة الخيوط الحريرية: **C** انخفاض جودة الثمار **E:** تشوه الأوراق

1-2-4 الوصف المورفولوجي:

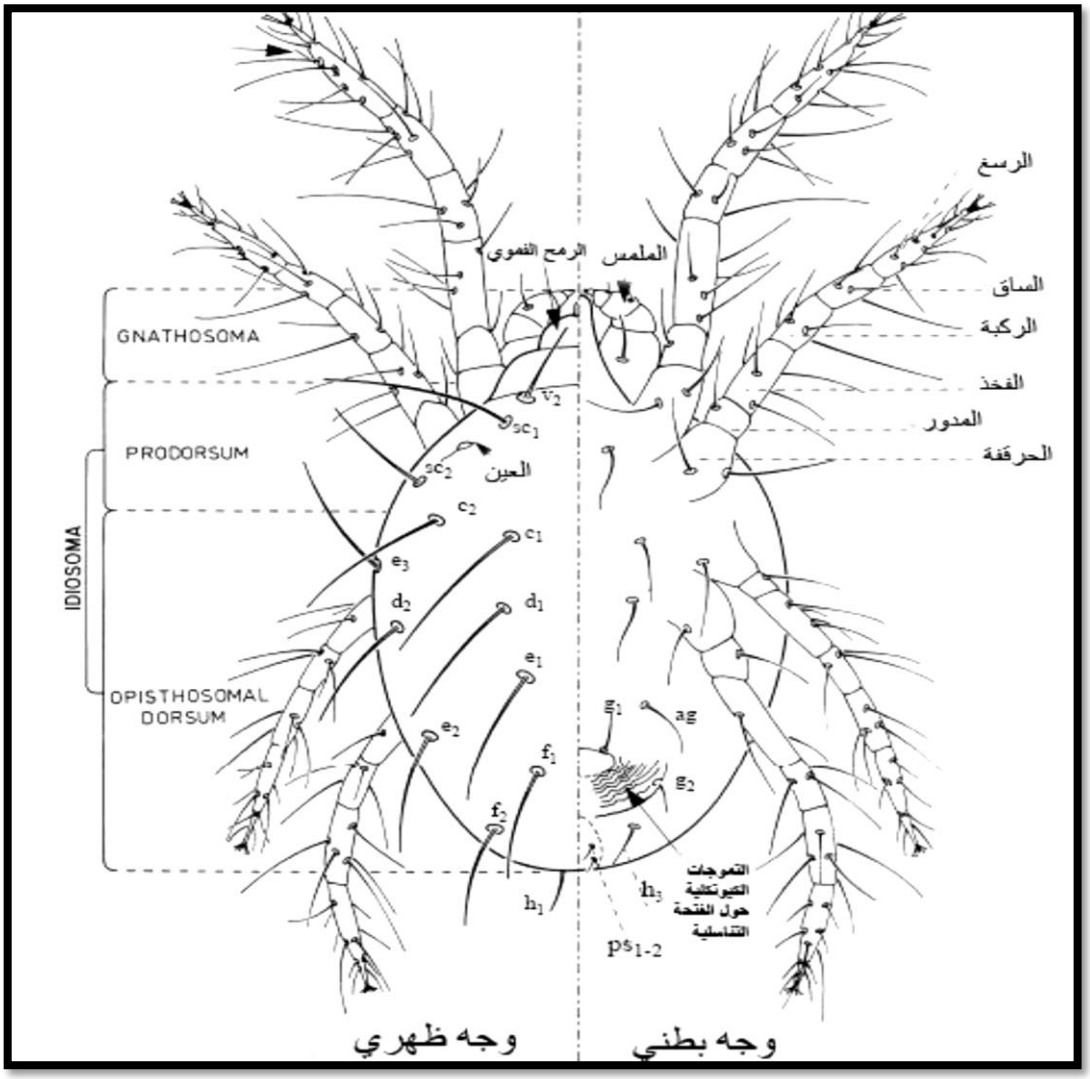
يتألف جسم أكاروس الفريز العنكبوتي *T. Turkestani* من قسم أمامي وقسم خلفي الشكل (4). يضم القسم الأمامي المنطقة الفموية gnathosoma الشكل (5A) زوج من العيون البسيطة، والفكوك المخلبية المتحركة Chelicera متحورة لسوط طويل منحني، ومتمركزة على قواعد الفكوك المخلبية الثابتة المندمجة مع بعضها والتي تشكل ما يسمى بحامل الرمح Stylophore. (Zhang وآخرون، 2002؛2003)، ويتصل اتصالاً قابلاً للحركة مع الجزء الأساسي من الجسم وهو الجسم الواضح idiosoma الذي يحمل عدداً من الشعيرات على الوجهين الظهري والبطني للجسم، يقسم ال

idiosoma بدوره إلى أمامية podosoma (الجسم القدمي أو ما يعرف بمنطقة الأرجل) وإلى خلفية opisthosoma (البطن= abdomen) الشكل (5B) فإن الأثلام sejugal و disjugal التي تفصل هذه الأجزاء عن بعضها اختفت عند أنواع فصيلة Tetranychidae ويظهر أحياناً ثلم sejugal عند بعض أنواعها ظهور خط أثري قبل زوج الشعيرات c2 – c1 وتظهر المنطقة التناسلية والشرجية والشعيرات الملحقة بها على الوجه البطني للجسم كما ذكر أعلاه .

كما يلاحظ وجود زائدة إبهامية في العقلة الرابعة للملمس القدمي وتحمل هذه العقلة مخلباً قوياً، تحمل المخالب شعيرات Tenant hairs الشكل (5C)، وقد تكون هذه المخالب عادية أو متحورة إلى ما يشبه الوسائد، وعليها شعيرات محمولة من الناحية السفلية الجانبية. حيث يوجد شعيرات مضاعفة متخصصة، الطويلة منها حسية كيميائية، والقصيرة حسية حركية توجد على رسغ الساق الأولى والثانية، وتحمل منطقة الأرجل الخلفية ومؤخرة الجسم شعيرات سوطية Hysterosoma وتختفي هذه الشعيرات في نهاية الجسم الخلفية.

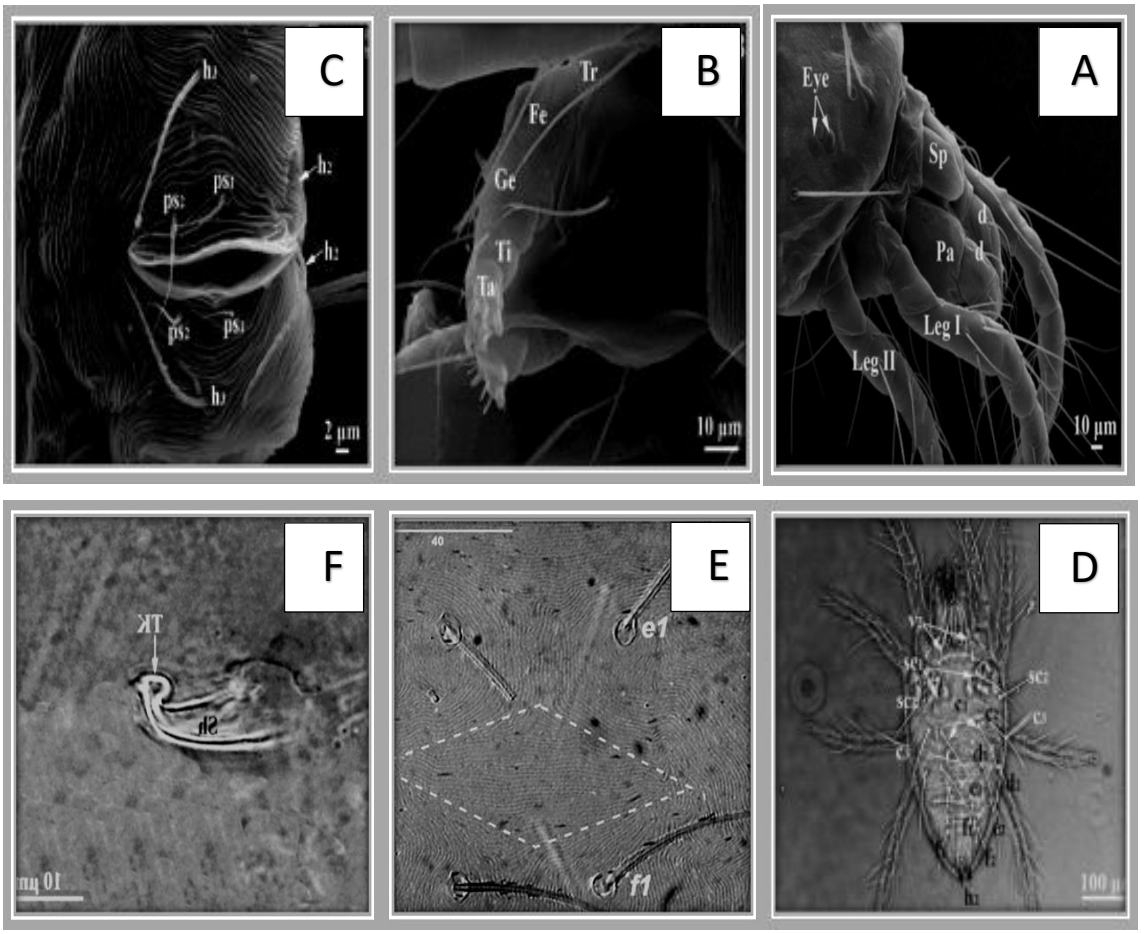
من الصفات المميزة لأفراد هذا الجنس الشعيرات الظهرية Dorsal setae والتي تختلف بأطوالها بين الأطوار المختلفة وهي 14 زوجاً من الشعيرات الظهرية الشكل(5D) وتدعى v2, sc1, sc2, c1, c2, c3, d1, d2, e1, e2, f1, f2, h2 , h3. تُكون تزيينات السطح الظهري لهذا الأكاروس خطوطاً غير منتظمة مشابهة لبصمات الأصابع، ويمكن أن تكون هذه التزيينات خطوطاً منقطة أو خطوطاً مستمرة. الشكل(5E)

تمتلك الذكور عضو سفاد Aedeagus الشكل(5F) تستخدمه في عملية التزاوج، وله أهمية تصنيفية كبيرة جداً في تمييز الأنواع التابعة لهذا الجنس (Zhang،2003؛Vacante ، 2010)



الشكل (4): رسم تخطيطي للوجهين الظهري والبطني للأكاروس (Zhang وآخرون ،2002– 2003)

كما أن وجود عدد من الشعيرات حول منطقة الشرج، يُسهم اسهاماً تصنيفياً مهماً على مستوى الأجناس والأنواع، وتقسم إلى شعيرات شرجية Anal Setae، وشعيرات محاذية للشرج أمامية Anterior Para–Anal Setae، وشعيرات محاذية للشرج خلفية Posterior Para–Anal Setae (الأحمدي وجمال،1989).



الشكل (5) صور بالمجهر الالكتروني الماسح لأهم الصفات المورفولوجية للأكاروس (Zhang وآخرون،2003)

A: المنطقة الفموية B: الشعيرات المخلبية C: المنطقة الخلفية

D: الشعيرات الظهرية E: التزيينات (بصمة الإصبع) F :عضو السفاد عند الذكر

3-1 الإدارة المتكاملة للأكاروس (IPM):

هناك عدد من الطرائق المتبعة في نظام الإدارة المتكاملة للآفة، منها اتباع الطرائق الزراعية الملائمة وزراعة الأصناف النباتية المقاومة، ويعد استخدام المبيدات الأكاروسية المتخصصة أحد عناصر المكافحة المتكاملة للأكاروسات والتي تهدف إلى خفض تعدادها إلى ما دون مستوى الحد الاقتصادي الحرج، وعلاوةً على الخسائر والأضرار المباشرة لهذه الآفة والتكاليف المرتفعة من جراء استخدام المبيدات الكيميائية، تأتي أهمية دراسة كفاءة وسائل مكافحة أخرى وتقييمها، كاستخدام وسائل المكافحة الحيوية

المختلقة بواسطة عديد من المفترسات والمتطفلات والمسببات المرضية؛ حيث يتم تطبيق برامج المكافحة الحيوية في عديد من بلدان العالم، باستخدام الأكاروسات المفترسة من فصيلة Phytoseiidae (Kostiainen و Hoy ، 1996؛ McMurtry وآخرون، 2013؛Barbosa و Moraes ،2015).

ازداد الاهتمام والتوجه نحو الاستخدام التطبيقي لعوامل المكافحة الميكروبية (فطريات، بكتيريا، بروتوزوا، فيروسات) في الإدارة المتكاملة للأكاروسات، وخاصة في المحاصيل ذات القيمة الغذائية والاقتصادية العالية (Hajek، 2004)، وحسب رأي عدد من الباحثين فإن هذه الأعداء الحيوية المستخدمة على نطاق تجاري عالمي واسع، قد لا تكون لوحدها وسيلة كافية في ضبط تعداد مجتمعات الأكاروسات العنكبوتية إلى ما دون الحد الاقتصادي الحرج (Field،1986؛Kim و آخرون، 1997؛ Ibrahim وYee،2000)؛ ولذلك ازداد الاهتمام بالتوجه في الآونة الأخيرة لوضع استراتيجيات إدارة متكاملة لهذه الأكاروسات، بما في ذلك البحث عن بدائل آمنة للمبيدات الكيميائية، كالمستخلصات النباتية (Isman،2015)، والمبيدات الحيوية الميكروبية الفطرية والبكتيرية (Rojas، 2006؛ Rashki وآخرون،2009؛ Seiedy وآخرون،2010).

استخدمت الكائنات الحية الدقيقة في مكافحة الآفات الحشرية في القرن التاسع عشر بواسطة العديد من الباحثين. وقد طورت في العقد الأخير فكرة المكافحة الحيوية باستخدام الممرضات المتخصصة على الآفة المستهدفة في المكافحة، والتي أثبتت خلال استخدامها تأثيرها الآمن على الوسط الحيوي والسمية المنخفضة على الثدييات، وقد تبناها برنامج الصحة العالمية لما لها من فوائد (Gupta وDikshit،2010)، وتضم هذه الممرضات البكتيريا، والفطور، والفيروسات، والنيماتودا، إضافة إلى السموم التي تفرزها هذه الكائنات والتي تستخدم أيضا في المكافحة الحيوية كرديف للمبيدات الكيميائية في برامج المكافحة المتكاملة وإدارة الآفات (Albajes ،2001)؛ وصنعت العديد من المبيدات الحيوية والتي كان معظمها بكتيري المادة الفعالة، كما استخدمت بعض أنواع البكتيريا التابعة للجنس *Bacillus* Cohn في عديد من بلدان العالم كحل بديل وآمن للمبيدات الكيميائية في مكافحة الآفات

الأكاروسية، والتي بدورها أعطت نتائج جيدة وفعالة في التطبيق الحقلي ضد عديد من الآفات الأكاروسية وذلك لتأثيرها في معدلات الوفيات والخصوبة والتغذية عند الأكاروسات العنكبوتية (Pérez، 2007؛ Veloorvalappil وآخرون، 2013).

والتي كان من أشهرها وأكثرها استخداماً وتداولاً في المبيدات الحيوية بكتيريا *Bacillus thuringiensis*، لكونها أحد المبيدات البيولوجية الحشرية الناجحة لأكثر من 40 عاماً ونجحت كأداة فعالة وآمنة للسيطرة على مجموعة واسعة ومتنوعة من الآفات الحشرية (Nestar وزملاؤه، 2002).

