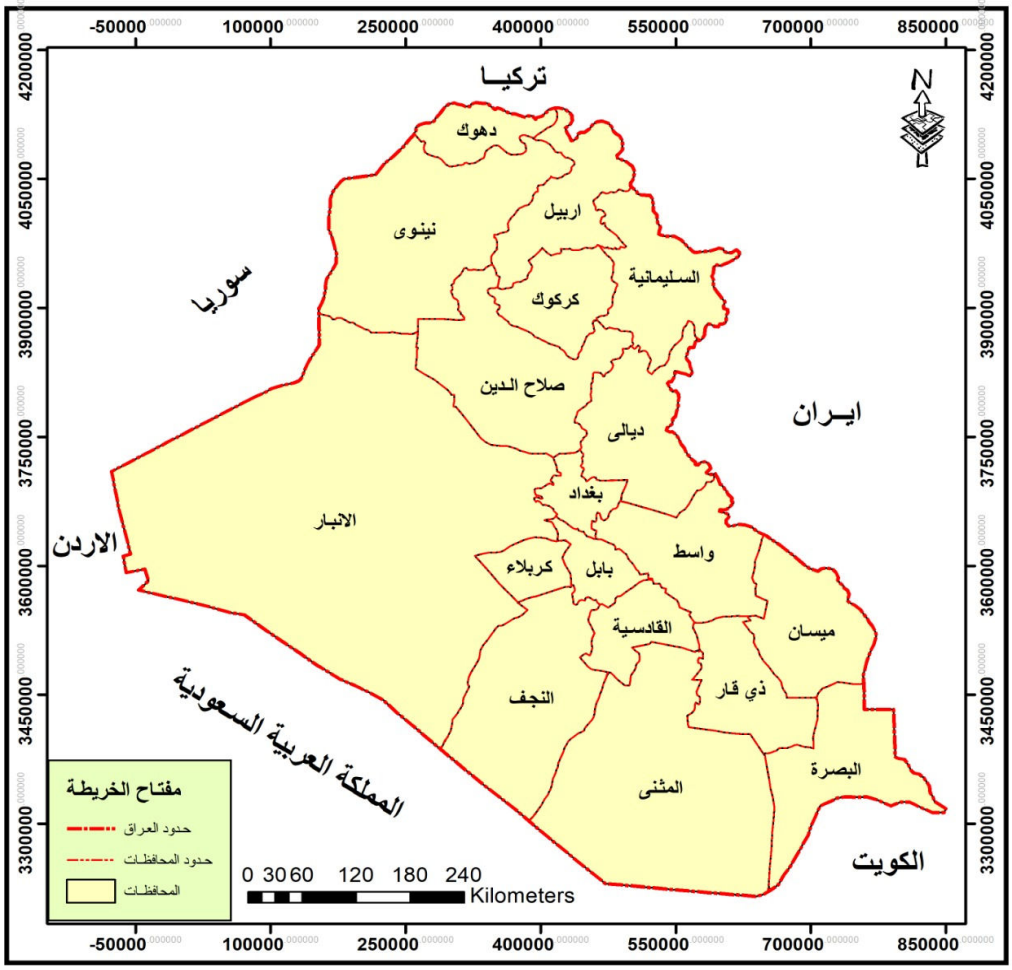
الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

MATERIALS AND METHODS

3-1. الدراسة المختبرية

نفذت في مختبرات دائرة البحوث الزراعية، وزارة العلوم والتكنولوجيا – بغداد - جمهورية العراق، خلال 2019، كما مبين في (شكل1).



شكل 1. خارطة العراق مؤشر عليها جميع المحافظات، منطقة العمل في المختبر الواقعة في محافظة بغدادحسب برنامج ARC GIs10.9.

