اختبار فاعلية عزلات بكتريا *Bacillus thuringiensis* (Berliner) على الأطوار اليرقية لحشرة عثة التين *Ephestia cautella* (Walker)

حذام صالح بلاسم* أياد أحمد الطويل* باسم شهاب حمد* مها اسماعيل جاسم*

استلام البحث 20، كانون الاول، 2012
قبول النشر 8، اذار، 2014

الخلاصة:

بينت النتائج تأثير التخافيف5×10^{-1} ، 10^{-1}،10^{-2} ، 10^{-3}غم/لتر للعزلتين المحلية و التجارية لبكتريا *Bacillus thuringiensis* المستعملة بطريقة ورق الترشيح المشبع ضد الأطوار اليرقية لحشرة عثة التين إن نسبة هلاك الأطوار اليرقية تزداد كلما ازداد تركيز المبيد البكتيري كما وتزداد نسبة هلاك اليرقات في اليوم الثالث مقارنة باليومين الأول والثاني من المعاملة ، كما بينت النتائج إن حساسية اليرقات تقل كلما تقدمت اليرقات في العمر حيث إن يرقات الطور الأول أكثر الأطوار اليرقية حساسية للتراكيز البكتيرية المستعملة ويرقات الطور الخامس أقلها حساسية .فكان أعلى معدل لهلاك يرقات الطور الأول للعزلة المحلية عند التركيز5×10^{-1} هي 72.8% مقارنةً بمعدل هلاك يرقات الطور الخامس عند التركيز نفسه وهي 13.3% وكان ذلك في اليوم الثالث من المعاملة . وبلغ أعلى معدل لهلاك يرقات الطور الأول للعزلة التجارية عند التركيز 5×10^{-1} وهو 59.4% مقارنةً بمعدل هلاك يرقات الطور الخامس عند التركيز نفسه وهو (8.3%) في اليوم الثالث من المعاملة . كما تبين تفوق العزلة المحلية لبكتريا B.t في قتل الأطوار اليرقية لحشرة عثة التين *Ephestia cautella* على العزلة التجارية حيث كان معدل هلاك الأطوار اليرقية بعد ثلاثة أيام من المعاملة وعند التركيز5×10^{-1} هو 44.5% و 33.8% للعزلتين المحلية والتجارية على التوالي.

الكلمات المفتاحية : *Bacillus thuringiensis* ، حشرة عثة التين

المقدمة :

شهد العالم خلال العقدين الأخيرين اهتماماً متزايداً بالعوامل الاحيائية كوسائل لمكافحة الآفات الحشرية ذات الاضرار الاقتصادية بهدف ترشيد استخدام المبيدات الكيميائيه التي اصبحت خطراً يهدد صحة الانسان وبيئتة فضلاً عن تطور مقاومة العديد من الآفات الحشرية لمثل تلك المبيدات الكيميائية نتيجة الاستعمال العشوائي والمتكرر [1]. تتضمن المكافحة الاحيائية استخدام كائن حي سواء كان هذا الكائن مفترساً (predator) او متطفلاً parasitoid) او ممرضاً (pathogen) لغرض السيطرة او القضاء على كائن حي آخر ضار إذ تنتشر في الطبيعة العديد من انواع الكائنات الحية التي تعد من الاعداء الطبيعية للحشرات الضارة ومن ضمنها الممرضات والمفترسات والمتطفلات التي تقوم بخفض او الاقلال من اعداد بعض الآفات الحشرية بصورة طبيعية. ونتيجة لامتلاك البكتريا *B. thurigiensis* القدرة على انتاج البلورات البروتينية والتي تكون مسؤولة عن صفة السمية للحشرات حيث تنتج هذه البكتريا الكثير من عوامل الضراوه مثل Vegitative insecticidal protein (vip), Delta-endotoxine, hemolysin , chitinase والتنوع في انتاج هذه العوامل مختلف جداً بين الانماط المصلية العائدة لبكتريا *B. thurigiensis* ، وأحياناً تختلف بين العزلات العائدة للنمط المصلي نفسه [2] . لذا ركزت البحوث حول هذا النوع البكتيري لاجل استخدامه في مجال السيطرة البيولوجية بوصفها مبيداً للآفات الزراعية.