1-4 البكتيريا الممرضة التابعة للجنس *Bacillus*

1-4-1 الموقع التصنيفي والانتشار:

توجد البكتيريا التابعة للجنس *Bacillus* في كل مكان، وهي تستوطن التربة ويمكن عزلها (De Lucca وآخرون، 1981)، كما يمكن أن توجد في الحشرات (Meadows وآخرون، 1992)، أو في منتجات الحبوب المخزونة، تتميز هذه البكتيريا بقدرتها على تكوين الأبواغ التي تعمل على حفظ البكتيريا وحمايتها من العوامل البيئية غير الملائمة

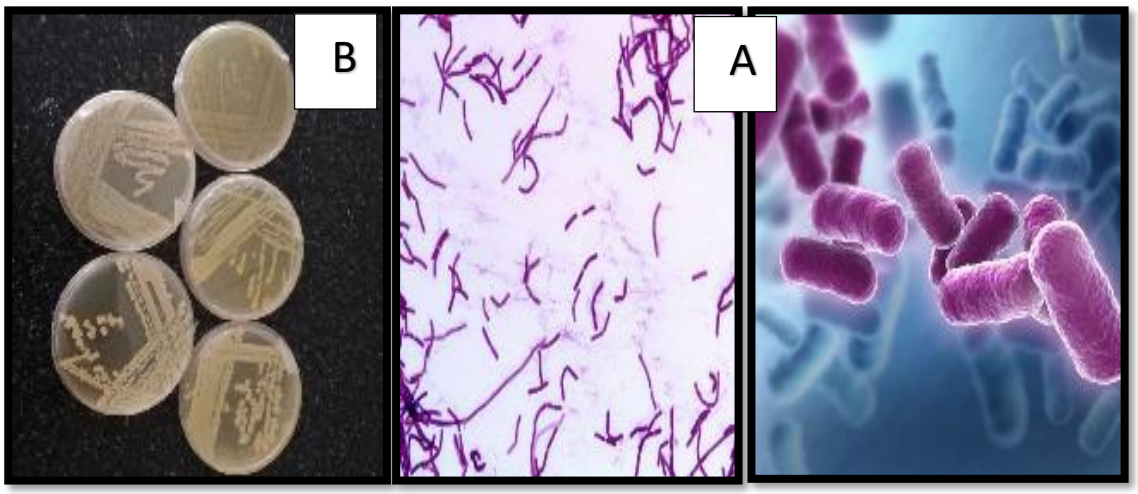
الجدول رقم (2): الموقع التصنيفي للبكتيريا التابعة للجنس*Bacillus*
(De Luccaوآخرون، 1981)

Kingdom	**Eubacteria**
Phylum	**Firmicutes**
Class	**Bacilli**
Order	**Bacillales**
Family	**Bacillaceae**
Genus	***Bacillus***

1-4-2 الخصائص المورفولوجية والحيوية:

كائنات حية دقيقة وحيدة الخلية الجينوم DNA، عصوية الشكل مستوطنة للتربة موجبة الغرام الشكل رقم (6)، وموجبة الكاتالاز وسالبة الأوكسيداز (Thiery و Frachon،1997)، متبوغة قادرة على تكوين الأبواغ الداخلية المقاومة لدرجات الحرارة المرتفعة (Msadek وآخرون، 1994)، هوائية أو لاهوائية اختيارياً تشكل مستعمرات دائرية بيضاء لامعة ذات حواف ملساء أو خشنة تبعاً للنوع، درجة الحرارة المثالية لنموها 27±2 س° (Goldman، 2008).

وقد قسمت الأنواع البكتيرية التابعة لهذا الجنس بالاعتماد على شكل الأبواغ الى ثلاث مجموعات تصنيفية الجدول رقم (3) (Gordon وآخرون ،1973).



الشكل رقم (6): الصفات المورفولوجية للجنس *Bacillus* (Goldman، 2008)
A: الشكل العصوي للبكتيريا B: شكل المستعمرات

1-4-3 دورة حياة البكتيريا:

تمر البكتيريا التابعة للجنس*Bacillus* خلال دورة حياتها بطورين اثنين، هما الطور الخضري وفيه تتوالى الانقسامات على الخلية البكتيرية، وعندما تتعرض لظروف غير ملائمة تبدأ بتشكيل الأبواغ وهو الطور الذي تكون فيه البكتيريا مقاومة للظروف القاسية كالحرارة والجفاف ونقص الغذاء؛ ومهمتها حماية البكتيريا والمحافظة على بقائها خلال الظروف البيئية غير الملائمة وعندما تتحسن الظروف تنتش هذه

الأبواغ وتستكمل دورة حياتها (Lambert و Peferoen،1992)، يمكن أن تبقى هذه الأبواغ حية لعدة سنوات (Addison، 1993).

الجدول (3): أهم المجموعات التصنيفية للبكتيريا *Bacillus* تبعاً لشكل الأبواغ (Gordon وزملاؤه ،1973)

المجموعات	الخصائص العامة لها	أهم الأنواع
المجموعة الأولى	موجبة غرام، وتضم الأنواع التي تكون فيها الأبواغ مركزية أو محيطية، بيضاوية أو أسطوانية الشكل، والحافظة البوغية غير منتفخة.	*B. mycoides* *B. thurengiensis* *B. cereus* *B. anthracis* *B. megaterios*
المجموعة الثانية	متغيرة لصبغة غرام: وتضم الأنواع التي لديها أبواغ بيضاوية الشكل، والحافظة منتفخة	*B. circulaaus* *B. pumilus* *B. lichenifemis* *B. caaguleans* *B. subtilis*
المجموعة الثالثة	متغيرة لصبغة غرام، وتملك حافظة بوغية منتفخةsporangia ، والأبواغ محيطية أو قرب محيطية	*LysiniBacillus sphaericus*

1-4-4 آلية تأثير البكتيريا على الآفة

تعد بكتيريا الجنس *Bacillus* ممرضات داخلية وتعود قدرتها الإمراضية لوجود كريستالات بروتينية سامة تدعى Cry ، وأنزيمات مُحللة Cyt، إضافة إلى مجموعة PFT Parasporin).

تفرز البكتيريا BT كريستالات بروتينية سامة Prototoxin (δ-endotoxins) غير منحلة وغير فعالة في الظروف الطبيعية، عندما تتغذى الحشرة (القارضة) على أجزاء نباتية ملوثة بالبكتيريا وأبواغها، يُنشط ويُفعل هذا السم البروتيني، حيث يُحل بواسطة القلوية العالية في أمعاء الحشرة Ph>9 ويُقطع بواسطة أنزيمات البروتييز Proteases الموجودة في الأمعاء فيتحرر السم Toxins الفعّال.

هذا السم الفعّال يرتبط إلى مستقبلات غشائية في الخلايا الطلائية للأمعاء للحشرة مما يؤدي إلى تشكيل ثقوب في الأمعاء فيحدث اختلاط بين دم الحشرة Haemolymph ومكونات الأمعاء فتنخفض قيمة Ph (ترتفع درجة الحموضة) الذي يشجع انتاش الأبواغ وتكاثر البكتيريا، هذه الآلية من التأثير تؤدي إلى شلل وموت الحشرة المصابة بعد التوقف عن الحركة والتغذية ويختلف نوع السم الذي تفرزه البكتيريا باختلاف تحت الأنواع والسلالات(Parker و Feil،2005)

أما عند الأكاروسات تختلف آلية وصول البكتيريا الممرضة لداخل جسم الأكاروس، إذ إن من المحتمل أن البكتيريا دخلت لجسم الأكاروس عن طريق الفتحات التناسلية أو الثغور الوسطى، التي أدت لإحداث تأثير سام على الأكاروس بفعل δ–endotoxins والمفرزات البكتيرية السامة الأخرى – alpha exotoxin، التي تفرزها أنواع محددة من بكتيريا Bt، إضافة إلى السموم التي تفرزها البكتيريا في أثناء نموها الخضري Vegetative Insecticidal Protein (VIP) (Khetan ،2001؛ Jouzani وآخرون، 2007).

1–4–5 استخدام البكتيريا *Bacillus* في المكافحة الحيوية:

تعددت استخدامات البكتيريا التابعة للجنس Bacillus في مجال المكافحة الحيوية لتشمل مكافحة الحشرات، التي يعود تاريخها إلى عام 1914على يد العالم Herelle، بحيث سجلت إصابة أكثر من 50 %من مفصليات الأرجل على الرز ببكتيريا BT (Theunis، 1998).

يضم الجنس Bacillus النوع B. thuringiensis (Bt) الذي ينتشر في جميع أنحاء العالم (Schnepf وزملاؤه ، 1998) وتعد هذه البكتيريا ذات طيف إمراضي واسع لعديد من الكائنات الحية مثل البروتوزوا، النيماتودا، الأكاروسات، الحشرات وممرضات أخرى، وتشير الأبحاث إلى أن أكثر من 400 مستحضر Bt مُسجّلة في الأسواق العالمية لهذه الغاية، يحتوي معظمها على بروتينات ممرضة للآفات (Ahmedani وآخرون،2008)، ودرست أنواع هذه البكتيريا خاصة بكتيريا *Bacillus thuringensis* والتي استخدمت كمبيد حيوي واسع الانتشار (Marroquin وزملاؤه، 2000)، وعزلت

هذه البكتيريا لأول مرة في عام 1901 في اليابان على يد العالم Ishiata كمسبب لمرض sotto على يرقات ديدان الحرير (Bombyyx mori) المصابة واكتسبت اسم Bacillus thuringensis في عام 1911 ثم عزلت في عام 1915 من يرقات ذبابة الطحين المتوسطية في مقاطعة ثورجينيا Thuringen (Lambert و Peferoen،1992)، وأُكثرت في أواخر الثلاثينيات، وأنتجت في أمريكا في أواخر الخمسينيات. وبدأ إنتاجها كمستحضرات تجارية عام 1970، تضم مادتها الفعالة عزلات: *Bt. var kurstaki*، *Bt.var aizawa*،*Bt.var morrisoni*، *Bt. var tenebrionis* (Entwistle وزملاؤه، 1993) وسوقت تجارياً بأكثر من 100 مستحضر تجاري (Flexner وBelnavis، 2000)، ومحتوية على أكثر من 34 تحت نوع من الل Bt (De Barjac وFrachon، 1990). واكتشف العالم Dulmage عام 1960 الفعالية العالية للنوع. *Bt. subsp kurstaki* في القضاء على يرقات حرشفية الأجنحة ويصيب أيضاً ثنائية الأجنحة. وشمل استخدامها في مجال مكافحة حشرات الصحة العامة كالبعوض الناقل لمرض الملاريا والحمى الصفراء (Orduz وآخرون، 1995)، أما عن الاكتشافات الحديثة في هذا المجال فتشير إلى فاعلية تأثير هذه البكتيريا على نيماتودا تعقد الجذور *Meloidogyne incognita* (Soliman وآخرون،2019)، وبهذا التأثير الفعال ضد الآفات الزراعية المختلفة فقد ركزت الجهود لعزل السلالات المحلية لهذه البكتيريا واستخدامها كطريقة بديلة عن استخدام المبيدات الكيميائية (Josephine وآخرون، 2009)، وخاصةً في الحالات التي أصبحت فيها الآفة مقاومة للمبيدات الكيميائية كما في حافرة أوراق البندورة (Lepidoptera: Gelechiidae) *Tuta absoluta* ، والتي سجلت مقاومتها في العديد من المناطق كالبرازيل(Siqueira وآخرون، 2000).

ونجحت معظم عزلات بكتيريا BT في ضبط تعداد عديد من الآفات الحشرية التي تنتمي لكثير من الرتب مثل: Lepidoptera وDiptera وColeoptera (Pérez وآخرون، 2007؛ Roh وآخرون، 2010) والآفات غير الحشرية كالنيماتودا والأكاروسات (Neal وآخرون،1987؛ Zemkova؛ وآخرون،2005؛Zemek وHubert،2008؛ Van Franken huyze، 2009).

6-4-1 أمثلة تطبيقية لاستخدام البكتيريا *Bacillus* في مكافحة الأكاروسات

استخدام البكتيريا Btعلى عث الدجاج *Dermanyssus gallinae* بتراكيز مختلفة كما ذكر (Torresو آخرون، 2018)، التي أثرت على الأكاروس بأطواره كلها، فمن المحتمل أن البكتيريا دخلت لجسم الأكاروس عن طريق الفتحات التناسلية أو الثغور الوسطى، التي أحدثت التأثير السام على الأكاروس بفعل δ-endotoxinas، وكانت الأعراض الناتجة عن ذلك تمزيق خلايا البشرة وفقدان الحركة والتوقف عن التغذية وبالتالي توقف الإناث عن وضع البيض وارتفاع نسبة الموت فبلغت 60_90% بتراكيز مختلفة من المعلق البكتيري المختبر.

كما استخدمت البكتيريا Bt كمبيد فعال ضد فاروا النحل *Varroa destructor* مع معدل وفيات بنسبة 93.3٪ في الأفراد البالغة بعد 48ساعة من المعاملة (Ramírez وآخرون، 2014).

وبينت دراسة أجريت على الأكاروس الذي يصيب حيوانات المزرعة كالأرانب وغيرها *Psoroptes cuniculi* فعالية استخدام مستخلص بروتينات Bt في القضاء على هذا الأكاروس وتضمنت التغيرات النسيجية التي سببتها البكتيريا وجود فراغات واسعة بين الخلايا في الغشاء القاعدي وانفصال الغشاء عن مصفوفة الصفاق والتغيرات المورفولوجية في الخلايا العمودية للأمعاء، كما نجح هذا التطبيق في علاج الجرب الصدفي في الأرانب دون ملاحظة أي تهيج أو آفات مجهرية (Dunstand وآخرون، 2015).

وذكر بأن 15 سلالة من *Bacillus* spp. من بينها السلالات PSL104و113 و114 كانت قادرة على التسبب في تمزق الجدران الخارجية وانفجار مكونات الخلية لدى إناث *T. urticae*، مما دل على فعالية هذه البكتيريا كمتحكم حيوي لهذه الآفة (Larrea وآخرون،2015).

وجد Ahmed وزملاؤه (2015) أن زيادة التراكيز المستعملة من البكتيريا *BT* ضد أكاروس المخازن *Tyrophagus putrescentiae* سبب انخفاضاً ملحوظاً في معدل الخصوبة وطول العمر لدى

الأكاروس وسجلت أعلى نسبة وفيات حوالي 90% عند تركيز 32 مغ/ كغ وذلك خلال أربعة أسابيع من المعاملة، واعتبر هذا التركيز الأفضل للاستخدام في برامج الإدارة المتكاملة.

كما درس Ciancioو Mukerji (2010) تأثير البكتيريا على الأكاروسات في معدل الخصوبة والتوافقية (عدد مرات التزاوج) والإباضة ونسبة قتل الذكور، وقد دلّت نتائج أبحاثهم أن العزلات البكتيرية المُختبرة نجحت في إحداث تشوهات غير طبيعية في الأفراد المدروسة وزيادة أعداد الأفراد الميتة وإعطاء بيوض قليلة الخصوبة. وكانت التطبيقات الحقلية لعزلات من بكتيريا *BT* فعّالة ضد أكاروس الحمضيات الأحمر *Panonychus citri* McGregor (Acari: Tetranychidae) حسب الدراسة التي أجراها Hall وآخرون، 1971) ، و كذلك في ضبط تعداد مجتمعات الأكاروس العنكبوتي *Tetranychus pacificus* McGregor(Hoy وOuyang، 1987)، كما اختبر تأثير عزلتين مختلفتين من بكتيريا *BT* ضد الأكاروس العنكبوتي الأحمر ذي البقعتين *T.urticae* (Royalty وآخرون،1990) ؛ وأشارت نتائج هذه الدراسة إلى فعالية عزلات هذه البكتيريا كمبيد حيوي لهذا الأكاروس وخاصةَ بالنسبة للأطوار البالغة، ويكون معدل النمو مرتفعاً.

كما تمّ لاحقاً العثور على عزلات فعّالة من بكتيريا *BT* والتي أظهرت سمية واضحة على كل من الأكاروسات العنكبوتية وأكاروسات الغبار (Payne وزملاؤه، 1993–1994).

ومن الاكتشافات المهمة كذلك عزل سلالات من بكتيريا *BT* من الأفراد الميتة للأكاروس الأحمر ذي البقعتين *T. urticae*، وتشكّلت مجموعات كروية الشكل من أبواغ البكتيريا وظهرت الكريستالات البلورية للبكتيريا والمكوّنة من عديدات الببتيد بوزن جزيئي (79–86 كيلودالتون). (Jung و آخرون (2007،

الفصل الثاني: المواد وطرائق العمل

2-1 مكان تنفيذ البحث:

نُفذ هذا البحث في مخابر قسم وقاية النبات (مخبر الآفات الحيوانية غير الحشرية ومخبر الممرضات البكتيرية) في كلية الزراعة- جامعة دمشق، خلال المرحلة الممتدة بين 2018-2022.

2-2 تربية مستعمرات من أكاروس الفريز العنكبوتي *T. turkestani*

حُصل على مجتمع أكاروس الفريز العنكبوتي *T. turkestani* حي ونشط من نباتات فريز مصابة به وغير معاملة بأي نوع من المبيدات الحشرية والأكاروسية، في مزرعة أبي جرش (كلية الزراعة، جامعة دمشق) خلال عام 2019، أخذت الأفراد النشطة من هذا المجتمع الأكاروسي وربيت لعدة أجيال متتالية على نباتات فريز بطور الورقة الحقيقية الثانية مزروعة في أصص قطرها (20سم) حاوية على تورب؛ وبمعدل 10 أفراد بالغة (إناث وذكور) لكل نبات للبدء بتشكيل المستعمرات الأكاروسية المطلوبة لإجراء التجارب اللاحقة. وكانت الشروط المخبرية المناسبة لتربية الأكاروس تحت درجة حرارة (23±2 مْ) وفترة ضوئية 16ساعة ضوء/ 8ساعات ظلام ورطوبة نسبية (60-70%)؛ بهدف الحصول على مجتمع أكاروس متجانس (الأحمدي وجمال،1989).