3-1-1. تربية الحشرة مختبرياً

جمعت يرقات مختلفة الاعمار من حقول الذرة الصفراء (شكل 2) في محافظة صلاح الدين في الجزء الشمالي من منطقة السهل الرسوبي حيث تقع حدود البحث في ناحية الاسحاقي (100 كم شمال بغداد) عند الاحداثيات E 44º1ʻ45.9696 N 34º2ʻ51.1044 وذلك بحسب نظام تحديد المواقع العالمي Global Positioning System (GPS) نقلت اليرقات الى المختبر وفرزت حسب الاطوار و وضعت داخل علب بلاستيكية حجم 500 مل وغذيت بقطع من نبات الذرة الصفراء صغيرة العمر تستبدل دوريا كل يومين وعند الحاجة (شكل 3) وذلك تحت ظروف المختبر للحصول على الطور اليرقي الخاص بتنفيذ التجربة.

3-1-2- المواد المستخدمةفي التجربة:

3-1-2-1-المبيدات الاحيائية.

للحد من اضرار هذه الحشرة استعملت المستحضرات التالية: الفطر *Beauveriabassiana* والبكتريا *Bacillus thuringiensis*والنيماتودا*Rhabditisblumi*

3-1-2-1-1-الفطر:*Beauveriabassiana*

المستحضر الفطري *B. bassiana* عبارة عن مغلف (باودر) تم الحصول عليها من الدكتور سلام من دائرة وقاية المزروعات - وزارة الزراعة- جمهورية العراق (أتصال شخصي).

3-1-2-1-2-البكتريا *Bacillus thuringiensis*

يكون المستحضر البكتيري*B. thuringiensis* عبارة عن مغلف (باودر)، تم الحصول عليها من الدكتور سلام من دائرة وقاية المزروعات - وزارة الزراعة- جمهورية العراق (أتصال شخصي). الشركة المنتجة، مختبرات راجان - الهند.

نسبة المادة الفعالة (1×10^9 سبور/غرم) 10 % W/W

نسبة المادة الخاملة 90% W/W

3-1-2-1-3.النيماتودا. *Rhabditisblumi*

تم الحصول على عينة النيماتودا*R.blumi* من قسم المكافحة الاحيائية، مركز المكافحة المتكاملة للافات، دائرة البحوث الزراعية، وزارة العلوم والتكنولوجيا، جمهورية -العراق.

3-1-2-2.المبيدات ذات الأصل الطبيعي

للحد من تلوث الغذاء والبيئة بالمبيدات الكيميائية تم استخدام المستخلصات النباتية التالية.

3-1-2-2-1. مستخلصالنيم:Azadirachtin

أنتاج شركة روسيللادارة المتكاملة للافات (شركة بريطانية) من الأوراق.

3-1-2-2-2. اليفو Levo 2.4 SL

مبيد ليفومبيد حشري عضوي المادة الفعالة % Oxymatrine 2.4أوكسيماترينمن انتاج شركة، Sineria (القبرصية)،هو مستحضر مستخرج من عدة نباتات طبية مادته الفعالة تعمل على الجهاز العصبي للحشرات الضارة حيث يؤثر على عملية التنفس واختلال الحركة، لايحتويليفو على أي مواد كيميائية وهو غير سام للانسان والحيوان ولايتركمتبقيات تؤثر على البيئة يصنف ليفو حسب Grad AA على صعيد صداقة البيئة (اللجنة الوطنية لتسجيل واعتماد المبيدات،2018).

3-1-2-2-3متركسين بلص: Matrixine Plus

المادة الفعالة: Abamectin 5%ابامكتين + Oxymatrin 2.4%من انتاج شركة، Russell (البرطانية) (اللجنة الوطنية لتسجيل واعتماد المبيدات ،2018) درجة السمية: II حسب منظمة الصحة العالمية WHOمتوسط الخطورة. طريقة عمل مبيد ماتركسين بلص ECيعمل بالملامسة ويؤثر على الحشرات الكاملة واليرقات يعمل على شلل الحشرة موتها وله تأثير على الجهاز الهضمي للحشرة حيث يمنعها من تناول الطعام مما يودي إلى قتل الحشرة وهو من المبيدات الحشرية البيولوجية للسيطرة على الافات الحشرية يحتويعلى مادة الابامكتين الناتجة من عملية التخمير لبعض أنواع بكتريا التربة بالاضافه إلى مادة اوكسميترين وهو مركب بشكل طبيعي وجد في جذور نبات الصفورة*SophoraFlavescens* يحتوي المركب على تأثير مضاد قوي وكذلك سمية لبعض الآفات الحشرية لحماية المحاصيل