المواد وطرائق العمل:

1-مصدر الحشرة

استخدمت في هذا البحث حشرة عثة التين *E.cautella* المربأة في مختبر الحشرات /مركز المكافحة المتكاملة/قسم المكافحة الوراثية التابعة إلى دائرة البحوث الزراعية /وزارة العلوم والتكنولوجيا، على وسط غذائي إصطناعي مكون من 81% حنطة مجروشة، 12% كليسيرين، 6% دبس، 1% خميرة جافة [3] .ولإكثار هذه الحشرة بشكل موسع تكفي لإجراء التجارب الخاصة بهذه الدراسة وضع 250 غرام من الغذاء الأصطناعي داخل عدة قناني بلاستيكية معقمة قطرها 11سنتيمتر وارتفاعها 12سنتيمتر وأطلق فيها 25 زوجاً من بالغات الحشرة الاناث والذكور (حيث يمكن تمييز الذكر بوجود مقبض في النهاية البطنية في اعضاء التناسل مكعب الشكل مع وجود سن بارز قصير عليه، أما الانثى فتتميز بوجود آلة وضع البيض دائرية الشكل في النهاية البطنية لها) وذلك بعمر 24 ساعة ثم غطيت فوهات هذه القناني بغطاء بلاستيكي في منتصفه فتحة قطرها 2 سنتيمتر لغرض التهوية

*وزارة العلوم والتكنولوجيا/ دائرة البحوث الزراعية /مركز المكافحة المتكاملة بغداد / العراق

مغطاة بقماش الموسلين. ثم وضعت داخل حاضنة درجة حرارتها 25 ± 2 مْ ورطوبتها النسبية 60-70% ومدة إضاءة (ضوء: ظلام) 8 : 16 ساعة ولمدة خمسة وعشرون يوماً ليصل البيض الذي ألقته إناث الحشرات إلى الطور اليرقي الأخير حيث تلاحظ بحالة تجوال على جدران القناني لغرض التهيؤ للتعذر. تجمع اليرقات عادة في هذه المرحلة وتنقل إلى قناني زجاجية معقمة بالأبعاد نفسها التي ذكرت أعلاه تحوي بداخلها قطن مبثوث لتعذر اليرقات ثم للحصول على حشرات بالغة فيما بعد وهكذا تستمر التربية لأجيال متعاقبة .

2- المعاملات البكتيرية المستخدمة في هذه الدراسة:-

1-المبيد البكتيري التجاري (*Bacillus thuringiensis* kurstaki) والمجهز من قبل (Dr.Rajan laboratories) .

2-عزلة محلية لبكتريا *Bacillus thuringiensis* .

عزل بكتريا *Bacillus thuringiensis* من يرقات مصابة:-

جمعت عينات من اليرقات المصابة (المسودة) الميتة التي تعود الى حشرة عثة التين *E.cautella* .عقمت اليرقات المعزولة تعقيماً سطحياً (Surface Sterilization) ، وذلك بوضع اليرقات في طبق بتري معقم ثم وضعت في كحول 70% لمدة عشر ثوان ونقلت اليرقات الى طبق بتري معقم آخر فيه ماء مقطر وبعدها نقلت الى طبق بتري معقم فيه سائل القاصر هايبوكلورات 10% (NaClO) Sodium hypochlorite مدة دقيقة، ثم نقلت الى طبق بتري معقم اخر وغسلت بالماء المقطر المعقم وغير الماء لثلاث مرات وأخيراً وضعت على ورق ترشيح معقم لحين جفافها للتخلص من المسببات الاخرى لموت اليرقة، ومن البكتريا الموجودة على الجسم الخارجي لليرقة. قطعت اليرقات المعقمة بوساطة مشرط معقم في اطباق بتري معقمة بقطر 9 سم بعد اضافة (1 مل) من الماء المقطر لكل 3 يرقات ثم سحب السائل بوساطة سرنجة معقمة وحقن في وسط زرعي Nutrient agar المخصص لنمو بكتريا *Bacillus thuringiensis* [4]. وضعت الأطباق في حاضنة درجة حرارتها 37° م ولمدة 24 ساعة. واستعمل وسط MacConky Agar للتأكد من نقاوة البكتريا، ثم فحصت المستعمرات النقية النامية ودرس حجم المستعمرة وشكلها وحافتها ولونها وصبغت بصبغة كرام Gram stain لتشخيصها.

