الملخص العربي

لإجراء هذا البحث تم استخدام خمسة أجناس من الفطريات الممرضة للحشرات *Mitarhizium anisopliae, Mitarhizium flavovrdiae,Beauveria bassiana, Beauveria brongniartii* and *Paecilomyces farinosus*

هذه الفطريات الخمسة تم أخذها من وحدة إنتاج المبيدات الحيوية بمعهد بحوث وقاية النباتات. وقد استخدمت هذه الفطريات كمبيدات حيوية لمكافحة آفه خطيرة هي دودة ورق القطن وتعتبر هذه الآفه من أخطر الآفات الزراعية في مصر وكثير من الدول الأخري.

ولقد تضمنت هذة الدراسة النقاط التالية:-

أولاً: تم تنمية الفطريات علي ثلاث بيئات مختلفة حيث أظهر كلاً من فطرة *M. anisopliae* وفطرة *M. flavovrdiae* وفطرة *P. farinosus* أفضل نمو علي بيئة الدوكس بينما أظهر فطرة *B. brongniartii* أفضل نمو له علي بيئة مستخلص البطاطس *(PDA)* أما فطرة *B. bassiana* أظهر أفضل نمو له علي بيئة الآجار المكتملة *(CAM)*.

تم تعقيم مكونات البيئة الغذائية ثم صبها داخل أطباق بتري وتلقيحها بالفطريات ثم تم وضعها تحت التحضين (١٥يوم) في درجة٢٥م عند درجةرطوبة نسبية (٥٠-٦٠%). في نهاية فترة التحضين تم استخلاص الجراثيم باستخدام محلول معقم من ٠,١% توين -٨٠.

تم حساب عدد الجراثيم الموجودة في المعلق باستخدام شريحة الهيموسيتوميتر وقد استخدمت خمسة تركيزات (10^{5} - 10^{6} - 10^{7} - 10^{8} - 10^{9})
لكل فطرة. كما أنه تم الحصول علي مواد الأيض لكل فطرة بتحضير نفس البيئات السابقة ولكن سائلة وبعد تعقيمها وتلقيحها بالفطرةيات ثم وضعها تحت فترة التحضين (١٥ يوم) في درجة حرارة ٢٥م بمعامل رطوبة (٥٠-٦٠%) تم فصل السائل (مواد الأيض) عن الجراثيم وتم عمل خمسة تركيزات(١٠٠- ٧٥ -٥٠ -٢٥ - ١٠ %) من السائل لكل فطرة.

ثانياً: تم تعريض يرقات العمر الثاني والرابع من دودة ورق القطن لورق الخروع وورق الترشيح المعاملين بتركيزات الفطرة المختلفة بطريقة الغمر لمدة ٤٨ ساعة وبعد انتهاء فترة التعريض تم وضع اليرقات المعاملة في برطمانات معقمة بداخلها ورق خروع وورق ترشيح غير معامل بعد ذلك تم متابعة أطوار اليرقات المختلفة مع تسجيل التأثيرات المختلفة للفطريات الخمسة علي دودة ورق القطن.

يعتمد استعمال محلول الجراثيم علي الاحتكاك المباشر بين ورق الخروع وورق الترشيح المعاملين بتركيزات الفطرة المختلفة ودودة ورق القطن ولكن يعتمد استعمال مواد الأيض علي تغذية اليرقات علي ورق الخروع المعامل بتركيزات الفطرة المختلفة. أوضحت النتائج أن محلول الجراثيم لفطرة *M. anisopliae* أعطي أعلي نسبة موت للعمر الثاني والرابع لدودة ورق القطن تتراوح بين ٥٥% للعمر الرابع و٦٠% للعمر الثاني. وقد كان الوقت اللازم لموت ٥٠ % **(LT_{50})** من اليرقات هو ٧ أيام للعمر الثاني و١٠ أيام للعمر الرابع. أما مواد الأيض لفطرة *M. flavovridae* قد أعطت أعلي نسبة موت للعمر الثاني والرابع لليرقات تتراوح بين ٥٤% للعمر الرابع و٦٠% للعمر الثاني وكان الوقت اللازم لموت ٥٠ % **(LT_{50})** من اليرقات هو ٧ أيام للعمر الثاني و١٠ أيام للعمر الرابع.

ثالثاً: تم عزل الحامض النووي **(DNA)** للفطريات المختبرة وتم إجراء تفاعل إنزيم البلمرة المتسلسل *(PCR)* باستخدام خمسة تتابعات نيوكليوتيدية عشوائية *(RAPD primers)*.