والمساعدة في السيطرة على بعض الإصابات من رتبة حرشفية الأجنحة والحشرات الماصة (القيسي،2018).

3-1-2-3. المبيدات الكيميائية

3-1-2-3-1اكتارا: Actara 25 EC

وهو من المبيدات النيكوتينية العضوية

المادة الفعالة: - ثيامثوكزام 25% Thiamethoxam

نسبة المادة الفعالة: 250 غم / لتر

مجموعة الكيميائية :Neonicotinoidوهو مصنف ضمن IIIClassحسب WHO

الشركة المنتجة: من انتاج شركة Syngentaالسويسرية.

التركيب الجزيئي: ($C_8H_{10}ClN_5O_3S$) التركيب الكيميائي (شكل 4)

3-1-3.أختبار فاعلية المبيدات الاحيائيةعلى يرقات حفار ساق الذرة *Sesamia cretica*:

3-1-3-1. نفذت التجربة بطريقتين وهما الرش المباشر والرش غير المباشر

3-1-3-1-1. تجربة الرش المباشر:

نقلت 5 يرقات حفار ساق الذرة في مرحلة الطور الرابع الى كل طبق بتري في قاعدته ورقة ترشيح عليها 5 مل من المبيد الاحيائيالفطر *B. bassiana*والبكتريا *B. thuringiensis* واستخدمت بثلاث تراكيز 2، 4 و6 غم /لتر ماء (جدول 2) واستعملت 5 اطباق (مكررات) لكل تركيز فحصت الاطباق دوريا كل 24 ساعة وحسبت نسبة الموت لكل تركيز لمدة 5 ايام

3-1-3-1-2.تجربة المعاملة غير المباشرة (معاملة الغذاء):

جهزت 60علب بلاستيكيةحجم الواحد 500 مل وضع بداخل كل منها قطع من نبات الذرة الصفراء (54) طبق منها لاغراض المعاملة و6 علبلاغراض المقارنة ولكل علبة 5 يرقات حفار ساق الذرة الطور الرابع، رشت كل ثلاثعلب بالتراكيزالمذكوره أعلاه لكل معاملة، اما لمعاملة المقارنة رشت العلب بالماء فقط 5 مل لكل علبةلاغراض المقارنة، وتمت مراقبتها دوريا كل 24 ساعة شكل(5) لمدة 5 ايام.

3-1-4. أدامةواكثار النيماتودا:

تم ادامة واكثار النيماتودا على العائل الطبيعي يرقات دودة الشمع *Galleria mellomela*جهزت من قبل قسم المكافحة الوراثية، دائرة البحوث الزراعية، وزارة العلوم والتكنولوجيا، (جمهورية - العراق) تحت تربية واكثار دودة الشمع مختبريا على الوسط الغذائي الاصطناعي المذكورة مكوناته في الجدول (5)، خططت المكونات جيدا وتوضع كمية منها في علب بلاستيكية حجم (5) لتر حتى مستوى النصف وتنقل اليها يرقات دودة الشمع، غلقت فتحات العلب بقطع من قماش الململ وتراقب حتى الوصول الى البالغات، سحبت البالغات ووضعت لوحدها في علب بلاستيكية فيها قطع قماش وذلك للحصول على البيض، جمع البيض دوريا ويوضع على العلب التي تحتوي الوسط الغذائي المشار اليه في اعلاه وذلك للحصول على اليرقات التي تستعمل لاكثارالنيماتودا.