طبقت فرضية كوخ للتأكد من امراضية البكتريا المعزولة Pathogenicity من خلال تلويث الوسط الاصطناعي الذي تتغذى عليه يرقات عثة التين *E.cautella* وملاحظة الاعراض المرضية التي تظهر على اليرقات المصابة ثم أخذت عينات وأعيد زرعها في وسط زرعي Nutrient agar لإجراء الاختبارات المظهرية والكيميوحيوية التشخيصية.

تشخيص العزلة الممرضة:-

اجريت الاختبارات التشخيصية لبكتريا *Bacillus thuringiensis* اعتماداً على طريقتي (Buchanan &Gibbons) [5].

- اختبار Sulphide Indol-Motality S.I.M. وسط اكار شبه صلب Semi-Solid Agar يتضمن الاختبارات الاتية :-

. الحركة Motality

. انتاج غاز Hydrogen sulphide product H_2S

حضر وسط S.I.M. من إذابة 36 غم من المادة في لتر من الماء المقطر ووزع في انابيب اختبار ثم عقم في المؤصدة ثم ترك ليبرد ويصبح وسط شبه صلب، لقحت الانابيب بالعزلة البكتيرية المحلية بوساطة ناقل جرثومي Loop Bacteriological معقم عن طريق الطعن Stabbing ثم حضنت الانابيب عند درجة حرارة 37مْ مدة 24 ساعة. حيث تكون البكتريا قادرة على الحركة عند نموها في مسافات ابعد من خط زرعها. وانها بكتريا هوائية عند نموها على سطح الوسط ، وعند عدم تكون لون اسود في قعر الوسط فهي غير قادرة على انتاج غاز كبريتيد الهيدروجين H_2S [6 و 7] .

- اختبار تحليل خلايا الدم Blood cell haemolysis

حضر وسط اكار الدم Blood Agar من اذابة 28 غم من المادة في لتر ماء مقطر وعقم في المؤصدة ، صب في اطباق بتري معقمة ثم زرعت العزلة المحلية لبكتريا *Bacillus thuringiensis* المنقاة بطريقة التخطيط بوساطة ناقل جرثومي loop Bactriological وحضنت الاطباق عند درجة حرارة 37°م مدة 24 ساعة للتحري عن انزيم Haemolysin . تعطي البكتريا نتائج ايجابية في اختبار تحلل الدم إذ ظهرت مناطق فاتحة اللون حول المستعمرات النامية على وسط اكار الدم [5 و 7 و6] .

-اختبار الكاتاليز Catalase test

حضر وسط Nutrient Agar من اذابة 23 غم من المادة في لتر ماء مقطر وعقم في المؤصدة ثم صب في اطباق بتري معقمة، وزرعت العزلة المحلية لبكتريا *Bacillus thuringiensis* النقية بطريقة التخطيط بواسطة ناقل جرثومي loop Bactriologicalمعقم ثم حضنت الاطباق في درجة حرارة 25°م مدة 24 ساعة تم الاختبار بوضع قطرة من بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 3% المحضر حديثاً على شريحة زجاجية و اخذ جزءاً من المستعمرة النامية على الاكار المغذي

ومزجت مع بيروكسيد الهيدروجين ولوحظ في النتيجة الموجبة تكون فقاعات حيث ان انزيم الكاتاليز يحطم بيروكسيد الهيدروجين وينتج الأوكسجين الحر O_2 الذي يتحرر بشكل فقاعات اما عند عدم ظهور فقاعات فيعني ان النتيجة سالبة وان الجرثومة لا تنتج هذا الانزيم [8].

- اختبار حساسية البنسلين Penicillin susceptibility

أخذت مسحة قطنية (Cotton swab) من مزروع البكتريا *Bacillus thuringiensis* ونشرت على طبق يحتوي على وسط زرعي Nutrient Agar ثم وضع قرص بنسلين قطر (0.5 سم) بتركيز 10 وحدات دولية بوساطة ملقط معقم في وسط الطبق ، ثم حضن الطبق في درجة حرارة 37°م مدة 24 ساعة. تكون البكتريا مقاومة للمضاد الحيوي بنسلين من خلال نموها في المنطقة المحيطة بقرص البنسلين [7].