الشكل (7): التربية المخبرية لأكاروس الفريز العنكبوتي *T.turkestani* (البحث الحالي،2022)

2-3 التوصيف المورفولوجي والبيولوجي لأكاروس الفريز العنكبوتي *T. turkestani*

فحصت الأطوار المختلفة للأكاروس باستخدام مكبرة ضوئية (بانيوكلير) من نوع Optecha (10 ×4.5)، ومكبرة من نوع Rubawn1 بقوة تكبير (8X). ثم أخذت الصور المناسبة بمساعدة كاميرا ديجيتال نوع Nikon Cooplix P5100 مركبة على المكبرة الرئيسة.

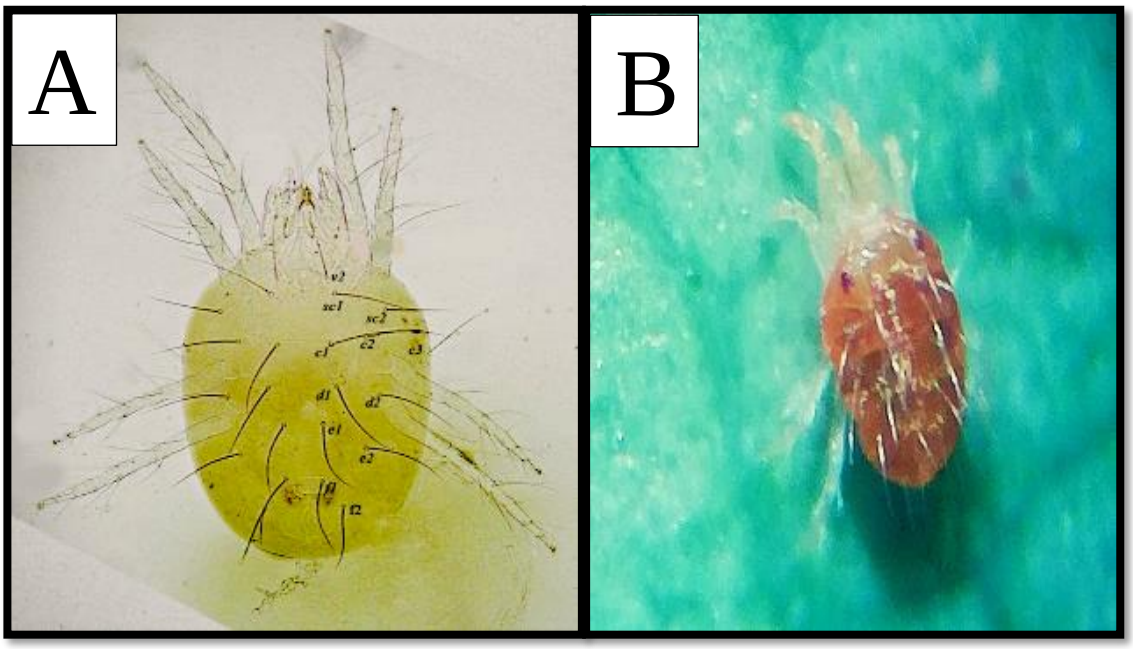
أخذت الأفراد البالغة (20 إناث، 10 ذكور)، وثبتت في قطرة من بيئة هوير Hoyer's medium [بيئة هوير التي تستخدم لحفظ الأكاروسات: 30غ صمغ عربي+ 200غ كلورال هيدرات+ 20مل غليسرين+ 50 مل ماء مقطر]، على شرائح زجاجية، ثم غُطيّت بعد ذلك بساترات زجاجية صغيرة. تم جففت الشرائح في فرن كهربائي لمدة يومين على درجة حرارة 45 سْ كما استخدم محلول حمض اللبن Lactic-Acid لتحضير بعض الشرائح المؤقتة التي تراعي وضعية الذكر بشكل جانبي للحصول على رؤية جانبية أوضح لعضو السفاد الذكري Aedeagus، بينما ثُبّتت الإناث بالوضعية الظهرية -البطنية (Pritchard وBaker، 1955). كما جرى تصنيف هذه الأفراد المعزولة وتوصيفها باستخدام مجهر Stereomicroscope مزود بعدسات تسمح بتكبير (100x-4x) عدسة مدرجة وذلك اعتماداً على الصفات التصنيفية التي ذكرت سابقاً الشكل (4). جميع القياسات الأساسية واحدتها (µm) وحُددت أبعاد الأكاروسات بواسطة عدسة مدرجة، واعتمدت طريقة Lindquist (1985) في تسمية شعيرات الجسم والأرجل الشكل (8).

كما استخدمت نباتات فريز غير مصابة للحصول على الأقراص الورقية المستخدمة لدراسة مؤشرات الحياة (الخصوبةFecundity ، مدة التطور لكل طور Development Stage Rate ، مدة التطور للنوع من طور البيضة وحتى الحيوان البالغDevelopment Rate ، النسبة الجنسيةSex-Ratio ، العمر البيولوجي للأنثى البالغة Longevity) حيث وضعت الأقراص الورقية في أطباق بيتري قطرها 9سم، كوريقة

مفردة من أوراق الفريز المركبة وضعاً مقلوباً (السطح السفلي للأعلى) على ورق ترشيح مرطب بماء مقطر ومعقم.

لدراسة مؤشرات الحياة، نُقلت 5إناث بالغة ملقحة وبمساعدة فرشاة ناعمة إلى كل قرص ورقي، تركت الإناث عدة ساعات للتغذية ووضع البيض، ثم جرى استبعادها من الوريقة والإبقاء على البيوض في كل مكرر وذلك لتحديد مؤشرات الحياة المرتبطة بها. وُضعت مادة صمغية لاصقة على حواف طبقة البولي ايتيلين (ضمن أطباق بيتري) منعاً لحدوث أي تسرب للأكاروسات وأجريت عملية المراقبة باستخدام مكبرة ضوئية (بانيوكلير) من نوع Optecha بتكبيرات (4.5 X10) وبمعدل قراءتين في اليوم.

جرت عملية متابعة دورة الحياة في كل مكرر (بمعدل 3 مكررات تجريبية) من طور البيضة وحتى الحيوان البالغ، وعند الوصول إلى مرحلة الأنثى البالغة قمنا بإعادة نقل هذه الأنثى الأخيرة إلى مكرر جديد لدراسة بعض المؤشرات الحيوية المهمة الأخرى (الحركة والنشاط، القدرة على إفراز النسيج العنكبوتي، عدد مرات التزاوج، معدل الموت الطبيعي).



الشكل رقم (8): الوجه الظهري وتوزع الأشعار لأكاروس الفريز العنكبوتي البالغ

(A : د. قنوع؛ B: البحث الحالي، 2022)

أخذت عينات ترابية من البيوت المحمية المزروعة بنباتات الفريز في بساتين أبي جرش في كلية الزراعة (200 غرام لكل عينة وضعت ضمن أكياس مميزة برقم خاص بها)، وحضر معلقات منها (1 غرام تربة مضاف لها 15 مل ماء مقطر ومعقم) وتم ترشيح المعلق على ورق نشاف للتخلص من التربة، ثم تم إجراء تثفيل للمعلق الناتج (6000 g) ولمدة 15 دقيقة والتخلص من معظم الماء الطافي، أما الراسب والمتبقي من الماء مزج جيداً ثم تم تعريضه لدرجة حرارة 80 سْ لمدة 15دقيقة، تم رش المعلق الناتج على مجتمع أكاروسي نامي على نباتات الفريز، وبعد 72 ساعة أخذت الأفراد الميتة لعزل البكتيريا منها.

كما جمعت عينات من نباتات فاصولياء وفريز مصابة حاوية على أفراد أكاروسية ميتة وحية ووضعت ضمن أكياس معقمة ونقلت للبراد لحين العزل وسجل على كل عينة بيانات الجمع (مكان، تاريخ، إلخ).

وأخذت الأفراد الأكاروسية الميتة وعقمت سطحياً بمحلول هيبوكلوريت الصوديوم 3% لمدة 3 دقائق، ثم غسلت بالماء المقطر والمعقم مرتين متتاليتين، ثم طحنت بماء مقطر ومعقم، وتركت لمدة 30 دقيقة حتى تتحرر البكتيريا والأبواغ من الأنسجة.

تم تعريض المعلق البكتيري الناتج لدرجة حرارة 80 سْ لمدة 15دقيقة للحصول على البكتيريا من جنس*Bacillus* دون غيرها، وأخذت قطرة من المعلق البكتيري ونشرت على وسط مغذي من بيئة الآجار (ببتون Peptone10 غرام ، مستخلص خميرة Yeast extract 5 غرام ، أو مستخلص لحم Beef extract 5 غرام، كلوريد الصوديوم NaCl 10 غرام، آجار Agar 20 غرام، في 1 لتر من المار المقطر والمعقم) والمضاف لها الأكتيدبون بمعدل 100 مغ/لتر وحضنت البكتيريا على درجة حرارة 30– 28 مْ لمدة 72 ساعة لحين ظهور المستعمرات البكتيرية، ثم اختيرت مستعمرة واحدة ممثلة للطبق ونقلت إلى أوساط غذائية جديدة (أطباق، أنابيب) بهدف التنقية وحفظها لحين إجراء اختبارات التعريف، وأعطي لكل عزلة رقماً يميزها .

الشكل (9): تحضير العزلات البكتيرية الممرضة للأكاروس (البحث الحالي، 2022)

2-5 تعريف البكتيريا:

2-5-1 الاختبارات المورفولوجية والبيو كيمائية:

كما أخذت قراءات لصفات المستعمرات (شكل، أبعاد، لون)، وأجري اختبار غرام باستخدام KOH 3% RYU؛ واختبار الكاتالاز واختبار تشكل الأبواغ (Goszczynska وزملاؤه،2000).

2-5-2 اختبار القدرة الإمراضية للبكتيريا: (إحداث عدوى صناعية وتطبيق فرضيات كوخ)

وضعت وريقات من نباتات الفريز في طبق بتري يحوي ورقة ترشيح مبللة بالماء (الشكل 7)، ثم رشت هذه الوريقات بمعلق بكتيري من العزلات البكتيرية بعمر (48 ساعة) وبعد جفاف قطرات الماء تم نقل 10 أفراد أكاروسية حية بالغة إلى الوريقات بواسطة فرشاة ناعمة بمعدل 3 مكررات لكل عزلة بكتيرية، أخذت القراءات وقدرت الفعالية بعد 24؛ 48؛ 72 ساعة من نقل الأكاروسات إلى الوريقات، وعدّ الفرد ميتاً إذا لم يستطع الحركة عند تحريكه بوساطة فرشاة ناعمة أو عند تغير مواصفاته المورفولوجية الظاهرية.

2-6 تقييم كفاءة العزلات البكتيرية في قتل الأكاروس

لتحديد كفاءة العزلات التي سببت موت الأفراد حضرت عدة تراكيز من هذه العزلات البكتيرية بعمر 48 ساعة (10^5،10^6،10^7،10^8 CFU/مل) وطبقت على الأطوار المختلفة من الأكاروس (بيوض، حوريات، أفراد بالغة)، وأجري الاختبار كما ذكر في اختبار القدرة الإمراضية حيث وضعت على الوريقات إما 10 بيوض أو 10 حوريات أو 10 أفراد بالغة لكل عزلة بكتيرية ولكل تركيز وبمعدل 3 مكررات، كما أجري تعداد بكتيري للتراكيز المطبقة للتأكد من كثافة البكتيريا الحية في المعلق المطبق

أخذت القراءات بعد 24؛ 48؛ 72ساعة وعدت الأفراد ميتة عند توقفها عن الحركة أو عند تغير صفاتها المورفولوجية الظاهرية.

2-7 التحليل الإحصائي:

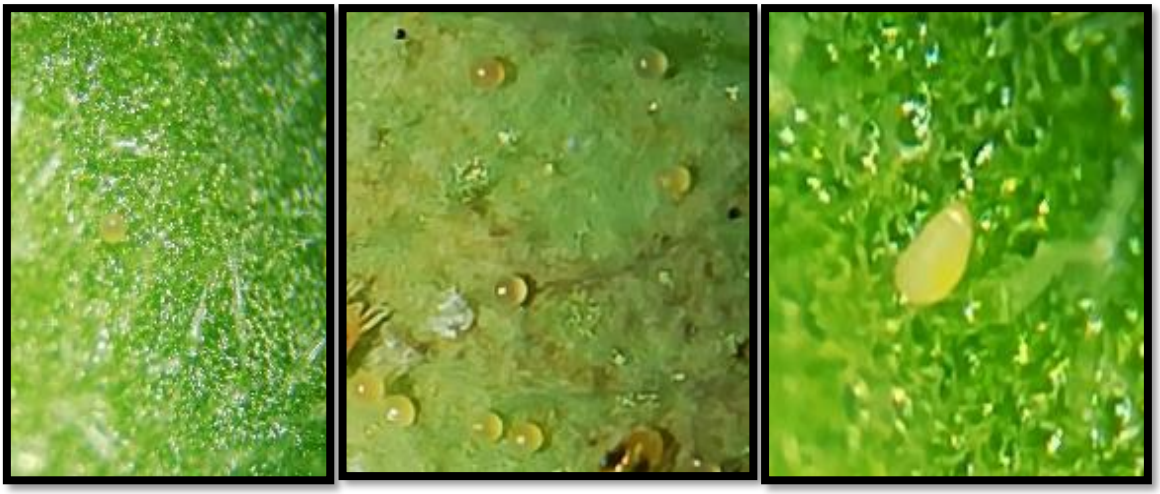
أجري التحليل الإحصائي لحساب المتوسط والانحراف المعياري لثلاث مكررات تجريبية باستخدام برنامج Excel

الفصل الثالث: النتائج والمناقشة

3-1 الصفات الشكلية لأكاروس الفريز العنكبوتي *T. turkestani* المدروس في هذا البحث:

❖ البيضة Egg:

كانت **البيوض** كروية الشكل متوسط قطرها 130-140 ميكرون، شفافة إلى خمرية اللون (حسب درجة نضج جنين الأكاروس بداخلها) الشكل (10) تضع الأنثى الواحدة خلال دورة حياتها كاملة حوالي 140 بيضة، تفقس البيوض الملقحة التي ستعطي إناثاً بعد حوالي 4 أيام بينما البيوض غير الملقحة التي ستعطي ذكوراً بعد حوالي 5 أيام.



الشكل رقم (10): الأشكال المختلفة للبيوض وتفاوت درجة النضج لجنين أكاروس الفريز العنكبوتي (البحث الحالي، 2022)

❖ اليرقة سداسية الأرجل Hexapode larva:

تفقس البيضة لتعطي يرقة كروية من خلال شق عامودي، تملك اليرقة ثلاث أزواج من الأرجل، تكون شفافة وذات عيون حمراء عندما تخرج من البيضة الشكل (11-A)، يبلغ متوسط طول اليرقة 230 ميكرون وعرضها 160 ميكرون، وعندما تبدأ بالتغذية على النسيج النباتي تتحول إلى اللون الأخضر المصفر أو الأخضر الغامق، وتبدأ في هذه المرحلة ظهور البقع الداكنة المميزة لهذا النوع على الظهر، وعندما تتغذى

تغذية كافية تبقى ثابتة على الورقة لتتحول إلى طور الحورية الأولى، يستمر عمر اليرقة بين 1–1.5 يوم لكل من الإناث والذكور على التوالي.

❖ **طور الحورية الأول Protonymph:**

يكون حجمها أكبر من حجم اليرقة، ولها أربع أزواج من الأرجل (octapode) ، ذات لون أخضـــر شـــاحب في بداية خروجها من الانســـلاخ ثم يبدأ اللون بالتغير إلى البني المحمر الشـكل(11–B) ،ويكون لون الحورية الأولى أغمق من لون اليرقة، وتكون البقع على الجسـم بلون أغمق مقارنة مع اليرقة وذلك بفعل التغذية على كمية أكبر من العصـارة النباتية السـارية. ويكون الشكل العام لجسم الحورية الأولى بيضوياً. كما يبلغ متوسط طول الحورية الأولى280 ميكرون وعرضـها180 ميكرون، ويسـتمر طور الحورية الأولى بين 1–2 يوم لكل من الإناث والذكور على التوالي.