3-1-5. تهيئة مستحضر النيماتودا:

وضعت مجموعة يرقات دودة الشمع في اطباق بتري بقطر 9 سم واجريت لها عدوى اصطناعية بالنيماتودا التي تحتوي اطوارا مختلفة وتراقب يرقات النيماتودا وتترك لمدة يومين، تنقل اليرقات وتوضع فوق طبق بتري مقلوب (قطر 9 سم) موضوع فوقه ورقة ترشيح (فلتر) هذا الطبق موضوع داخل طبق اكبر منه (قطر 15 سم) يرطب ورق الترشيح بالماء المقطرويوضع قليلا من قطرات الماء في قاع الطبق الكبير عندها تنزل الاطوار المعدية للنيماتودا في قاع الطبق الكبير ويستعمل السائل الذي يحتوي الاطوار المعدية infective juveniles (IJs) كما مبين في (شكل 6) لغرض استعماله في تنفيذ تجارب اختبار كفاءة النيماتودا في قتل يرقات حفار ساق الذرة.

3-1-6. أختبار فاعلية النيماتودا*Rhabditisblumi*على يرقات حفار ساق الذرة *Sesamia cretica*:

3-1-6-1. نفذت التجربة بطريقتين وهما الرش المباشر والرش غير المباشر

3-1-6-1-1. تجربة الرش المباشر:

نقلت 5 يرقات حفار ساق الذرة في مرحلة الطور الرابع الى كل طبق بتري في قاعدته ورقة ترشيح عليها 5 مل من مستحضر النيماتودا وبثلاث تراكيز 50، 100 و150 طور معدي (IJs) من النيماتوداكررت التجربة خمسة مرات لكل تركيز وكررت التجربة 5 مراتلاتحتوي

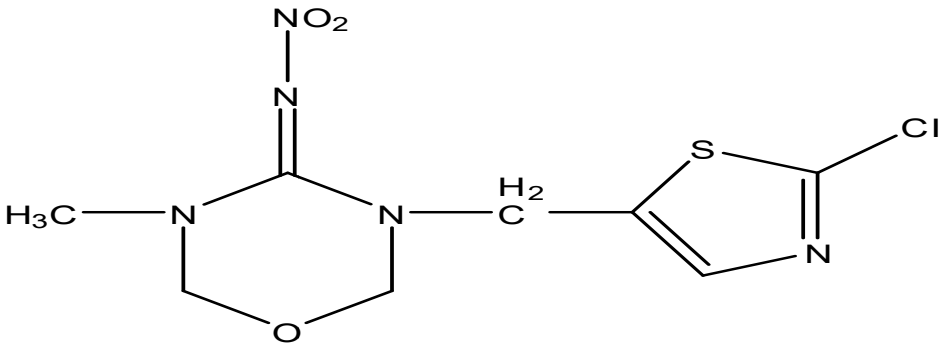
مستحضر النيماتودا فيها ماء مقطر فقط (استعمل 15 طبق لاغراض المعاملة وخمس اطباق لاغراض المقارنة). فحصت الاطباق دوريا كل 24 ساعة وحسبت نسبة الموت لكل تركيز (شكل 7)لمدة 5 ايام.

3-1-6-1-2. تجربة المعاملة غير المباشرة (معاملة الغذاء):

جهزت 20 طبق بتري قطر 9 ملم وضع بداخل كل منها قطع من نبات الذرة الصفراء منها 15 طبق لاغراض المعاملة و5 اطباق لاغراض المقارنة، رشت كل ثلاث اطباق (مكررات لكل تركيز) من اطباق المعاملة بكمية 5 مل للطبق الواحد من مستحضر النيماتودا بالتراكيز 50، 100، 150 طور معدي (IJs)، ورشت الخمس اطباق الاخرى (مكررات) بالماء فقط 5 مل لكل طبق لاغراض المقارنة. نقلت 5 يرقات بالطور الرابع لكل طبق، وتمت مراقبتها دوريا كل 24 ساعة (شكل 8)، من ذلك حسبت نسبة الموت لكل تركيز في المعاملة باتباع المعادلة التالية.