- اختبار تخمر الكلوكوز Glucose fermentation

حضر وسط المرق المغذي Nutrient broth من اذابة 13غم من المادة في لتر ماء مقطر مضافاً اليه 5% سكر الكلوكوز في انابيب اختبار، ثم ادخل انبوبة درهم Derhum tube ثم عقمت ولقحت الانابيب بمستعمرات نقية للعزلة المحلية لبكتريا *Bacillus thuringiensis* وحضنت في درجة حرارة 37°م مدة 24 ، ساعة وتم قياس حامضية الوسط بوساطة جهاز قياس الأس الهيدروجيني pH-meter. حيث عند تغير pH الوسط الى الحامضي، وتكون غاز Co_2 الذي نستدل عليه باستعمال انبوبة درهم يدل على تخمر سكر الكلوكوز Glucose في الوسط نتيجة الفعاليات الايضية للبكتريا [6 و 5] .

- صبغة كرام Gram stain

حضر وسط الاكار المغذي Nutrient Agar ، وصب في أطباق بتري معقمة ثم زرع الوسط بالعزلة المحلية لبكتريا *Bacillus thuringiensis* بطريقة التخطيط بوساطة ناقل جرثومي Bactriological loop معقم وحضنت الأطباق في درجة حرارة 37°م مدة 24 ساعة، ثم أخذت مسحة من المستعمرات النقية للبكتريا بوساطة ناقل جرثومي Bactriological loop معقم وحضر منها سلايد وصبغ بصبغة كرام للتأكد من أن البكتريا موجبة لصبغة كرام أم سالبة.

حفظ وإدامة العزلة البكتيرية :-

حفظت العزلة البكتيرية المشخصة في المختبر ، وذلك بتنميتها على وسط المرق المغذي Nutrient broth . وحفظت مباشرةً بالثلاجة بدرجة حرارة 4 مْ وعند استعمال العزلة نميت على الاكار المغذي المائل وحضنت بالحاضنة لمدة 24 ساعة وحفظت في الثلاجة بدرجة 4 مْ ويراعى تجديد المستعمرة كل 3-4 أسابيع [9].

كما اديمت البكتريا التجارية ، وذلك بوزن 1غم من المسحوق البكتيري وأذيب في 100 مل من الماء المقطر المعقم للحصول على تخفيف (0.01) من العالق البكتيري ،خفف العالق البكتيري الى سلسلة من التخافيف ،أخذت عينات من كل تخفيف وزرعت على الوسط ألزرعي الصلب Nutrient agar وحفظت في الحاضنة بدرجة حرارة 37 مْ ولمدة 24 ساعة ، وذلك لحساب الوحدة المكونة للمستعمرة (colony forming unit) في 1 مل من المزرعة البكتيرية، استعملت لهذا الغرض الشريحة الزجاجية Hemocytometer . نقل 1 سم ³ من المزرعة البكتيرية بوساطة الثاقب الفليني Cork borer إلى 10مل من الماء المقطر المعقم للحصول على التخفيف (0.1) وعملت من هذا التخفيف سلسلة من التخافيف ،أخذت قطرة من كل تخفيف ووضعت على وسط الشريحة الزجاجية إذ تكون مقسمة الى مربعات مجهريه حسبت أعداد البكتريا في بعض المربعات عشوائياً وقسم العدد على المربعات للحصول على عدد الخلايا البكتيرية في المربع الواحد ، وبتطبيق المعادلة

معدل عدد الخلايا البكتيرية × مقلوب التخفيف ×(4 × 10^6) = عدد الخلايا البكتيرية الموجودة في 1 مل من الوسط البكتيري .

اختبار فاعلية المبيدات البكتيرية على الاطوار اليرقية لحشرة عثة التين *E.cautella* .