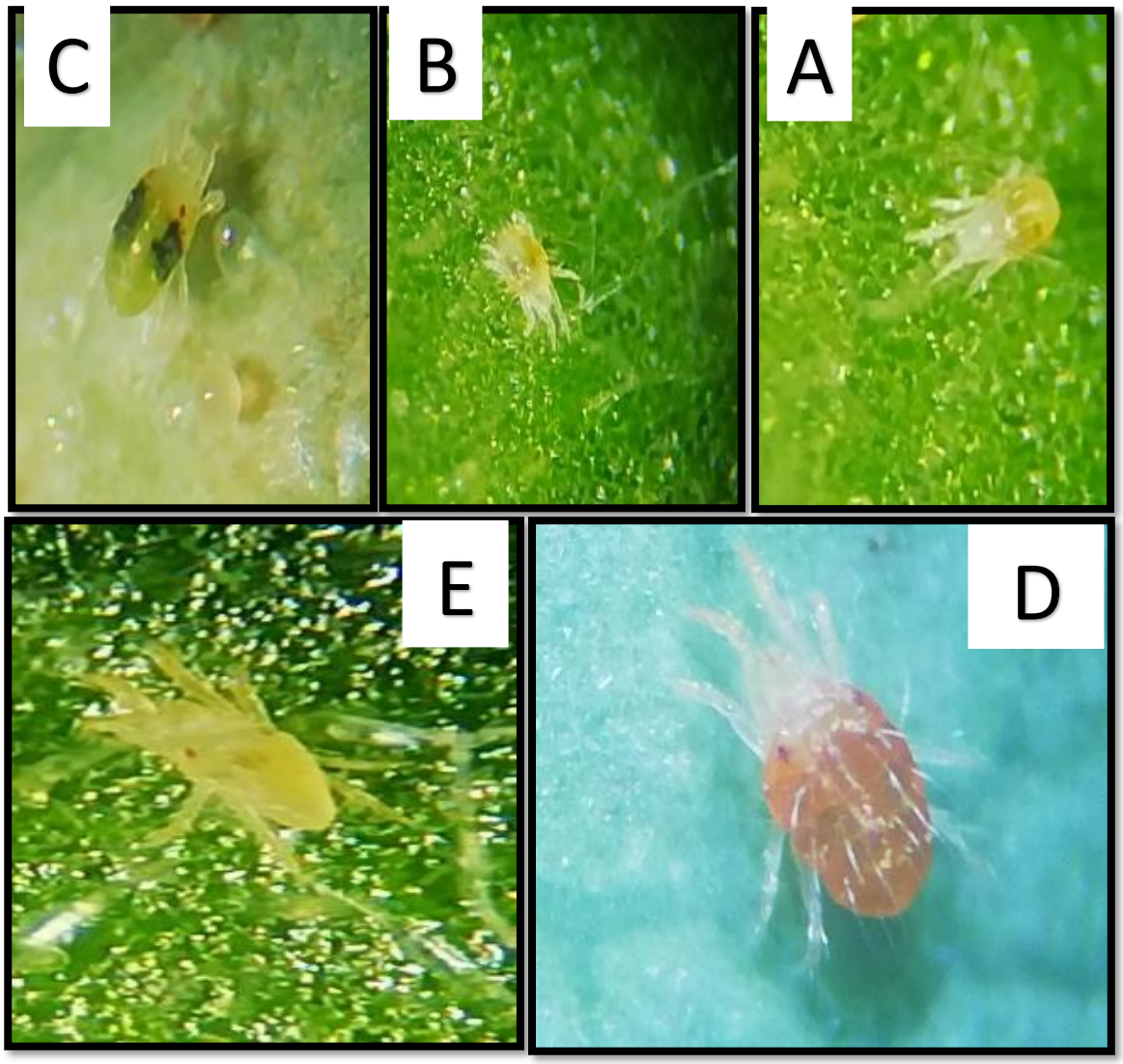
❖ **طور الحورية الثاني Deutonymph :**

الحورية الثانية المنبثقة حديثاً تكون ذات لون أحمر الشكل(11–C)، وتكون أكبر قليلاً في الحجم من الحورية الأولى وأكثر حركة ونشاطاً. يبلغ متوسط طول الحورية الثانية 380 ميكرون وعرضها290 ميكرون، يستمر هذا الطور بين 1,5–2,5 يوم لكل من الإناث والذكور على التوالي.

❖ **البالغات Adults:**

تمتلك أربع بقع داكنة مميزة على الجانب الظهري من الجسم، تتميز الأنثى باللون الأحمر الزاهي عند انبثاقها، ولها شكل بيضوي، وتمتلك مجموعة أشعار طويلة (14 شعرة) على الجانب الظهري الشكل (11–D)، ويختلف لون الأنثى البالغة حسب نوع الغذاء، يصل متوسط طول الأنثى إلى 560 ميكرون والعرض 320 ميكرون. يتميز الذكر بأنه أصغر حجماً بوضوح من الأنثى الشكل(11–E)، والجسم أضيق، له نهاية جسم مدببة واضحة، عضو السفاد يكون موازياً أو يشكل زاوية صغيرة مع الرمح (الفتحة shaft) يبلغ متوسط طول جسم الذكر 380 ميكروناً والعرض 180 ميكروناً.

تتكرر دورة حياة هذا الأكاروس من طور البيضة حتى الوصول للحيوان البالغ بشكل تقريبي كل 12 يوماً تقريباً وبظروف تجربة هذا البحث.



الشكل رقم (11): الأطوار المختلفة لأكاروس الفريز العنكبوتي (البحث الحالي، 2022)

A: يرقة سداسية الأرجل B: حورية أولى C: حورية ثانية D: أنثى E: ذكر

3-2 عزل وتوصيف البكتيريا الممرضة لأكاروس الفريز العنكبوتي *T. turkestani*:

تم عزل 9 عزلات بكتيرية من العينات التي جمعت إضافة إلى عزلتين تجاريتين من نوع BT (مبيد تجاري يستخدم بمكافحة الحشرات)، أظهرت الاختبارات الكيميائية الحيوية والمورفولوجية الجدول (4)، أنها تنتمي إلى الجنس Bacillus، جميع العزلات سببت موت للأفراد البالغة بدرجات متفاوتة.

الجدول رقم (4): خصائص البكتيريا المعزولة (البحث الحالي، 2022)

اسم العزلة	مكان جمع العزلة	شكل المستعمرات ولونها	اختبار غرام	اختبار كاتالاز	القدرة الإمراضية الضراوة على الأفراد البالغة	التبوغ بعد 72ساعة	نوع البكتيريا
SWº	أفراد أكاروسات على نبات فريز مصاب	دائرية ملساء لون كريمي أو شفاف	+	+	+	+	***Bacillus***
A	أكاروسات حية	دائرية ملساء لون كريمي أو شفاف	+	+	+	+	***Bacillus***
AD	جثث أكاروسات ميتة	دائرية ملساء لون كريمي أو شفاف	+	+	+	+	***Bacillus***
BT	مبيد حيوي تجاري مادته الفعالة بكتيريا من نوع *Bacillus thurenginsis*	دائرية ذات حواف خشنة لون أبيض كريمي	+	+	+	+	***Bacillus***
BTM	مبيد حيوي تجاري مادته الفعالة بكتيريا من نوع *Bacillus thurenginsis* نمي على وسط مغذي	دائرية ذات حواف خشنة لون أبيض كريمي	+	+	+	+	***Bacillus***
Cº	جثث أكاروسات ميتة على نباتات مختلفة	دائرية ملساء لون كريمي أو شفاف	+	+	++	+	***Bacillus***

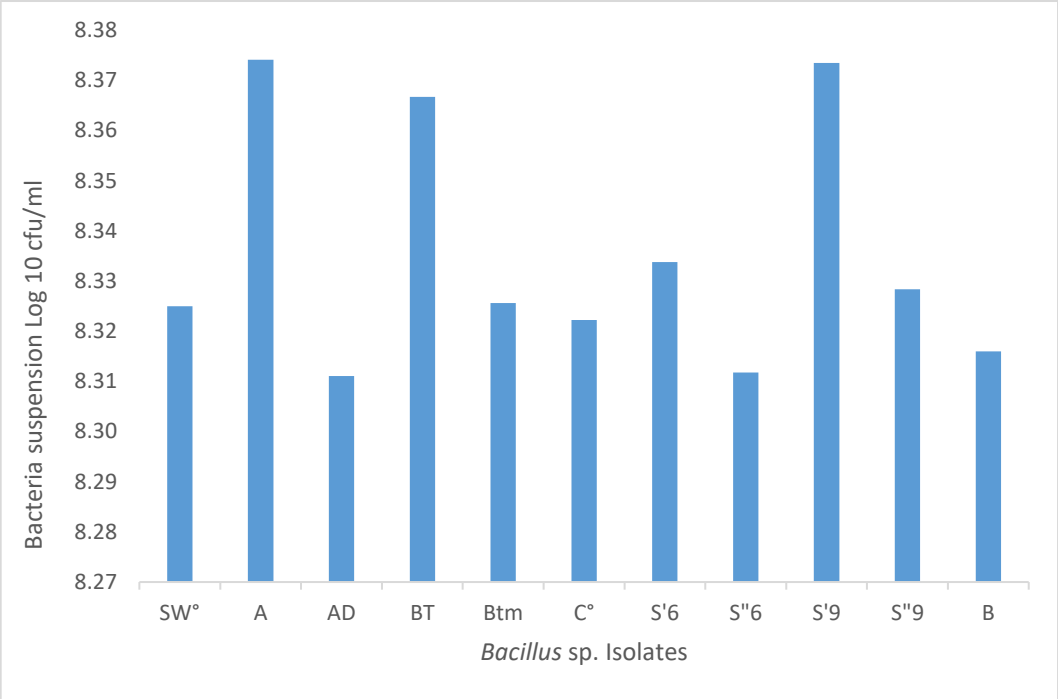
S'6	جثث أكاروسات ميتة على نبات فريز مصاب	دائرية ملساء لون كريمي أو شفاف	+	+	++++	+	***Bacillus***
S"6	أفراد أكاروسات حية على نبات فريز مصاب	دائرية ملساء لون كريمي أو شفاف	+	+	+++	+	***Bacillus***
S'9	جثث أكاروسات ميتة على نبات فريز مصاب	دائرية ملساء لون كريمي أو شفاف	+	+	++++	+	***Bacillus***
S"9	أفراد أكاروسات حية على نبات فريز مصاب	دائرية ملساء لون كريمي أو شفاف	+	+	+++	+	***Bacillus***
B	بكتيريا من نوع *Bacillus*تم الحصول عليها من معلق تربة	دائرية ملساء لون كريمي أو شفاف	+	+	+	+	***Bacillus***

+ الاختبار موجب وتسبب موت (10–20%) ؛ ++++ نسبة الموت أعلى من 60%

بكتيريا *Bacillus* كائنات حية دقيقة وحيدة الخلية عصوية الشكل تستوطن التربة موجبة الغرام وموجبة الكاتالاز وسالبة الأوكسيداز **الشكل** (٨)، (Thiery و Frachon،1997)، متبوغة قادرة على تكوين الأبواغ الداخلية المقاومة لدرجات الحرارة المرتفعة (Kunst وزملاؤه، 1994)، هوائية أو لاهوائية اختيارياً الجينوم DNA حلقي. تشكل هذه البكتيريا على وسط مغذي مستعمرات دائرية بيضاء لامعة ذات حواف ملساء أو خشنة تبعاً للنوع، درجة الحرارة المثالية لنموها 27±2 س° (Goldman، 2008).

النتائج المعروضة في الجدول (4) تطابقت مع الخصائص المرجعية للجنس***Bacillus*** باستثناء اختبار الأوكسيداز والتنفس الذي لم نتمكن من إجراءه لعدم توفر المواد الكيميائية المخصصة له.

تميزت المستعمرات البكتيرية للعزلات المتحصل عليها بأنها دائرية الشكل ذات لون كريمي أو شفاف وحواف ملساء موجبة الغرام وموجبة الكاتالاز ومتبوغة حيث تشكلت الأبواغ بعد 72 ساعة من نموها على وسط الزرع.



الشكل رقم (12): تراكيز المعلقات البكتيرية لعزلات ***Bacillus*** المطبقة خلال العدوى الاصطناعية (البحث الحالي، 2022)

وعند إجراء العدوى الاصطناعية على الأطوار البالغة حُضرت معلقات بكتيرية من العزلات المذكورة سابقاً، وتم التأكد من البكتيريا الحية وتركيزها في هذه المعلقات بطريقة العد على وسط الزرع، وأظهرت نتائج التعداد أن تراكيز المعلقات البكتيرية المطبقة تراوحت بين 1.8×10^8 و 2.4×10^8 cfu/ مل الشكل (12).

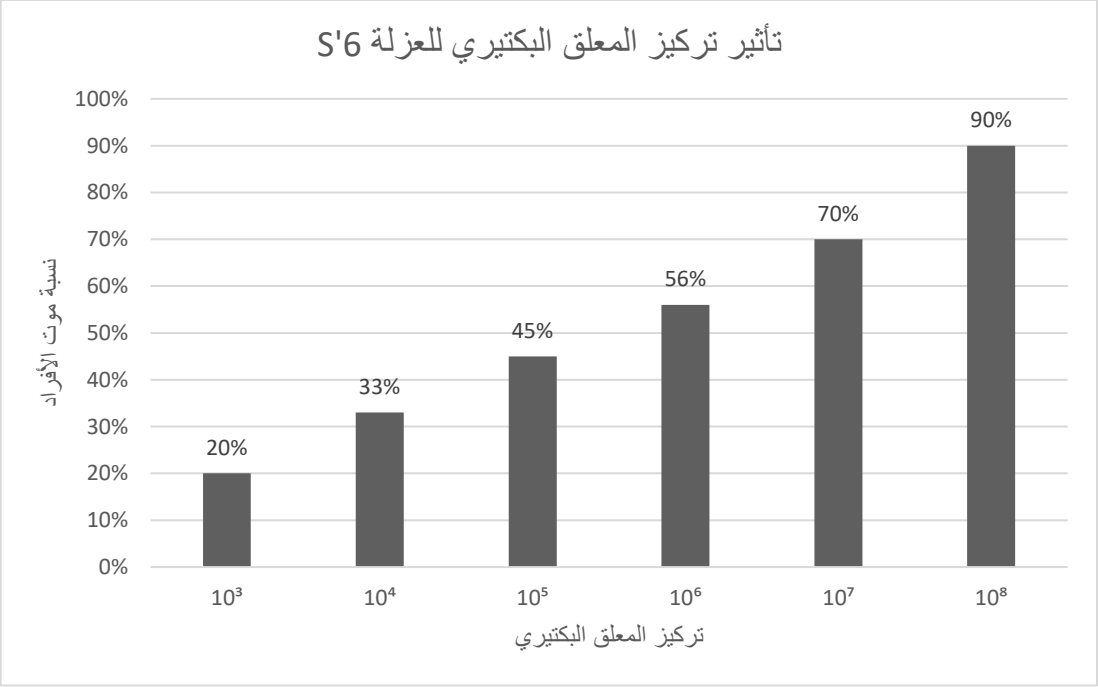
تفاوتت قدرة العزلات البكتيرية على قتل الأكاروسات المعداة فيما بينها كما هو موضح بالجدول (4) (+ نسبة القتل منخفضة بين 10–20%، ++++ كامل الأفراد المعاملة ميتة ونسبة الموت أكثر من 60%).

3-3 تقييم كفاءة العزلات البكتيرية:

أُجري اختبار كفاءة العزلات البكتيرية على كافة الأطوار كما هو مذكور في مواد وطرائق العمل وباستخدام معلقات بكتيرية بتركيز 2 x10^8cfu/ مل.

3-3-1 تأثير تركيز البكتيريا على الطور البالغ لأكاروس الفريز العنكبوتي *T.turkestani* :

تم اختيار العزلة S'6 لأنها الأكثر شراسة وفق الجدول (4)، وحضرت منها معلقات بكتيرية بتراكيز (10^3، 10^4، 10^5، 10^6، 10^7، 10^8 cfu/مل) كما في الشكل (13)، وطبقت على الأطوار البالغة لتحديد التركيز الأمثل في قتل الأكاروس، وليصار إلى تقييم كفاءة جميع العزلات البكتيرية المتبقية وفقاً لهذا التركيز.



الشكل (13): تأثير تراكيز مختلفة من العزلة S'6 على الطور البالغ لأكاروس الفريز العنكبوتي (البحث الحالي، 2022)

وجد بأن تركيز المعلق البكتيري 10^8 Cfu/ مل سبب نسبة موت أعظمية للأفراد بلغت 90% بينما سبب التركيز 10^7 Cfu/ مل نسبة موت للأفراد بلغت 70% أما باقي التراكيز كانت ضعيفة التأثير ولم

تتجاوز نسبة الموت فيها 50%، تؤكد النتائج التي حصلنا عليها بأن التركيز الأعلى من البكتيريا على سطح النسيج النباتي يؤمن احتمالية أكبر لاكتسابها من قبل الأكاروس خلال حركته أو تغذيته مقارنةً بالتركيز الأدنى؛ ونتيجة لذلك تم استخدام التركيز 10^8 Cfu/ مل لتقييم كفاءته على الأطوار المختلفة للأكاروس.