شكل2. جمع وتربية يرقات حفار ساق الذرة *Sesamia cretica* بعد الحصول عليها من الحقل.

شكل 3. التربية المختبرية ليرقات حفار ساق الذرة *Sesame cretica*.



شكل 4. التركيب الكيميائي لمبيد Actara

شكل 5. معاملة يرقات حفار ساق الذرة *Sesamia cretica*بالطريقةغيرالمباشرة (معاملة الغذاء).

شكل 6.طريقة الحصول على الاطوار المعدية infective juveniles (IJs)للنيماتودا *Rhbditis. blumi*.

شكل 7. معاملة يرقات حفار ساق الذرة *Sesamia cretica*بالنيماتودا *Rhabditisblumi* بالطريقة المباشرة.

شكل 8. معاملة يرقات حفار ساق الذرة *Sesamia cretica*بالنيماتـــودا *Rhabditisblumi* بالطريقةغيرالمباشرة (معاملة الغذاء).

جدول 2. المبيدات المستخدمة في مكافحة يرقات حفار ساق الذرة *Sesamia cretica*.

ت	المعاملات	المادة الفعالة	الشركة المنتجة والبلد
1	*Beauveriabassiana*	*Beauveriabassiana*	عزلة محلية (دائرة وقاية المزروعات) العراق
2	*Bacillus thuringiensis*	*Bacillus thuringiensis*	مختبرات راجان / الهند
3	Zadirachtin	Azadirachtin	(شركة روسيلابريطانية)
4	Levo	Oxymatrine	Sineria (القبرصية)
5	Matrixine Plus	Oxymatrin+ Abamectin	Russell (البرطانية)
6	Actara	Thiamethoxam	Syngenta (السويسرية)

جدول 3.مكونات الوسط الغذائي الاصطناعي المخصص لتربية واكثار دودة الشمع *Galleria mellomela* بحسب Ahmed 1986.

المواد	الكمية المستخدمة / كغم
جريش ذرة ناعم	810 غم
دبس	60 غم
خميرة	10 غم
كليسيرين	120 غم
المجموع	1000 غم

2-3 الدراسة الحقلية:

نفذت في موقعين مختلفين في محافظة صلاح الدين – جمهورية العراق الموقع الأول في قضاء بلد حسب الاحداثيات E 44º8ʻ53.8476 N 34º0ʻ27.4392 وذلك بحسب نظام تحديد المواقع العالمي Global Positioning System (GPS) اما الموقع الثاني في ناحية الاسحاقي عند الاحداثيات E 44º6ʻ07.6644 N 34º2ʻ53.4228.

1-2-3 اجراء مسح لمحافظة صلاح الدين:

تم اجراء مسح لحقول الذرة الصفراء *Zea mays*في اقضية محافظة صلاح الدين- جمهوريةالعراق، خلال العروة الخريفية (اعتماد العراق على العروة الخريفية)، اخذت نسبة الإصابة حسب عدد الثقوب الموجودة في الأوراق والساق، كما مبين في (شكل 9)، نسب الإصابة في جميع اقضية محافظة صلاح الدين- العراق لـــ عام 2019.