اختبار فاعلية العزلة المحلية *B.thuringiensis*

1 – التأثير على يرقات الطور الاول :-

نقلت البيوض التي وضعت حديثاً الى اطباق بتري بقطر 9 سم وارتفاع 1.5سم حاوية على ورق الترشيح الاسود وبواقع 25 بيضة لكل طبق وبعد فقس البيض وحساب عدد اليرقات الفاقسة ،نقلت اليرقات الى أطباق اخرى حاوية على ورق الترشيح المشبع بالتراكيز البكتيرية المقترحة (10^{-3}، 10^{-2}، 10^{-1}، 5 × 10^{-1}غم /لتر التي حصلنا عليها بنقل 1سم ³ من المزرعة البكتيرية بوساطة الثاقب الفليني Cork borer وأضيف إلى 10مل من الماء المقطر المعقم لغرض الحصول على التخفيف (0.1) وعملت من هذا التخفيف سلسلة من التخافيف) مع تزويد اليرقات بالغذاء الإصطناعي في أحد جوانب الطبق وتجديد الغذاء كلما تم استهلاكه من قبل اليرقات يغطى الطبق بورقة ترشيح لضمان عدم هروب اليرقات من الطبق، واستعملت 6 مكررات لكل تركيز من التراكيز المذكورة أعلاه فضلاً عن 3 مكررات لمعاملة السيطرة التي اقتصرت على استعمال ورق الترشيح المشبع بالماء المقطر المعقم ثم وضعت جميع المعاملات مع معاملة السيطرة في حاضنة درجة حرارتها 25 ± 2 مْ ورطوبتها النسبية 60-70% . حسبت اعداد اليرقات الميتة يومياً ولمدة

ثلاثة ايام وهي الفترة المقترحة لتطور يرقات الطور الاول الى الطور الثاني .
2-التأثير على يرقات الطور الثاني :-
جمعت يرقات الطور الثاني وذلك بعد مرور (3–4) أيا م على فقس البيض حيث تصل الى العمر اليرقي الثاني حسب ما ذكرت شوكت [10] وذلك استناداً الى ملاحظة جلود الانسلاخ وقياس عرض كبسولة الرأس بين كل مرحلة انسلاخ للاطوار اليرقية ونقلت الى أطباق بتري حاوية على ورق الترشيح المشبع بالتراكيز البكتيرية المقترحة لهذه الدراسة وكما ذكر في 1 اعلاه وتوبع تطور يرقات الطور الثاني كما توبعت يرقات الطور الاول في 1 أعلاه .
3 – التأثير على يرقات الطور الثالث :-
اتبعت الخطوات نفسها في معاملة يرقات الطورين الاول والثاني عند وصول اليرقات الى العمر اليرقي الثالث اي بعد مرور (5-6) ايام بحسب شوكت [10] ابتداءً من تاريخ فقس يرقات الطور الاول .
4-التأثير على يرقات الطور الرابع :-
اتبعت الخطوات نفسها كما في معاملة يرقات الأطوار الاول والثاني والثالث عند وصول اليرقات الى العمر اليرقي الرابع بعد مرور (7-8) أيام على تاريخ فقس اليرقات .
5-التأثير على يرقات الطور الخامس (الطور ماقبل العذراء) :-
اتبعت نفس الخطوات السابقه وعند وصول اليرقات الى العمر اليرقي الخامس بعد مرور 8-15 يوماً من تاريخ فقس اليرقات وحسبت اعداد اليرقات الميته يومياً ولمدة ثلاثة أيام حيث عوملت كما في الفقرات 1-4 أعلاه .
اختبار فاعلية البكتريا التجارية *Bacillus thuringiensis* kuristaki على الاطوار اليرقية المختفة لعثة التين *E.cautella* .
اتبعت نفس خطوات معاملة يرقات الاطوار الاول ،الثاني ، الثالث ، الرابع والخامس وكما جاء بالفقرات 1،2،3،4،5 في اعلاه .
2-التحليل الإحصائي **:-**
اتبع التصميم العشوائي الكامل Completely Randomized Design (C.R.D) في تنفيذ التجارب وصححت نسب الهلاك المئوية للقتل استنادا الى معادلة أبوت (Abbott formula) [11] والمعروفة بأسم المعادلة (Schneider-Orelli formula) [12] والتي تنص:-

$$\% \text{ الهلاك} = \frac{\% \text{ الهلاك في المعاملة} - \% \text{الهلاك في السيطرة}}{100 - \% \text{ الهلاك في السيطرة}} \times 100$$

اتبع بعد ذلك تحليل التباين Analysis of variance وحددت معنوية الاختلافات ما بين المعدلات بأستعمال اختبار دانكن متعدد الحدود Duncan Multiple Range Test عند مستوى الاحتمالية $P \leq 0.05$ [13] وباستعمال البرنامج الاحصائي الجاهز (Spss) .