3-3-2 تقييم كفاءة تأثير العزلات البكتيرية على حيوية بيوض أكاروس الفريز العنكبوتي:

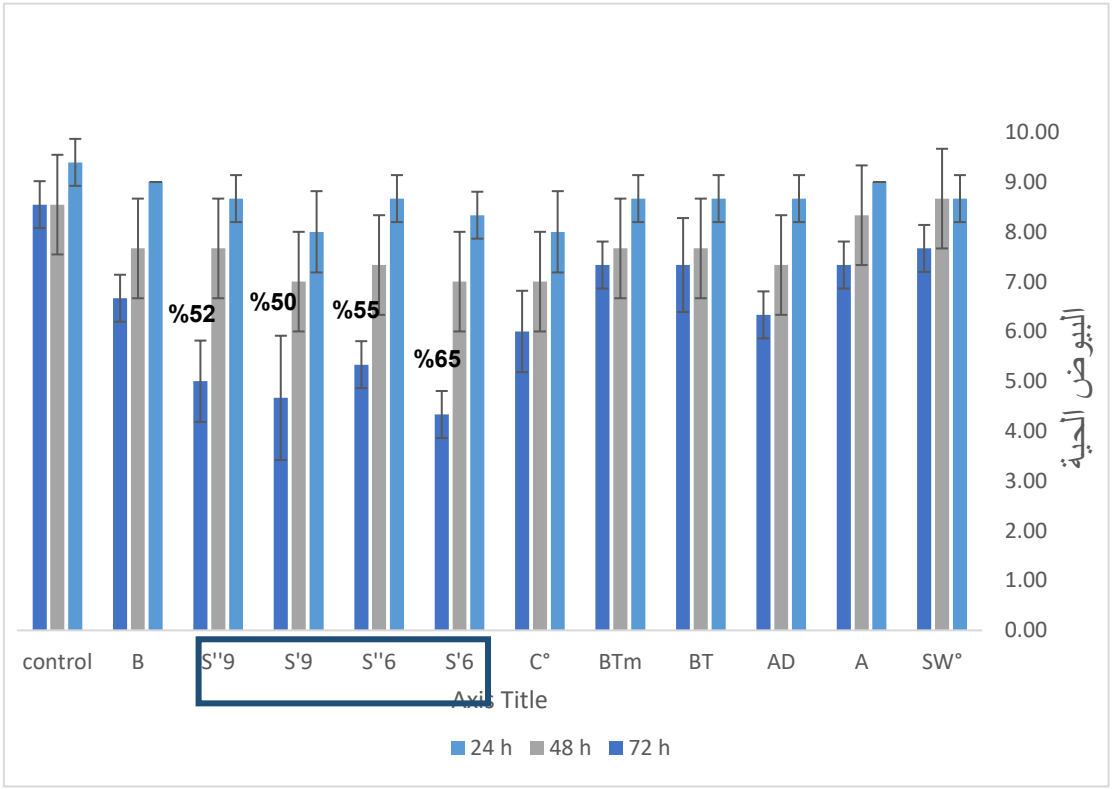
أظهرت النتائج بأن عزلات *Bacillus* المتحصل عليها أثرت على البيوض المعاملة محدثةً تغيرات لونية وتحلل في البيوض وغيرت بعض الخصائص المورفولوجية كما يظهر في الشكل (14) وبدأت تظهر الفروق المعنوية بين العزلات المختبرة مقارنة بالعزلتين التجاريتن (BTM وBT) والشاهد بعد 72 ساعة من المعاملة، وكانت التأثير ضعيفاً خلال 24 ساعة و48 ساعة من التطبيق.

الشكل (14): تأثر البيوض المعاملة بالمعلق البكتيري للعزلة (S'6) (البحث الحالي، 2022)
يشير اللون الأسود إلى إصابات فطرية رمية بعد موت البيوض

يبين الشكل (15) أن جميع عزلات البكتيريا *Bacillus* لم تؤثر على البيوض خلال 24 ساعة الأولى من العدوى الاصطناعية مقارنة مع الشاهد، وبدأ يظهر التأثير جلياً بعد 48 ساعة وعند 72 ساعة من العدوى الاصطناعية.

كانت أكثر العزلات شراسة (S'6؛ S"6؛ S'9؛ S"9) حيث بلغت نسبة الموت (65%، 55%، 50%، 52%) على التوالي في كل معاملة دون وجود فروق معنوية بينهم مقارنة مع العزلتين التجاريتين (BT، BTm) بنسبة موت بلغت (20%، 20%) على التوالي والشاهد غير المعامل (10%) بعد مرور 72 ساعة من العدوى الاصطناعية، وهذا يتفق مع نتائج Ciancioو Mukerji (2010)؛ التي تؤكد إحداث البكتيريا من جنس *Bacillus* تشوهات غير طبيعية في بعض البيوض وقلة خصوبتها، وانخفاض حيويتها ؛ أي أن البكتيريا أثرت في الخصائص المورفولوجية والبيولوجية لهذا الطور من الأكاروس.

كما لوحظ نمو الفطور الرمية السوداء حول البيوض المصابة وقد يعزى ذلك إلى احتمالية تأثر البيوض بسموم خارجية تفرزها البكتيريا في أثناء نموها الخضري أدت إلى خروج العصارة الخلوية للبيوض للخارج وتهتك جدر الخلايا مما شجع الإصابة الفطرية كما ذكر (Torros وآخرون، 2018).



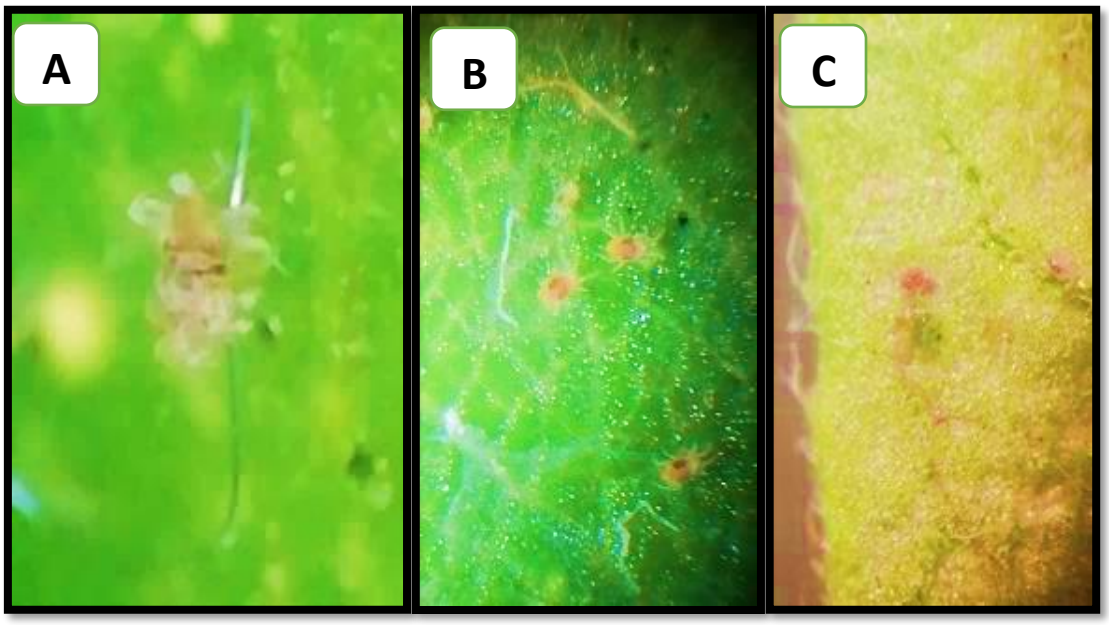
الشكل (15): تأثير عزلات*Bacillus* على حيوية بيوض أكاروس الفريز العنكبوتي

(10 بيوض في كل معاملة) النتيجة هي متوسط ± الانحراف المعياري لثلاث مكررات تجريبية

3-3-3 تقييم كفاءة تأثير العزلات البكتيرية على حوريات أكاروس الفريز العنكبوتي:

أظهرت النتائج بأن عزلات *Bacillus* المتحصل عليها (S'6؛ S''6؛ S'9؛ S''9) أثرت على الأعمار المختلفة للطور الأول والثاني من الحوريات، وأدت إلى توقف الحوريات عن الحركة والتغذية وانقباض الأزواج الأربع من الأرجل باتجاه الجسم وتوقفها عن الانسلاخ وبالتالي لم تنتقل للطور التالي الشكل (16)، وذلك بعد 72 ساعة من المعاملة بالعدوى الاصطناعية بدأت تظهر الفروق المعنوية بين العزلات مقارنة بالعزلتين التجاريتن (BTm وBT) والشاهد، وكان التأثير ضعيفاً واقتصر على قلة نشاط وحركة الحوريات بعد مرور 24 و48 ساعة من العدوى الاصطناعية.

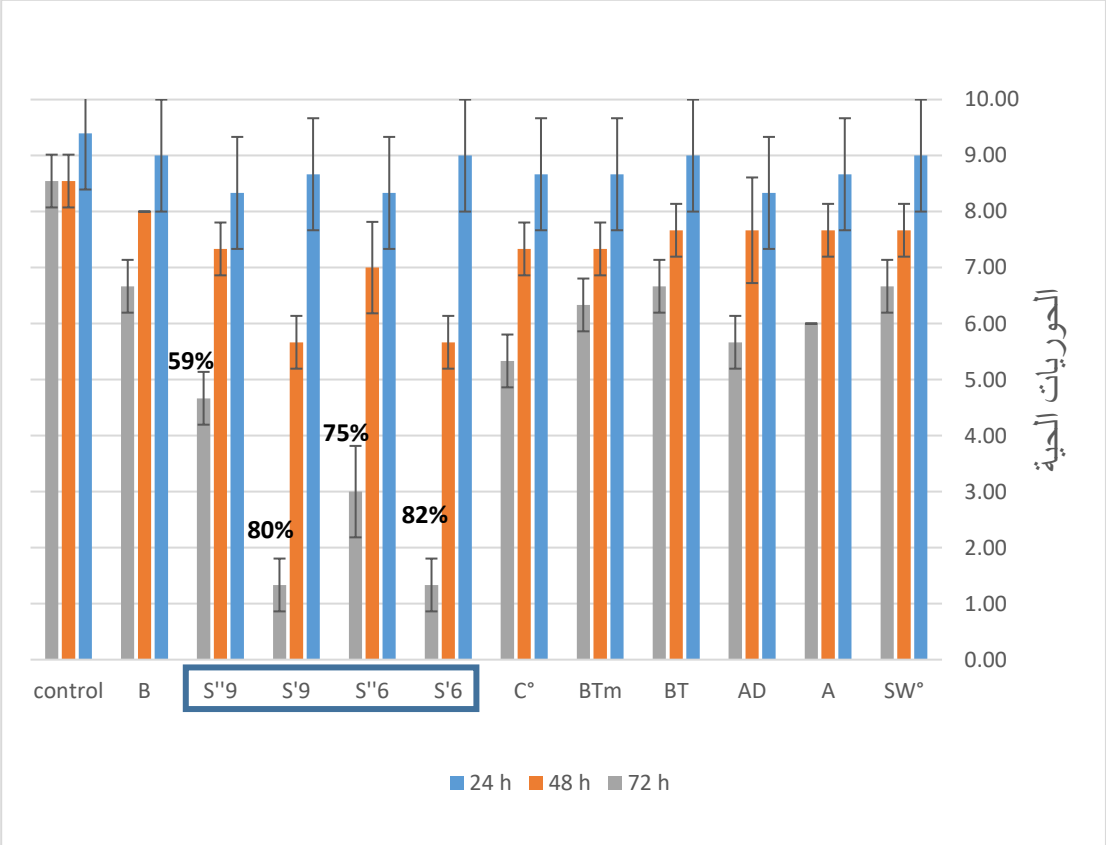
يبين الشكل (17) أن جميع عزلات البكتيريا *Bacillus* لم تؤثر على الحوريات خلال 24 ساعة الأولى من العدوى الاصطناعية مقارنة مع الشاهد، وبدأ يظهر التأثير جلياً بعد 48 ساعة وعند 72 ساعة من العدوى الاصطناعية.



الشكل (16): تأثير العزلة البكتيرية (S'6) على حوريات أكاروس الفريز العنكبوتي

(A: انقباض الأرجل باتجاه الجسم، B: توقف الحوريات عن الحركة، C: توقف الحوريات عن الانسلاخ (البحث الحالي، 2022)

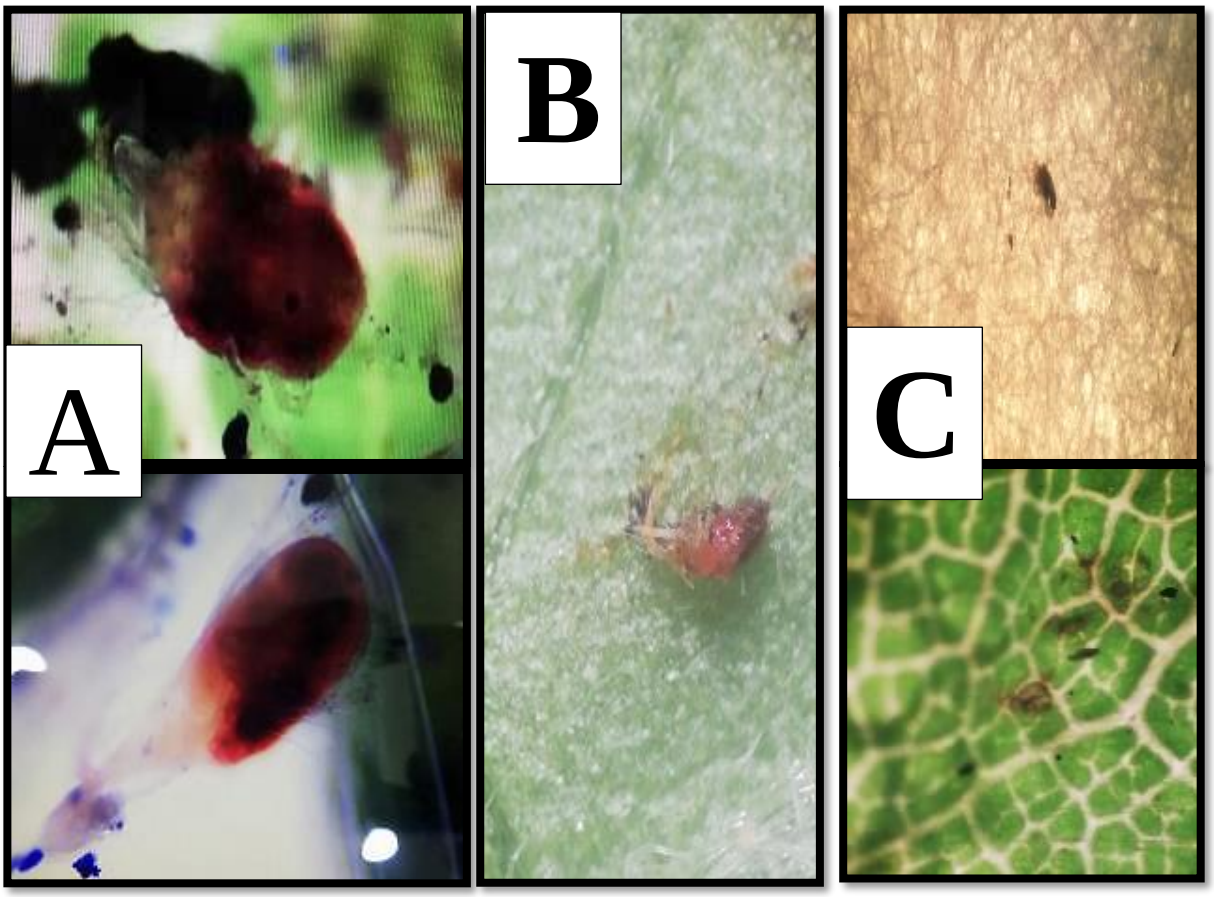
وكانت أكثر العزلات شراسة (S'6؛ S''6؛ S'9؛ S''9) وبلغت نسبة الموت (82%، 75%،80% ،59%)على التوالي في كل معاملة دون وجود فروق معنوية بينهم مقارنة مع الشاهد (BT، BTm) بنسبة موت بلغت(30%، 35%) والشاهد غير المعامل (10%) بعد مرور 72 ساعة من العدوى الاصطناعية، وهذا يتفق مع (Torres، 2018) الذي يؤكد التأثير السام للبكتيريا من جنس *Bacillus* على الأطوار المختلفة لأكاروس الدجاج *Dermanyssus gallinae* بما فيها الحوريات؛ وكانت الأعراض الناتجة تمزق في خلايا البشرة وفقدان الحركة والتوقف عن التغذية وتراوحت نسبة الموت من 60–90% بتراكيز مختلفة من المعلق البكتيري المستخدم في المعاملة.