2-2-3. المكافحة باستخدام المبيدات الطبيعية:

1-2-2-3 موسم الربيع:

تم اعداد حقل الذرة الصفراء للموسم الربيعي للعام 2019 في محافظة صلاح الدين/ قضاء بلـد/ جمهوريـــة العـــراق(75 كم شمال بغداد) عنـــد الاحداثيـــات E 44º8ʻ53.8476 N 34º0ʻ27.4392 وذلك بحسب نظام تحديد المواقـــع العالمـــي Global Positioning System (GPS)وتم تقسيم الحقل الى الواح متساوية أبعاد والالواح،وتمت حراثة التربة باستعمال المحراث القلاب،وتم تسوية التربة بمحراث التسوية، للعام 2019-2020 باستخدام تصميم القطاعات العشوائية الكاملة C.R.B.D، وبإتباع كافة الطرائق الزراعية الموصي بها لزراعة المحصول من حراثـة وتنعيـــم وسقـــــي وتعشيب (اليونس،1993). وزعت بذور الذرة الصفراء بثلاثة أصناف هي (المسرة، الديار، الربيع) في منتصف شهر مارس2019/3/15، وتم زراعة البذور على خطوط المسافة بينهما 75سم والمسافة بين بذرة وأخرى 20سم.

بدأ زراعة في 2019/3/15 بعد مرور اسبوع من البزوغ تم اجراء عملية الترقيع في الحقل، لكي لاتصبح فروق بين النباتات، وكانت نسبة الانبات 90%، بعد مرور ثلاثة اسابيع من زراعة الذرة وصل ارتفاع النبات الى 20 - 15سم2019/4/6تحتاول معاملة الحقل بشكل كامل بالمبيدات المستخدمة في التجربة،حيث تم اجراء عملية المكافحة كافة المواد المستخدمة

المبيدات الاحيائية *B.bassiana* و*B. thuringiensis* عند تركيز 6 غم/لتر، امانيماتودا Rhabditisblumi استخدم تركيز 150 طور معدي/مل في 1/لتر، اما المبيدات ذات الأصل النباتي (مستخلص النيم، اليفو، متركسين بلص) عند التركيز 1 مل/لتر، والمبيد الكيميائي اكتارا عند التركيز 1 مل/لتر، أجريت المكافحة عند وقت غروب الشمس حتى انخفاض درجة الحرارة، وبعد إن اجراء عملية المكافحة ومرورشهر تم اخذ القراءة الثانية،حتى شهر يونيو 2019/6/7.

أ- تقدير النسب المئوية للإصابة بحشرة حفار ساق الذرة بعد الاسبوع الثالث من الانبات عن طريق حساب اعداد النباتات التي تظهر عليها اعراض الإصابة بالحفار المعروفة وعن طريق وجودالثقوب متوازية عرضياً على نصل الورقة ووجود اثار تغذية اليرقات تقدير الإضرار التي تسببها الحشرة على النباتات المزروعة في الحقل.

تقييم كفاءة الفطر *Beauveriabassiana* وبكتريا *BacillusthuringinsisVar*Kurstaki والمتطفل *Trichogramma spp* والمفترس Coccinella septempunctata L. والفرموناتومصيدة جاكسون والمستخلصات النباتية والمبيدات ذات الأصول النباتية والمبيدات النيكوتينية العضوية وتوافقها على اطوار حفار ساق الذرة حقليا وفق المعاملات، من ذلك حسبت نسبة المئويةللموت لكل في المعاملة باتباع المعادلة هندرسنوتلتنالتالية.

$$\text{Corrected \%} = \left(1 - \frac{\text{n in Co before treatment} * \text{n in T after treatment}}{\text{n in Co after treatment} * \text{n in T before treatment}}\right) * 100$$

3-2-2-2. الموسم الخريف:

تم اعداد حقل الذرة الصفراء للموسم الخريفيللعام 2019 في محافظة صلاح الدين / قضاء بلد / ناحية الاسحاقي –جمهورية العراق (100 كم شمال بغداد) عند الاحداثيات E 44º6ʹ07.6644 N 34º2ʹ53.4228 وذلك بحسب نظام تحديد المواقع العالمي Global Positioning System (GPS)،(شكل 10)،وتم اجراء تهيئة الحقل واجراء كافة العمليات الزراعية كما في العروة الربيعية. وزعت بذور الذرة الصفراء في منتصف شهر يوليو2019/7/15، بعد مرور اسبوع من البزوغ تم اجراء عملية الترقيع في الحقل،لكي