أظهرت النتائج فصل ٢٢٧ جزء من *DNA* للخمسة تتابعات نيوكليوتيدية ٤٥ جزء منها متشابه و١٨٢ جزء مختلف ويتراوح عدد الأجزاء المختلفة بين ١٥ إلي ٤٩ جزء لكل تتابع نيوكليوتيدي.

كما أظهرت النتائج وجود اختلاف كبير في أجزاء الحامض النووي للخمسة فطريات تصل نسبته إلي ٨٣%.

رابعاً: تم تحليل البروتينات بواسطة جهاز الالكتروفوريسيس للفطريات السابق ذكرهم وأوضحت النتائج ما يلي:-

أ-تم فصل بروتين فطرة *B. bassiana* إلي ١١ جزء بروتيني أما بروتين فطرة *B. brongniartii* تم فصله إلي ١٣ جزء بروتيني.

يمكن تمييز هاتين الفطرتين عن بعضهما البعض بوجود أجزاء بروتينية في كلاً منهما لا توجد في الأخر فمثلاً تحتوي فطرة *B. brongniartii* علي ٣ أجزاء بروتينية لا توجد في *B. bassiana* كما تحتوي فطرة *B. bassiana* علي جزء بروتيني واحد لا يوجد في *B. brongniartii*.

ب- تم فصل بروتين فطرة *M. anisopliae* إلي ٥ أجزاء بروتيلية أما بروتين فطرة *M. flavovridae* تم فصله إلي١١ جزء بروتيني.

يمكن أيضاً تمييز هاتين الفطرتين عن بعضهما البعض بوجود أجزاء بروتينية في كلاً منهما لا توجد في الأخر فمثلاً تحتوي فطرة *M. anisopliae* علي ٢ جزء بروتيني لا توجد في *M. flavovridae* كما تحتوي فطرة *M. flavovridae* علي ٨ أجزاء بروتينية لا توجد في فطرة *M. anisopliae* .

ج- تم فصل بروتين فطرة *P. farinosus* إلي ٤ أجزاء بروتينية.

لجنة الإشراف

جامعة بنها- كلية العلوم

فسم النبات

اسم الباحث : ياسمين السيد احمد السيد

اسم الرسالة :

دراسات جزيئية علي بعض الفطريات الممرضة للحشرات

السادة أعضاء اللجنة

الاسم	الوظيفة	التوقيع
١-أ.د/ حسن قاسم بخيت	أستاذ المبيدات ورئيس وحدة المكافحة الحيوية مركز البحوث الزراعية	
٢-د/ طلعت ابراهيم السيد	أستاذ مساعد الميكروبيولوجي – كلية العلوم جامعة بنها	
٣-د/ محمود مصطفي عامر	أستاذ مساعد الميكروبيولوجي – كلية العلوم جامعة بنها	
٤-د/ صلاح علي مصطفي	أستاذ مساعد البيولوجيا الجزيئية مركز البحوث الزراعية	

لجنة الحكم والمناقشة

جامعة بنها- كلية العلوم

قسم النبات

اسم الباحث : ياسمين السيد احمد السيد

اسم الرسالة :

دراسات جزيئية علي بعض الفطريات الممرضة للحشرات

السادة أعضاء اللجنة

الاسم	الوظيفة	التوقيع

قرار لجنة الحكم و المناقشة

دراسات جزيئية على بعض الفطريات الممرضة للحشرات

رسالة

مقدمه من الطالبة

ياسمين السيد أحمد السيد

٢٦٥

إلى

قسم النبات والميكروبيولوجى

كلية العلوم - جامعة بنها

للحصول على درجة الماجستير فى

الميكروبيولوجى

تحت إشراف

ا. د . حسن قاسم بخيت

أستاذ المبيدات ورئيس وحدة المكافحة

الحيوية بمعهد بحوث وقاية النباتات

مركز البحوث الزراعية

د. طلعت ابراهيم السيد

أستاذ مساعد الميكروبيولوجى

كلية العلوم – جامعة بنها

د. محمود مصطفى عامر

أستاذ مساعد الميكروبيولوجى

كلية العلوم - جامعة بنها

د. صلاح على مصطفى

أستاذ مساعد البيولوجيا الجزئية

للميكروبات

معهد بحوث الهندسة الوراثية

مركز البحوث الزراعية