الشكل (17): تأثير عزلات*Bacillus* على حوريات أكاروس الفريز العنكبوتي (10 حوريات في كل معاملة). النتيجة هي متوسط ± الانحراف المعياري لثلاث مكررات تجريبية (البحث الحالي، 2022)

3-3-4 تقييم كفاءة تأثير العزلات البكتيرية على الأفراد البالغة لأكاروس الفريز العنكبوتي:

أظهرت النتائج بأن عزلات *Bacillus* المتحصل عليها (S'6؛ S"6؛ S'9؛ S"9) أثرت على الأفراد البالغة بشكل كبير وملحوظ وأدت إلى توقفها عن الحركة وانقباض الأزواج الأربع من الأرجل باتجاه الجسم وارتفاع في معدل الوفيات من أفراد التجربة الشكل (18)، وذلك بعد 72 ساعة من العدوى الاصطناعية، فبدأت تظهر الفروق المعنوية بين العزلات مقارنة بالعزلتين التجاريتن (BTm و BT) والشاهد ، وكان التأثير بعد مرور 24 و48 ساعة من العدوى الاصطناعية ضعيفاً، ولوحظ تراجع لنشاط وحركة هذه الأفراد، وتوقفها عن التغذية وتوقف الأنثى عن وضع البيض.

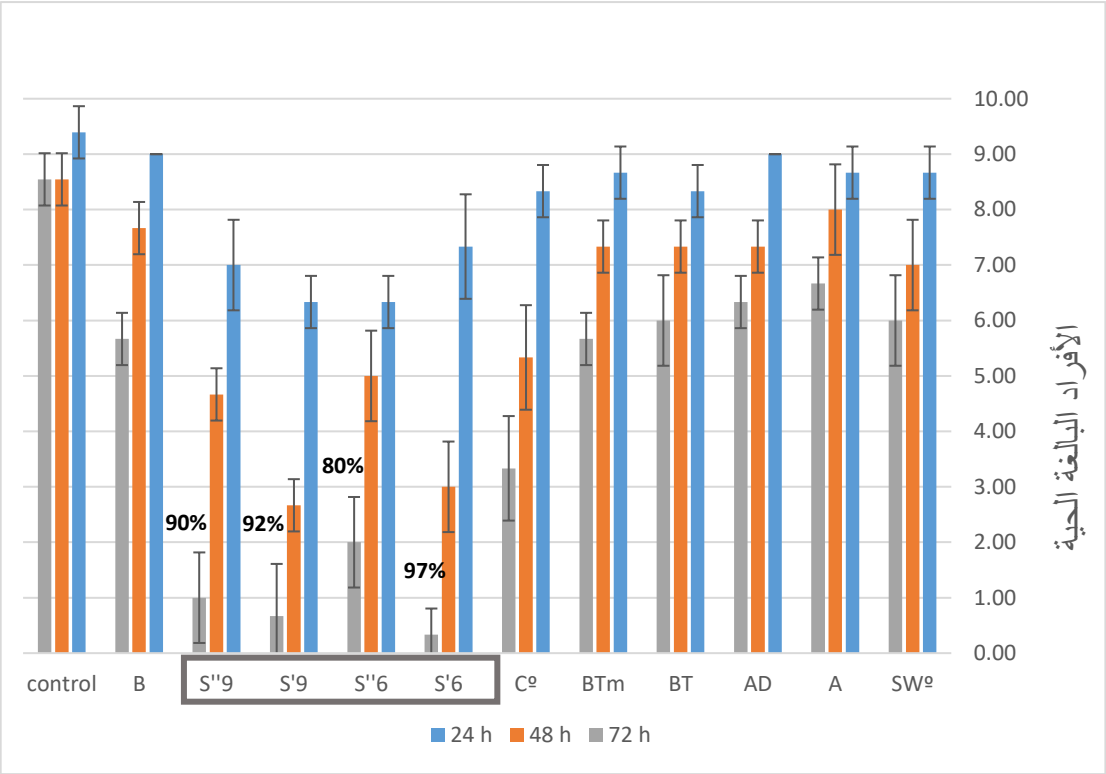


الشكل (18): تأثير العزلة البكتيرية (S'6) على الأفراد البالغة لأكاروس الفريز العنكبوتي

(A: انقباض الأرجل باتجاه الجسم، B: جثث الأفراد الميتة، C: الإصابة الفطرية على جثث الأفراد) (البحث الحالي، 2022)

يبين الشكل (19) أن جميع عزلات البكتيريا *Bacillus* لم تؤثر على الأفراد البالغة خلال 24 ساعة الأولى من العدوى الاصطناعية مقارنة مع الشاهد، وبدأ يظهر التأثير جلياً بعد 48 ساعة وعند 72 ساعة من العدوى الاصطناعية.

وكانت أكثر العزلات شراسة (S'6؛ S"6؛ S'9؛ S"9) وبلغت نسبة الموت (97%، 80%، 92%، 90%) على التوالي في كل معاملة دون وجود فروق معنوية بينهم مقارنة مع العزلتين التجاريتين (BT، BTm) بنسبة موت بلغت (40%، 47%) على التوالي والشاهد غير المعامل (12%) بعد مرور 72 ساعة من العدوى الاصطناعية، وهذا يتفق مع (Ahmed وزملاؤه، 2015) حيث أكد بأن استخدام تراكيز مختلفة من البكتيريا BT ضد أكاروس *T.putrescentiae* أدى إلى نسبة وفيات في الأفراد البالغة بلغت 90% ، ويتفق أيضاً مع (Al-Azzazy وآخرون،2020) بأن أنواع بكتيريا مختبرة من جنس *Bacillus* أدت إلى انخفاض مماثل في تطور الأفراد في مجتمع متجانس لأكاروس *T.urticae* ، حيث تناقص عدد الأفراد بعد سبعة أيام من المعاملة إلى 73٪ من عدد الأفراد الكلي المعامل، وتم الحصول على نتائج مماثلة من قبل (Alsohim وآخرون،2014) الذين ذكروا بأن التطبيق المباشر لأبواغ البكتيريا *Bacillus thuringiensis* على أكاروس غبار النخيل *Oligonychus afrasiaticus* تسبب في موت الأفراد البالغة بنسبة 93.8 ٪، وتختلف هذه النتائج عما ذكره عند تطبيق الفطريات الممرضة للأكاروسات حيث لم تستطيع هذه الفطريات التسبب في موت أكثر من 50% من أكاروسات التجربة ولم تبدي الفعالية والسرعة في القتل كالبكتيريا.



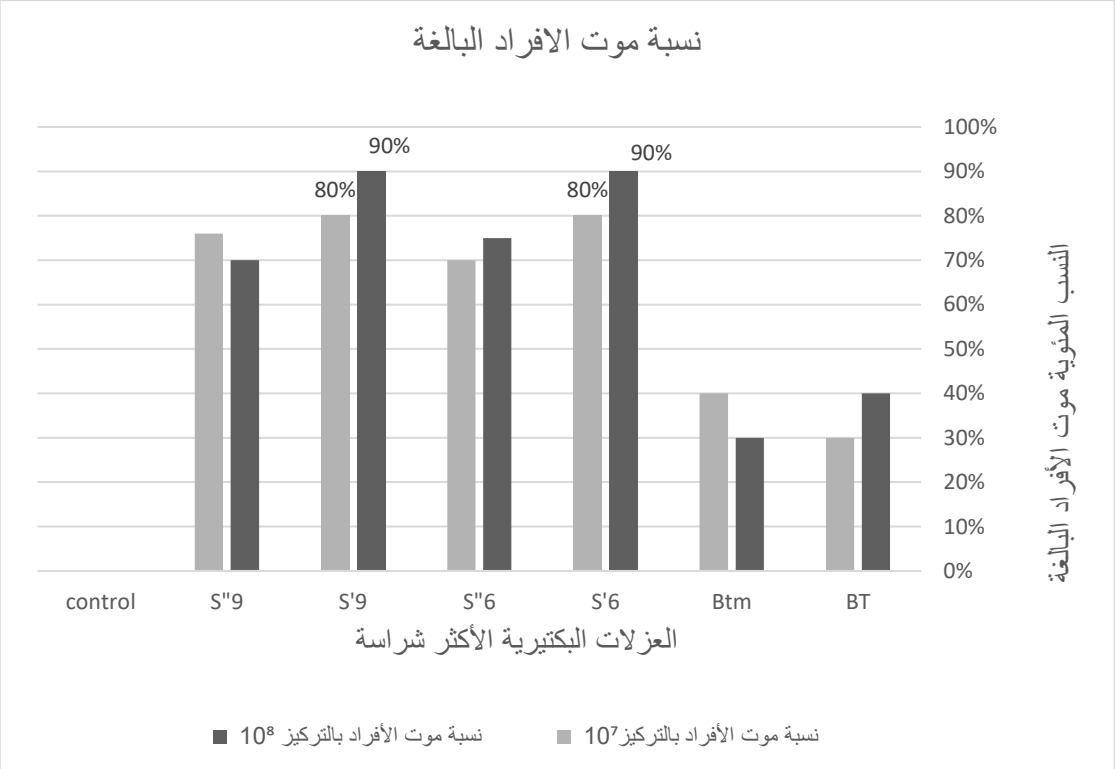
الشكل (19): تأثير عزلات *Bacillus* على الأفراد البالغة لأكاروس الفريز العنكبوتي (10 أفراد في كل معاملة). النتيجة هي متوسط ± الانحراف المعياري لثلاث مكررات تجريبية (البحث الحالي، 2022)

3-4 تأثير تراكيز مختلفة من عزلات *Bacillus* الأكثر شراسة على الأفراد البالغة لأكاروس الفريز العنكبوتي:

أظهرت النتائج السابقة لتقييم كفاءة العزلات البكتيرية على أكاروس الفريز العنكبوتي بالقدرة الإمراضية العالية جداً للعزلتين (S'6؛ S'9) المسببتان لنسبة قتل حوالي 90% من أفراد التجربة وعزلتين أقل شراسة (S''6؛ S''9) المسببتان لنسبة موت 70% من أفراد التجربة مقارنة بالعزلتين التجاريتين (BT، BTm) والتي سببت نسبة موت (30%، 40%) على التوالي والشاهد غير المعامل (0%) في كل معاملة وذلك عند 72 ساعة من إجراء العدوى الاصطناعية.

لذلك أجري تقييم كفاءة تركيزين (10^7، 10^8 cfu/مل) من هذه العزلات في التأثير على أكاروس الفريز العنكبوتي ومقارنتها مع تركيزين من البكتيريا التجارية (BT، BTm) والشاهد غير المعامل.

طبقت التراكيز على الأفراد البالغة وأخذت نسبة الموت بعد 72 ساعة من المعاملة الشكل(20)، تبين النتائج أن تركيز 10^8cfu /مل سبب نسبة موت أعلى لأفراد أكاروس الفريز العنكبوتي من 10^7cfu /مل، كما تفوقت العزلات S'6؛ S"6؛ S'9؛ S"9 (90%، 75%، 90%، 70%) على التوالي بالمقارنة مع عزلات الشاهد التجارية BT، BTm (40%، 30%) على التوالي والشاهد غير المعامل (0%)، من حيث كفاءتها في التأثير على الأطوار البالغة لأكاروس الفريز العنكبوتي وهذا توافق مع النتائج المعروضة في الشكل (19) بالنسبة للتركيزين، كما تتفق هذه النتائج مع (Al–Azzazy و آخرون،2020) حيث اسُتخدم تركيز 2.470×10^8 (Cfu/ مل) من بكتيريا *Bacillus subtilis* حيث بلغت نسبة الموت (93%) بعد 72 ساعة من العدوى الاصطناعية، كما تتفق النتائج مع (Emam، 2021) وذلك عند استخدم تركيز 10^7 (Cfu/مل) من بكتيريا *Bacillus subtilis* بلغت نسبة الموت (73%) بعد 72 ساعة من العدوى الاصطناعية.



الشكل (20): تأثير تراكيز مختلفة من عزلات ***Bacillus*** الأكثر شراسة على الأفراد البالغة (البحث الحالي، 2022)

الاستنتاجات:

1. إمكانية وسهولة عزل أكاروس الفريز العنكبوتي *T. turkestani* وتربيته على الفريز في أصص ضمن الظروف المخبرية.
2. وجود بكتيريا من الجنسBacillus تسبب موت أكاروس الفريز العنكبوتي*T. turkestani* بأطواره المختلفة (بيوض، حوريات، أفراد بالغة) وتؤدي إلى موت وتشويه جميع الأطوار بعد 72 ساعة من إجراء العدوى الاصطناعية.
3. هناك عزلات من بكتيريا *Bacillus spp.* أكثر شراسة من المبيد الحيوي *Bacillus thuringiensis* المسوق للمكافحة الحيوية للحشرات.
4. يؤثر تركيز العزلة البكتيرية على كفاءتها في قتل أفراد أكاروس الفريز العنكبوتي*T. turkestani.*

المقترحات والتوصيات:

1. عزل سلالات محلية مختلفة من أكاروس الفريز العنكبوتي لا سيما من مناطق جغرافية أخرى ومقارنتها مورفولوجياً وبيولوجياً مع السلالة المدروسة، بهدف دراسة الموقع الجغرافي والنبات العائل وتقييمه في شراسة هذا الأكاروس وقدرته على إحداث الضرر.
2. إمكانية مكافحة أكاروس الفريز العنكبوتي باستخدام المسببات المرضية على رأسها البكتيريا من جنس Bacillus والتي لها القدرة على التحكم في تعداد المجتمع الأكاروس والتأثير على أطواره المختلفة نظراً للفعالية العالية التي بينتها النتائج ضمن الظروف المخبرية.
3. الاستمرار بعزل أنواع أخرى من البكتيريا ودراسة تأثيرها على أكاروس الفريز العنكبوتي وغيره من الأكاروسات بهدف الحصول على عزلات جديدة وفعالة

4. التعريف والتوصيف الجزيئي الدقيق للعزلات المختبرة والتأكد من أنها لاتنتمي إلى أنواع عُرفت أنها قد تسبب حساسية أو أمراضاً للإنسان.

5. تقييم كفاءة العزلات البكتيرية المتحصل عليها من جنس Bacillus على الآفات الأكاروسية في ظروف البيت الزجاجي وفي ظروف التطبيق الحقلي للعزلات البكتيرية المختبرة للتأكد من كفاءتها وفعاليتها.

6. تقييم تأثير هذه العزلات البكتيرية جنس Bacillus على الأعداء الحيوية الأكاروسية (أكاروسات مفترسة).

7. تطوير مبيد حيوي من العزلات البكتيرية المحلية لاستخدامها في مكافحة أكاروس الفريز العنكبوتي*T. turkestani*.

المراجع References

المراجع العربية:

1. الأحمدي، أحمد زياد وجمال، مجد. (1989). الآفات الحيوانية غير الحشرية، منشورات جامعة دمشق. 514 صفحة.
2. لبابيدي، محمود صبري وعيشة، محمود علي. (1995). الآفات الحيوانية غير الحشرية. مديرية الكتب والمطبوعات، جامعة حلب، سورية. 480 صفحة.
3. شعبان، عواد والملاح، نزار مصطفى (1993) .المبيدات. دار الكتب للطباعة والنشر . جامعة الموصل، 520صفحة.