لاتصبح فروق بين النباتات، وكانت نسبة الانبات 90%، بعد مرور ثلاثة اسابيع من زراعة الذرة وصل ارتفاع النبات الى 20 - 15سم2019/8/6بعد وصول الإصابة بحفار ساق الذرة الى الحد الاقتصادي الحرج تمتاول معاملة الحقل بشكل كامل بالمبيدات المستخدمة في التجربة، وتم اجراء عملية المكافحة عند وقت غروب الشمس حتى انخفاض درجة الحرارة، وبعد إن اجراء عملية المكافحة تم اخذ القراءات كل شهر، حتى شهر اكتوبر 2019/10/20.

3-2-3. المكافحة باستخدام الأعداء الحيوية:

3-2-3-1.مفترس(أبو العيد–الدعسوقة) *Coccinella septempunctata* L.تم الحصول علية من مختبرات دائرة البحوث الزراعية، وزارة العلوم والتكنولوجيا – بغداد – (جمهورية- العراق) دكتور محمد زيدان خلف.

تم إطلاق المفترس .*C. septempunctata* L بعد الأسبوع الثالث من الزراعة حيث كان طول النبات بين 10-20سم حيث وضع ثلاثة من المفترس في قلب النبات لكلا الزراعتين، كما مبين في (شكل 11).

3-2-3-2. المتطفل *Trichogrammaspp*

تم الحصول علية من مختبرات دائرة البحوث الزراعية، وزارة العلوم والتكنولوجيا – بغداد - جمهورية العراق دكتور محمد زيدان خلف.

3-2-3-2-1.متطفل في الطبيعة *Trichogramma*

تم إطلاق المتطفل *Trichogramma* بعد الأسبوع الثالث من الزراعة حيث بلغت طول النبات تتراوح بين 10-20سم حيث تم تقسيم الشريط الذي يحمل بيض المتطفل الى عدة قطع صغيرة، حيث وضعت القطع في قلب النبات وكررت العملية كل يومين لغاية لضمان بقاء المتطفل داخل النبات كما في (شكل 12-13)

3-2-3-2-2.متطفل محمي *Trichogramma SPP*

حيث أطلق المتطفل بنفس الخطوات أعلاه داخل ضلة محمية من درجات الحرارة العالية وكذلك الحفاض على بقاء المتطفل داخل النبات، كما مبين في (شكل 14)

3-2-4. المكافحة باستخدام المصائد:

3-2-4-1.الفرمون

تم الحصول علية من مختبرات دائرة البحوث الزراعية، وزارة العلوم والتكنولوجيا – بغداد - جمهورية العراق دكتور محمد زيدان خلف.

الفرمون خاص في حشرات حفار ساق الذرة *Sesamia cretica*

3-2-4-2. المصايد:

ويقصد بها الهيكل المستخدم على المادة الجاذبة سواء كانت فرمونية أو غذائية وتعتبر من أهم وسائل التنبؤ عن المجتمعات الحشريةويمكنإستخدامها في عمليات المكافحة (دندل، 2008)

3-2-4-3. مصائد جاكسون:

وهي مصيدة مصنوعة من الورق المقوى (الكرتون) المغطي بمادة شمعية لمنع تلف الورق سريعاًويتمثنيهاعلى شكل هرمي وتوضع على القاعدة من الداخل قطعة أخري من الورق المقوى مغطاة بمادة لاصقة قويةويعلق في أعلاها من الداخل فتيل قطني مشبع بالمادة الجاذبة الجنسية، تم الحصول عليها من مديرية العامة الزراعة في محافظة صلاح الدين –(جمهورية العراق).

3-2-4-3-1.مصيدة جاكسون تحتوي على الفرمون:

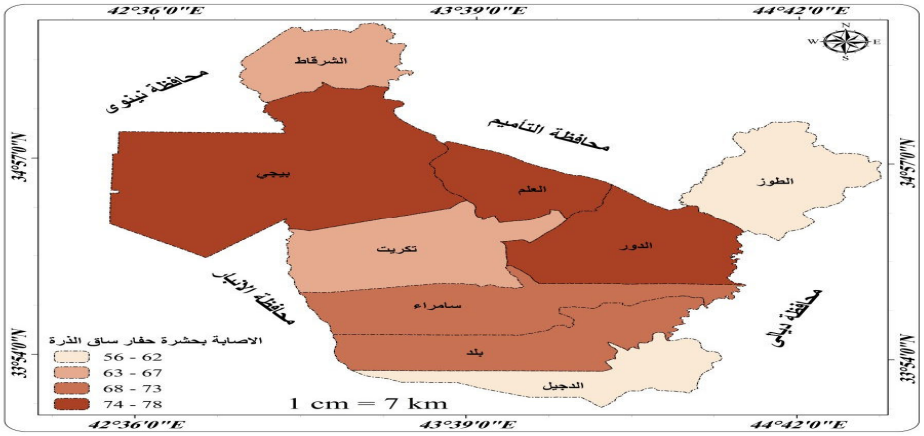
تم وضع المصيدة على ارتفاع (50 سم) التي تحتوي في داخلها مادة صمغية بداخلها الفرمون داخل حقل الذرة الصفراء قبل عملية الانبات وتم مراقبة الصيد الحشرات كل أسبوع كما في (شكل 15)

3-2-4-3-2. مصيدة جاكسون طبيعية:

لعمل طعم طبيعي داخل مصيدة جاكسون وضعت عذارى (ذكور – اناث) في الأيام الأخيرة من تحولها الى حشرة بالغة من حشرة حفار ساق الذرة داخل اتيوب(فيال) ابلاستيكي مفتوح الجانبين، حيث سدة الجانبين بواسطة قطع شماش (ململ)وثبتت بالمطاط، ومراقبتها يوميا لغاية تحولعا الى بالغات ووضعها في داخل مصيدة جاكسون، مراقبة المصيدة أسبوعيا لمعرفة الانجذاب اليها. كما مبينا في (شكل 16)

4-2-3. التحليل الاحصائي:

حللت البيانات احصائيا حسب التصاميم التجريبية المستخدمة في التجارب، اذ صممت التجربة المختبرية باستخدام التصميم العشوائي الكامل Complete Randomized Design (CRD)، اما التجربة الحقلية فصممت وفق تصميم القطاعات العشوائية Randomized Complete Block Design (C.R.B.D)، واختبرت المتوسطات بطريقة دنكن Duncan Multiple Range Teste عند مستوى احتمال 0.05 باستخدام برنامج التحليل الاحصائي Statistical Analysis System 2009(SAS، 2010).



شكل 9 - خارطة محافظة صلاح الدين – جمهورية العراق مبينا عليها نسبة الإصابة بحفار ساق الذرة *Sesamia cretica* حسب برنامج ARC GIs10.9

شكل 10- الحقل الذرة الصفراء *Zea mays*

شكل 11. إطلاق مفترس *Coccinellaseptempunctata* L. في حقل الذرة الصفراء *Zea mays*

(ب) (أ)

شكل12- (أ). متطفل*Trichogrammaspp*تحت المجهر(ب)وضع بيض المتطفل في قلب النبات الذرة الصفراء *Zea mays*.

شكل 13. بعض المعاملات في حقل الذرة الصفراء *Zea mays*

شكل 14.المعاملة المحمية بالمتطفل *Trichogrammaspp*

شكل 15. مصيدة جاكسون عند صيد بالغات حشرة حفار ساق الذرة *Sesamia cretica*

شكل 16. انثى عذراء حشرة حفار ساق الذرة داخل مصيدة جاكسون *Sesamia cretica*