References المراجع الأجنبية

1) **Addison, J.A. (1993).** Persistence and non-target effects of *Bacillus thuringiensis* in soil. A review, Can. J. For. Res, (23): 2329-2342 .
2) **Ahmed, N. Wang, M. and Shu, S. (2015).** Effect of commercial *Bacillus thuringiensis* toxins on *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) fed on wolfberry (*Lycium barbarum* L.). International Journal of Acarology, (42): 1-9.
3) **Ahmedani, M.S., Haque, M.I., Afzal, S.N., Iqbal, U., and Naz, S. (2008).** Scope of commercial formulations of *Bacillus thuringiensis* Berliner as an alternative to methyl bromide against *Tribolium castaneum* adults. Pakistan Journal of Botany, (40): 2149–2156.
4) **Al- Azzazy M. M., Alsohim. A., and Yodr. C.A. (2020).** Biological effects of three bacterial species on *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) infesting eggplant under laboratory and greenhouse conditions. Acarologia, (60)(3): 587-594.
5) **Albajes R., Gullino M. L., Lenteren J. C., and Elad Y**. (2001). Integrated Pest and Disease Management in Greenhouse Crops. Springer Dordrecht, (14): 69-81 .
6) **Alsohim A.S., Taylor T.B., Barrett G.A., Gallie J., Zhang X.X., Junqueira A.E., Johnson L.J., Rainey P.B., and Jackson R.W. (2014).** The bio surfactant viscosin produced by *Pseudomonas fluorescens* SBW25 aids spreading motility and plant growth promotion. Environ. Microbiol, (16): 2267-2281.
7) **Ariza MT, Reboredo-Rodríguez P, Mazzoni L, Forbes-Hernández TY, Giampieri F, Afrin S, Gasparrini M, Soria C, Martínez-Ferri E, Battino M, Mezzetti B., and Ariza MT**. **(2016)**. Strawberry and Achenes Hydroalcoholic Extracts and Their Digested Fractions Efficiently Counteract the AAPH-Induced Oxidative Damage in HepG2 Cells. Int J Mol Sci, (17)(7):1103. Doi: 10.3390/ijms19082180.

8) **Bale, JS; Van Lenteren, JC; and Bigler, F. (2008).** Biological control and sustainable food production. Philos. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, (Series B363):761-776.

9) **Barbosa, M.F.C.; and de Moraes, G.J. (2015).** Evaluation of as tigmatid mites as factitious food for rearing four predaceous phytoseiid mites (Acari: Astigmatina; Phytoseiidae). Biological Control, (91):22-26.

10) **Basu A, Das AS, Borah PK, Duary RK, and Mukhopadhyay R. (2020).** Macromolecular design of folic acid functionalized amylopectin–albumin core–shell nanogels for improved physiological stability and colon cancer cell targeted delivery of curcumin. Journal of Colloid and Interface Science, (69) (11):1143-1156.

11) **Bjarnadottir, A. (2019).** Strawberries 101: Nutrition Facts and Health Benefits**.** Healthline**,** p:1 https://www.healthline.com/nutrition/foods/strawberries

12) **Bolland, H.R.; Gutierrez, J.; and Flechtmann, C.H.W. (1998).** World catalogue of the spider mite family (Acari: Tetranychidae). Leiden, Brill Academic Publishers, 392 pp

13) **Bostanian N. J., and Morrison F. O. (1973)**. Morphology and Ultrastructure of Sense Organs in the Two spotted Spider Mite (Acari: Tetranychidae). Annals of the Entomological Society of America, (66) (2): 379–383

14) **Bravo, A.; Likitviva tanavong, S.; Gill, S.S.; and Soberón, M. (2011).** *Bacillus thuringiensis*: a story of a successful bioinsecticide. Insect Biochemistry and Molecular Biology, (41): 423–431.

15) **Bravo, A; Sarabia, S; Lopez, L; Ontiveros, H; Abarca, C; Ortiz, A; Ortiz, M; Lina, L; Villa-Lobos, F; Guadalupe, P; Nunez-Valdez, M; Soberon, M; and Quintero, R. (1998).** Chacterization of cry genes in Mexican *Bacillus thuringiensis* strain collection. Applied and Enviromental Micorbiology, (64) (12): 4965-4972

16) **Brito, R.M.; Stern, V.M.; and Sances, F.V. (1986).** Physiological response of cotton plants to feeding of three *Tetranychus* spider mite species (Acari: Tetranychidae). Joumal of Economic Entomology, (79): 1217-1220.

17) **Chapman M.H., and Hoy M.A. (2009).** Relative toxicity of *Bacillus thuringiensis var. tenebrionis* to the two-spotted spider mite (Tetranychus urticae Koch) and its predator *Metaseiulus occidentalis* (Nesbitt) (Acari, Tetranychidae and Phytoseiidae). J Appl Entomol, (111): 147–154.

18) **Ciancio, K.; and Mukerji, G. (2010).** Integrated Management of Arthropod Pests and Insect Borne Diseases, Integrated Management of Plant Pests and Diseases. Springer Science+ Business Media B.V, (5): 29-59.

19) **De Barjac, H., and Frachon, E. (1990).** Classification of *Bacillus thuringiensis* strains. Entomophaga In press, (35): 233-240.

20) **De Lucca, A. J., J. G. Simonson, and A. D. Larson. (1981).** *Bacillus thuringiensis* distribution in soils of the United States. Can. J. Microbial, (27):865-870.

21) **De Lucca, A. J., M. S. Palmgren, and A. Ciegler. (1982).** *Bacillus thuringiensis* in grain elevator dusts. Can. J. Microbial, (28):452- 456.

22) **Dicke, M.; van, Loon J. J. A.; and Soler, R. (2009).** Chemical complexity of volatiles from plants induced by multiple attack. Nat. Chem. Biol, (5):317-24.

23) **DÖKER, İ.; STATHAKIS, TH. I.; KAZAK, C.; KARUT K. and Drungowski, M., Parolin, P., Schreiner, M. & Baldeermann, S. (2016).** Transgenic crops V. Springer Berlin Heidelberg, (60): 309-328.

24) **Dulmage H.T. (1981).** Insecticidal activity of isolates of *Bacillus thuringiensis* and their potential for pest control. In: Microbial control of insect pests and plant diseases 1970- 80. Ed. by Burges HD, Academic Press, New York, London, P:193–222.

25) **Dulmage, H.T. (1970).** Insecticidal activity of HD-1, a new isolate of *Bacillus thuringiensis var. alesti*. Journal of Invertebrate Pathology, (15)(2):232-239.

26) **Dunstand G. E.; Pena C.G.; Hallal C.C.; Pe`rez M.M.; Hernadez V.V.M.; and Morales MJ. (2015).** Acaridical effect and histological damage induced by *Bacillus thuringiensis* protin extracts on the mite Posripts cuniculi. Parasites & Vector, (8): 285.

27) **Dunstand, G. E.; Calleros, C. H.; Montor, J. M.; Velázquez, V. M. H.; Ramos, J. J. Z.; Hoffman, K. L.; Chora, G. P.; and Pérez, F. I. F. (2015).** Therapeutic use of *Bacillus thuringiensis* in the treatment of psoroptic mange in naturally infested New Zealand rabbits, Veterinary Parasitology, (238): 24-29.

28) **Emam, H. (2021).** Efficiency of Three Bacterial Strains Against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) Under Laboratory Conditions. Arab Univ. J. Agric. Sci., Ain Shams Univ., Cairo, Egypt, :29(1), 447 – 457.

29) **Entwistle P. F., Lory J. S., Baily M. J. and Higgs S. (1993).** *Bacillus thuringiensis*, An Environmental Biopesticide (John Wiley, New York). Biology, (2):10-25

30) **Errard, A.; Ulrichs, C.; Kuhne, S.; Mewis, I.; Mishig, N.; Maul, R.; Field, R.P.; and Hoy, M.A. (1986).** Evaluation of genetically improved strains of *Metaseiulus occidentalis* (Nesbitt) (Acarina: Phytoseiidae) for integrated control of spider mites on roses in greenhouse. Hilgardia, (54):1-31.

31) **FAOSTAT. (2019)**. Food and Agriculture Organization of the United Nations. http://fao.org/faostat/en

32) **Fatemikia S., Abbasipour H., Karimi J., Saeedizadeh A., and Gorjan A. S.** (2014). Efficacy of *Elettaria cardamomum* L. (Zingiberaceae) essential oil on the two spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Archives of Phytopathology and Plant Protection, (47)(8): 1008-1014.

33) **Fdhila, F.; Vazquez, V.; Sanchez, J. L.; and Riguera, R.** (2003). DD-diketopiperazines: 426 Antibiotics active against Vibrio anguillarum isolated from marine bacteria associated Page 21 of 31 ACS Paragon Plus

Environment Journal of Agricultural and Food Chemistry 22 427 with cultures of Pecten maximus. J. Nat. Prod, (66): 1299−1301.

34) **Flexner, J.L. and Belnavis D.L. (2000).** Biological and Biotechnological Control of Insects Pests Microbial insecticides, J.E. Rechcigi and N.A. Rechcgi, pp: 35-62 .

35) **Forsyth G., and Logan N.A. (2000).** Isolation of *Bacillus thuringiensis* from northern Victoria land, Antarctica. Lett Appl Microbial, (30):263–266.

36) **Frutos P.; and Carreño P. (2018).** Agronomía Costarricense: CONTROL DE *Tetranychus urticae* KOCH (ACARI: TETRANYCHIDAE) generalist pests *Tetranychus urticae* and *Myzus persicae*. Plant Sci, Lubbock, Texas Tech University, 30(3): 229-234.

37) **Giampieri, F.; Alvarez-Suarez, J.M.; Mazzoni, L.; Romandini, S.; Bompadre, S.; Diamanti, J.; Capocasa, F.; Mezzetti, B.; Quiles, J.L.; Ferreiro, M.S.; Tulipani, S.; and Battino, M. (2013)**. The potential impact of strawberry on human health. Nat Prod Res, (27) (4-5):448-55.

38) **Goldman D. L., Zeng W.Y., Rivera J., Nakouzzi A., and Casadevall A. (2008).** Human Serum Contains a Protease That Protects against Cytotoxic Activity of *Bacillus* anthracis Lethal Toxin In Vitro. ASM journals / clinical and vaccine immunology / (15) (6):

39) **Gordon R. E.** (1973). The genus *Bacillus*. In Handbook of Microbiology 1 Organismic Microbiology, pp: 71–88.

40) **Goszczynska T., Serfontein J.J., Serfontein S. (2000).** Introduction to practical Phyto-bacteriology. Sponsored by the Swiss Agency for Development and Cooperation (SDC), Switzerland, p: 83.

41) **Gupta A., Roy I., Patel R.K., Singh S.P., Khare S.K. and Gupta M.N. (2005).** One-step purification and characterization of an alkaline protease from haloalkaliphilic *Bacillus* sp. J. Chromatogr. A, (1075): 103-108.

42) **Gupta, S.; and Dikshit, AK. (2010)**. Biopesticides: An ecofriendly approach for pest control. Journal of Biopesticides, (3):186-188.

43) **Hajek, A. (2004).** Natural enemies; an introduction to biological control. Cambridge University Press, Cambridge, (55): 303-309.

44) **Hall T.A. (1999).** Bio Edit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/ 98/NT. Nucl Acids Symp Ser, (41): 95–98.

45) **Hall, I.M.; Hunter, D.K.; and Arakawa, K.Y. (1971).** The effect of the b-exotoxin fraction of *Bacillus thuringiensis* on the citrus red mite. Journal of Invertebrate Pathology, (18): 359–362.

46) **Hamamura, T. (1986).** Studies on the biological control of kanzawa spider mite, *Tetranychus kanzawai* Kishida by the chemical resistant predacious mite, *Amblyseius longispinosus* (Evans) in tea fields (Acarina: Tetranychidae, Phytoseiidae). Bull. Natl. Res. Inst. Tea, (21):121-201.

47) **Holemans K., Bree R. V., Verhaeghe J., Meurrens K., and Assche F. A. V.(1997).** Maternal Semistarvation and Streptozotocin-Diabetes in Rats Have Different Effects on the In Vivo Glucose Uptake by Peripheral Tissues in Their Female Adult Offspring, *The Journal of Nutrition*, (127) (7): 1371–1376

48) **Hoy, M.A.; and Ouyang, Y.L. (1987).** Toxicity of b-exotoxin of *Bacillusthuringiensis* to *Tetranychus pacificus* and *Metaseiulus occidentalis* (Acari: Tetranychidae and Phytoseiidae). Journal of Economic Entomology, (80): 507–511.

49) **Ibrahim, Y.B.; and Yee, T.S. (2000).** Influence of sublethal exposure to abamectin on the biological performance of *Neoseiulus longispinosus* (Acari: Phytoseiidae). J. Econ. Entomol, (93):1085-1089.

50) **Isman, M.B. (2015)**. A renaissance for botanical insecticides. Pest Manag. Sci., (71):1587-1590.

51) **Jeppson, L.R.; Keifer, H.H.; and Baker, E.W. (1975).** Mites injurious to economic plants. Berkeley. University of California, (4) (5): 614- 624.

52) **Jiang J.Y.Q., Zhang Y.N., Guo D.D., Chen J. (2017).** Morphology and ultrastructure of *Tetranychus turkestani* Ugarov & Nikolskii (Acari: Tetranychidae). (22)(8):1181-1198**.**

53) **Josephine S. F., Ramya V. S., Neelam D., Suresh B. G., Siddalingeshwara K. G., Venugopal N., and Vishwanatha T. J. (2012).**

Isolation, production and characterization of protease from *Bacillus* Sp isolated from soil sample Microbial. Biotech. Res, (2) (1):163-168

54) **Jouzani, G. S. ; Abad, A. P.; Seifinejad, A.; Marzban, R.; Kariman, K.; and Maleki, B. (2007).** Distribution and diversity of Dipteran-specific cry and cyt genes in native *Bacillus* thuringiensis strains obtained from different ecosystems of Iran. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology, (35): 83-94.

55) **Jung, Y.C.; Mizuki, E.; Akao, T.; and Côté, J.C. (2007).** Isolation and characterization of a novel *Bacillus thuringiensis* strain expressing a novel crystal protein with cytocidal activity against human cancer cells. Journal of Applied Microbiology, (103): 65–79.

56) **Khetan S.K. (2001).** Microbial pest control. Marcel Dekker Inc, NewYork, p 300

57) **Kim, D.I.; Lee, S.C.; Paik, C.H.; Kim, S.S.; and Ma, K.C. (1997).** Population fluctuation of *Tetranychus kanzawai* and their natural enemies and related susceptibility of some pesticides to *Amblyseius womersleyi* and *T. kanzawai*. J. Kor. Tea Soc., (3):83-93.

58) **Kim, S.S.; and Paik, C.H. (1996).** Comparative toxicity of fenpyroximate to the predatory mite, *Amblyseiuswomersleyi*Schicha and the kanzawa spider mite, *Tetranychus kanzawai*Kishida (Acarina: Tetranychidae, Phytoseiidae). Appl. Entomol. Zool., (31):369-377.

59) **Kostiainen, T.S.; and M.A. Hoy. (1996).** The Phytoseiidae as biological control agents of pest mites and insects. A bibliography. Monograph 17, Gainesville. University of Florida, Agricultural Experiment Station, Institute of Food and Agricultural Sciences, 355pp.

60) **Krantz, G. W.; and Walter, D. E. (2009).** Habits and Habitats. In: Krantz, G. W. & Walter, D. E. (Eds.), A Manual of Acarology, ,Lubbock, Texas Tech University Press, (55): pp. 64-80.

61) **Krieg A., Hassan S., and Pinsdorf W. (1980).** Comparison of the effect of the variety bacteria with other varieties of *Bacillus thuringiensis* on

nontarget organisms of the order Hymenoptera. Jurnal Anzeiger fur Schadlingskunde Pflanzenschutz Umweltschutz, (53) (6): 81-83.

62) **Kwon S. J., Jung H.C., and Pan J.G**. **(2007).** Trans galactosylation in a Water-Solvent Biphasic Reaction System with β-Galactosidase Displayed on the Surfaces of *Bacillus subtilis* Spores. ASM Journals /Applied and Environmental Microbiology /, (73): No. 7

63) **Lambert, B. and Peferoen M. (1992).** Insecticidal promise of Bacillus thuringiensis. Bioscience, (42): 112-122.

64) **Larkin M.A., Blackshields G., Brown N.P., Chenna R., McGettigan P.A., McWilliam H., Valentin F., Wallace I.M., Wilm A., Lopez R., Thompson J.D., Gibson T.J., and Higgins D.G**. (2007). Clustal W and Clustal X version 2.0. Bioinformatics, (23): 2947–2948.

65) **Larrea-Izurieta, I.; Falconi, C.; Andrade, A. (2015)**. Aislamiento y caracterización de cepas de *Bacillus* spp. con actividad contra Tetranychus urticae Koch en cultivos comerciales de rosas. Revista Colombia de Biotecnología, (17)(2):140-148.

66) **Lee, Y.; Song, M.; Ahn, K.; Lee, K.; Kim, J.; and Kim, G. (2003).** Monitoring of acaricide resistance in two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) populations from rose greenhouses in Korea. Journal of Asia-Pacific Entomology, (6): 91–96.

67) **Lindquist E.E. (1985)**. Spider Mites. Their Biology, Natural Enemies and Control. Chapter 1.1 Anatomy, phylogeny and systematics. 1.1.1 External anatomy. Amsterdam, Elsevier, (1): 3–28.

68) **Marroquin, L. D.; Elyassnia, D.; Griffitts, J. S.; Feitelson, J.S.; Aroian, R. V. (2000).** *Bacillus thuringiensis* (Bt) Toxin Susceptibility and Isolation of Resistance Mutants in the Nematode. Caenorhabditis elegans Genetics, (155)(4):1693–1699,

69) **Martinez C., and Caballero P. (2002).** Contents of cry genes and insecticidal toxicity of *Bacillus thuringiensis* strains from terrestrial and aquatic habitats. J Appl Microbiol, (92): 745–752 .

70) **McMurtry, J.A.; and Croft, B.A. (1997).** Life-styles of phytoseiid mites and their roles in biological control. Annual Review of Entomology, (42):291-321.

71) **McMurtry, J.A.; de Moraes, G.J.; and Sourassou, N.F. (2013).** Revision of the lifestyles of phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) and implications for biological control strategies. Systematic and Applied Acarology, (18) (4):297-320.

72) **Meadows M.P., Ellis D. J., Butt J., Jarrett P., and Burges H. D. (1992).** Distribution, Frequency, and Diversity of *Bacillus thuringiensis* in an Animal Feed Mill. ASM Journals Applied and Environmental Microbiology, (58), No. 4

73) **Meadows, M. P.; Deborah, J. E.; Butt, J.; Jarrett, P.; and Burges H. D. (1992).** Distribution, Frequency, and Diversity of *Bacillus thuringiensis* in an Animal Feed Mill. ASM Journals Applied and Environmental Microbiology, Vol. 58, No. 4

74) **Migeon A.; and Dorkled F. (2020).** Spider Mites Web: a comprehensive database for the Tetranychidae. Available from: http://www1.montpellier.inra.fr/CBGP/spmweb (Accessed 20/08/2020)

75) **Migeon, A.; and Dorkeld, F. (2006-2017)**. Spider Mites Web: a comprehensive database for the Tetranychidae. http://www.montpellier.inra.fr/CBGP/spmweb.

76) **Miresmailli. S.; and Isman, M. B. (2006).** Efficacy and persistence of rosemary oil as an acaricide against two spotted Spider mite (Acari: Tetranychidae) on greenhouse tomato. J. Econ. Entomol, (99): 2015–2023.

77) **Mohammed, S. H.; El Saedy, M. A.; Enan, M. R.; Ibrahim, N. E.; Ghareeb, A.; and Moustafa, S. A. (2008).** Biocontrol efficiency of *Bacillus thuringiensis* toxins against root-knot nematode, Meloidogyne incognita. Journal of cell and molecular biyology, (15): 33-46

78) **Msadek T., Kunst F., and Rapoport G. (1994).** MecB of *Bacillus subtilis*, a member of the ClpC ATPase family, is a pleiotropic regulator controlling competence gene expression and growth at high temperature. PANS, (91): No. 13

79) **Mulla M.S., Singh, N., and Darwazeh H.A. (1991).** Delayed mortality and morphogenetic anomalies induced in *Culex quinquefasciatus* by the microbial control agent *Bacillus sphaericus*. Journal of the American Mosquito Control Association, (6): 92-114.

80) **Murty M.G., Srinivas G., Bora R.S., and Sekar V. (1994).** A simple method for separation of the protein crystals from *Bacillus thuringiensis* using carboxymethyl cellulose column chromatography. J Microbiol Meth, (19): 103–110.

81) **Neal, J.W.; Lindquist, R.K.; Gott, K.M.; and Casey, M.L. (1987).** Activity of the thermostable beta-exotoxin of *Bacillus thuringiensis* Berliner on *Tetranychusurticae* and *T. cinnabarinus*. J. Agric. Entomol., (4): 33-40.

82) **Neethu, K.; Priji, P.; Unni, K.; Sajith, S.; Sreedevi, S.; Ramani, N.; Anitha, K.; 391 Rosana, B.; Girish, M.; and Benjamin, S. (2016).** New *Bacillus thuringiensis* strain isolated from 392 the gut of Malabari goat is effective against *Tetranychus macfarlanei*. J. Appl. 393 Entomol, (140): 187−198.

83) **Nestar, E. W.; Thomashow, L. S.; and Metz, M. G. (2002)**. 100 Years of *Bacillus thuringiensis*: A Critical Scientific Assessment. Ithaca, New York, P: 22.

84) **Orduz S., Restrepo N., Maria M., and Rojas P.W. (1995).** Transfer of toxin genes to alternate bacterial hosts for mosquito control .Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, (90)(1): 97-107.

85) **Ortiz N., Armada E., Duque E., Roldán A., and Azcón R. (2015).** Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi and/or bacteria to enhancing plant drought tolerance under natural soil conditions: effectiveness of autochthonous or allochthonous strains. J Plant Physiol, (174):87–96.

86) **PAPADOULIS, G. TH. (2014).** Four new records and two new species of Phytoseiidae (Acari: Mesostigmata) from Turkey, with a key to the Turkish. Zootaxa, (3): 42- 341.

87) **Parker M.W.; and Feil S.C. (2005).** Pore-forming protein toxins: from structure to function. ProgrBiophys&Mol Biol, (88):91–142.

88) **Payne, J.; Cannon, R. J. C.; and Bagley, A. L. (1993).** *Bacillus thuringiensis* isolates for controlling acarides. US Patent, (5): 211-946.

89) **Payne, J.; Cannon, R. J. C.; and Ralph, A. L. (1994).** *Bacillus thuringiensis* isolates for controlling acarides. US Patent, (5): 350-576.

90) **Pérez, C.; Muñoz-Garay, C.; Portugal, L.C.; Sánchez, J.; Gill, S.S.; Soberón, M.; and Bravo, A. (2007).** *Bacillus thuringiensis* ssp. Cyt1Aa enhances activity of Cry11Aa toxin by facilitating the formation of a pre-pore oligomeric structure. Cellular Microbiology, (9): 2931–2937.

91) **Pritchard, E. ; and Baker, E.W. (1955).** A revision of the spider mite family Tetranychidae. Pacific Coast Entomological Society Memoirs, (2): 1–472.

92) **Pua, E. C.; and Davey, M. R. (2007).** Biotechnology in agriculture and forestry. Transgenic crops V. Springer Berlin Heidelberg, (60): 309 -328

93) **Ramírez, E. V. A., Gonzalez, J. R. P., Velázquez V. M. H., Trujillo J. A.R., and Chora G. P. (2014).** In vitro susceptibility of *Varroa destructor* and *Apis mellifera* to native strains of *Bacillus thuringiensis*. Apidologie; Springer Nature, (45)(6): 707-718.

94) **Rashki, M.; Kharazi-pakdel, A.; Allahyari, H.; and van Alphen, J.J.M. (2009).** Interaction among the entomopathogenic fungus, *Beauveriabassiana* (Ascomycota: Hypocreales), the parasitoid, *Aphidiusmatricariae* (Hymenoptera: Braconidae), and its host, *Myzuspersicae* (Homoptera: Aphididae). Biol Control, (50): 324–328.

95) **Rasko, D.A.; Altherr, M.R.; Han, C.S.; and Ravel, J. (2005).** Genomics of the *Bacillus cereus* group of organisms. FEMS Microbiology Reviews, (29): 303–329.

96) **Roh, J.Y.; Kim, Y.-S.; Wang, Y.; Liu, Q.; Tao, X.; Xu, H.G.; Shim, H.J.; Choi, J.Y.; Lee, K.S.; and Jin, B.R. (2010).** Expression of *Bacillus thuringiensis* mosquitocidal toxin in an antimicrobial *Bacillus brevis* strain. Journal of Asia-Pacific Entomology, (13): 61–64.

97) **Roobakkumar, A.; Babu, A.; Kumar, D.V.; Sarkar, S. (2011)**. *Pseudomonas fluorescens* as an efficient entomopathogen against

Oligonychus coffeae (Nietner) (Acari: Tetranychidae) infesting tea. Journal of Entomology and Nematology, (3): 73–77.

98) **Royalty, R.N.; Hall, F.R.; and Taylor, R.A. (1990).** Effects of thuringiensin on *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) mortality, fecundity and feeding. J. Econ. Entomol, (83): 792–798.

99) **Sances, F.V., Toscano, N.C., Oatman, E.R., LaPre´, L.F., Johnson, M.V., and Voth V. (1982).** Reductions in plant processes by *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) feeding on strawberry. Environa Entomol, (11): 733- 737.

100) **Sarwar, M. (2020).** Mite (Acari Acarina) vectors involved in transmission of plant viruses. Applied Plant Virology, (20): 257-273. doi.org/10.1016/B978-0-12-818654-1.00020-7.

101) **Schiesari, L.; Waichman, A.; Brock, T.; Adams, C.; and Grillitsch, B. (2013)**. Pesticide use and biodiversity conservation in the Amazonian agricultural frontier. Philosophical Transactions of the Royal Society B, (368):1-9.

102) **Schnepf E., Crickmore N., Van Rie J., Lereclus D., Baum J., Feitelson J., Zeigler D.R., and Dean D.H. (1998).** *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. Microbiol Mol Bio Rev, (62): 775–806.

103) **Sebesta, K.; Farkas, J.; Horska, K.; and Varikova, J. (1981)**. Thuringiensin, the beta-exotoxin of *Bacillus thuringiensis*. In Burges, HD (ed.). Microbial control of pests and plant diseases 1970-1980. Academic, London, pp: 249-281.

104) **Seiedy, M.; Saboori, A.; Allahyari, H.; Talaei-Hassanloui, R.; and Tork, M. (2010).** Laboratory investigation on the virulence of two isolates of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* against the two spotted mite *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). Int J Acarol, (36): 527–532.

105) **Shearer, P.W. (2000).** Pyridaben baseline assays for adults female European red mite (Acari: Tetranychidae) and eggs. J. Agric. Urban Entomol, (17): 65-69.

106) **Simons, J.N. (1964).** Tetranychid mites as defoliators of cotton. Journal of Economic Entomology, (57)(1): 145–148.

107) **Siqueria JF, Pereiradasilva CHF, Cerqueria MDO. (1998).** Effectiveness of four chemical solutions in eliminating Bacillus subtilis spore on gutta-percha cones. Endod Dent Traumatol, (14):124-126.

108) **Sohrabi F.; and Shishehbor, P. (2008).** Effect of host plant and temperature on growth and reproduction of the strawberry spider mite *Tetranychus turkestani* Ugarov and Nikolski (Acari: Tetranychidae). Syst. Appl. Acarol., (13): 26-32.

109) **Sohrabi, F.; and Shishehbor, P. (2007).** Functional and numerical response of *Stethorus gilvifrons* Mulsant (Col: Coccinellidae) feeding on *Tetranychus turkestani* Ugarov&Nikolski (Acari: Tetranychidae). Pakistan Journal of Biological Sciences, pp: 4563-4566.

110) **Soliman, M G.; Hoda, HA; Shadia, MA; Ghada, ME (2019).** In vitro evaluation of some isolated bacteria against the plant parasite nematode *Meloidogyne* incognita. Bulletin of the National Research Centre, (43):171

111) **Tang J.D., Shelton A.M., Van Rie J., De Roeck S., Moar W.J., Roush R.T., and Peferoen M.** (1996). Toxicity of *Bacillus thuringiensis* spore and crystal protein to resistant diamondback moth (*Plutella xylostella*). Appl Environ Microbiol, (62): 564–569

112) **Torres, E.C.; Hernández, J.F. (2018).** Actividad acaricida de *Bacillus thuringiensis* sobre el acaro rojo de las aves, *Dermanyssus gallinae*. Rev. vet, (29)(2):128-132.

113) **Trevisori, L.; Teixiera, R.; Linhares, H.; Trevisoli, T.; Aparecido de Carvalho, G.; Pagliusi, Y.; and Polanczik, R. (2014)**. Compatibility among insecticides, acaricides and *Bacillus* thuringiensis used to control *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) in cotton fields. African Journal of Agricultural Research , (9) (11): 941-949.

114) **Ugarov, A.A.; and Nikolskii, V.V. (1937).** Systematic study of spider mites from Central Asia. Trudy Sredneaziatskoy Stancii Zashchity Rasteniy, (2): 26–64.

115) **Vacante, V. (2010).** Citrus mites' identification, bionomy and control. Wallingford: CABI Publishing, pp: 378.

116) **Van Franken huyzen, K. (2009).** Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. Journal of Invertebrate Pathology, (101): 116.

117) **Vásquez, C.; Balza, D.; Jiménez, M.A.; Colmenárez, Y.; and Ríos, Y. (2016).** Use of plant extracts as an alternative control method against phytophagous mites in South America. Current Topics in Phytochemistry, (13): 35-41.

118) **Veloorvalappil, N.J; Smitha, R.B.; Benjamin, S. (2013).** Overview on the Crystal Toxins from *Bacillus thuringiensis*. Advances in Microbiology, (3): 462-472

119) **Weher, F. (1989)**. Ein flussron Besied lungstermin und Befalls dauermit *Tetraychus turkestani* Ug. et Nic. aufP flanzen wachstum, Ertrag und Qualität von Baumwolle in Mittelasien. Beitrage Zur Tropischen Landwirtschaft und Veterinarmedizin, (27): 203-209.

120) **Wright, J.E.; and Kennedy, G.G. (1996).** A new biological product for control of major greenhouse pests. In: Proceeding of Brighton Crop Protection Conference- Pest & Diseases, (3): 885–892.

121) **Xu, C.; Wang, B.-C.; Yu, Z.; and Sun, M. (2014).** Structural Insights into *Bacillus* thuringiensis Cry, Cyt and Parasporin Toxins. Toxins, 6(9), 2732–2770.

122) **Zeity, M. (2017).** Some new records of spider mites (Acari: Tetranychidae) from Syria. Acarologia, (57) (3): 651-654.

123) **Zemek, R.; and Hubert, J. (2008).** Acaricidal activity of *Bacillus thuringiensis* toxins against mite pests. IOBC/WPRS Bull, (31): 122.

124) **Zemkova, R.G.; Zemek, R.; Schmidt, J.E.U.; and Hilbeck, A. (2005).** Altered host plant preference of *Tetranychus urticae* and prey preference of its predator *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Tetranychidae, Phytoseiidae) on transgenic Cry3Bb-eggplants. Biol.Control, (33): 293-300.

125) **Zhang, Y.; Chen, J.; Chen, Y.; Dong, J.; Wei, Q.; Lou, J.(2005**) . Environmental mycological study and allergic respiratory disease among tobacco processing workers. J. Occup. Health, (47): 181–187.

126) **Zhang, Z.Q. (2003).** Mites of greenhouses: Identification, biology and control. Wallingford: CABI Publisheing, P:244.

127) **Zriki, G.; Shaabo, A.; and Boubou, A. (2015).** A preliminary survey of the spider. Acarologia, (55): 303-309.

Summary

This research was carried out during 2018-2022 in the laboratories of Plant Protection Department (Non insectal animal pests, and Phytobacteriology Diseases Laboratories) at the Faculty of Agriculture- Damascus University.

This research aimed to isolate and identify the effect of *Bacillus* spp. bacteria which infect different instars (eggs - nymphs - adults) of the strawberry spider mite *Tetranychus turkestani*.

Nine *Bacillus* spp. isolates (A ،AD ،B ،C° ،SW° ،S'6 ،S''6 ،S'9 ،S''9) were obtained, all of them infect *T. turkestani* and cause death to different instars with different percentage as compared to commercial isolates and control.

The results demonstrate that there is no high effect on the strawberry spider mite within 48 hours of inoculation by Bacillus isolates and their damage was limited to the lack of the individual's activity, nutrition, and the inability of the female to lay eggs; wherease, the percentage of individuals' death was maximum for all *T. turkestani* instars at 72 hours post inoculation.

The isolates (S'6; S'6; S'9; S'9) were charecherized by their aggressivity (60-90%) against different strawberry spider mite *T. turkestani* instars without significant differences between them at 72 hours post inoculation as compared to the two commercial isolations BT, BTm (40%) and the control (10%).

Our results demonstrate that the concentration of bacterial suspension plays an important role in the isolate aggressivity against *T. turkestani* adults.

This preliminary research aimed to prefectorial studies with the objective of development an acaricide composed of local *Bacillus* isolates, which can use in biological control of *T. turkestani* within Intergrated Pest Management Programme (IPM).

Key words: Strawberry spider mite *Tetranychus turkestani*, Bacteria *Bacillus* spp, Bacterial isolates, Isolates effectiveness, Death rate.

Syrian Arab Republic
Damascus University
Faculty of Agriculture
Department of Plant Protection

Effect of *Bacillus* spp. On Strawberry Spider Mite *Tetranychus turkestani*

A Dissertation Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master in Plant Protection

By
Lama Hassan Alhallak

Supervisors

Dr. Mohamad Kanouh
Damascus University
Faculty of Agriculture

Dr. AÏda Jalloul
Damascus University
Faculty of Agriculture

2022