النتائج والمناقشة:

عزل بكتيريا *Bacillus thuringiensis* من يرقات حرشفية الاجنحة:

ميزت اليرقات المصابة ببكتريا B.t. من خلال لونها الاسود. كما لوحظ من تطبيق فرضية كوخ ان اليرقات المصابة ببكتريا B.t. تمتنع عن الغذاء لعدة ساعات ثم يتغير لونها من اللون الطبيعي الابيض الترابي الى البني ثم الاسود بعد الموت. وهذه النتيجة تتفق مع (Lacey *et. al*) [14] الذين بينوا أن امتناع اليرقات المصابة عن الغذاء يعود الى تأثير البروتين البلوري السام Crystal Protein الذي يتحلل في القناة الهضمية الوسطى لليرقات ويرتبط بالمستقبلات Receptors على الحافة الفرشاتية Brush border لغشاء القناة الهضمية الوسطى فيدخل السم بداخل الغشاء مسبباً ضعف الخلايا الطلائية وانتفاخها ثم انحلالها محدثاً ثقوباً في الغشاء مما يسهل انتقال السبورات الى السائل الدموي لليرقة و يتسبب عنه تسمم الدم Septicemia ثم تغير اللون الى البني ثم الاسود بعد الموت .

امتازت مستعمرة بكتريا B.t. بأنها صغيرة الحجم (0.5-1) ملم ولونها حليبي ذات حافات غير منتظمة عند فحصها بوساطة المجهر الضوئي كما انها بكتريا موجبة لصبغة كرام (+gr) إذ انها تأخذ اللون الازرق الغامق أو البنفسجي عند صبغها بصبغة كرام عصوية الشكل وذات سبور مركزي الموقع وهذا الوصف للمستعمرات التي حصل عليها بهذه الدراسة يتفق مع ماذكره (Quinn) [7].
تشخيص العزلة المحلية لبكتريا *Bacillus thuringiensis* مقارنة ببكتريا المنتوج التجاري:-

جدول (1) نتائج الاختبارات الكيموحيوية لبكتريا *Bacillus thuringiensis*

ت	الاختبار	العزلة المحلية	المنتوج التجاري
1	S.I.M. - الحركة Motality - هوائية aerobic - انتاج غاز H_2S	 + + -	 + + -
2	تحلل خلايا الدم	+	+
3	انتاج انزيم الكاتليز	+	+
4	حساسية البنسلين	R	R
5	تخمر الكلوكوز	+	+
6	صبغة كرام	+	+

Resistance -: R

بعد حساب الوحدة المكونة للمستعمرة Colony Forming Units تبين أنَّ العزلة المحلية للبكتريا B.t تحتوي على 3.12×10^9 خلية /1 مل من المستعمرة البكتيرية ، في حين يحتوي المنتوج التجاري للبكتريا B.t. على 9.6×10^8 خلية /1 مل من المستعمرة البكتيرية

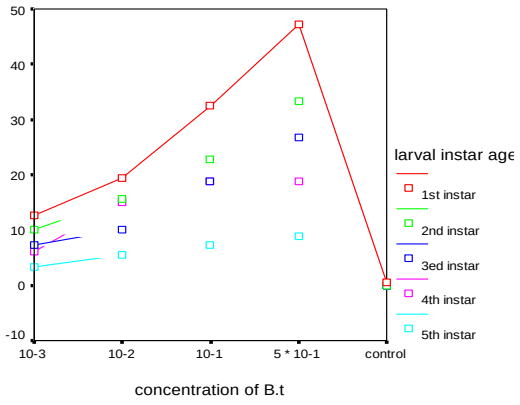
إختبار فاعلية المبيدات البكتيرية على الاطوار اليرقية لحشرة عثة التين *E.cautella* .

اختبار فاعلية العزلة المحلية *B.thuringiensis* :-

يبين الجدول (2) معدل الهلاك التراكمي للاطوار اليرقية لحشرة عثة التين *E.cautella* بعد معاملتها بالتراكيز 10^{-3} ،10^{-2} ،10^{-1}،5×10^{-1} غم / لتر للبكتريا المحلية *B.thuringiensis* وموضحاً تأثيرالتراكيز المذكورة أعلاه ومقارنة تأثيرها على كل طور لوحده من الاطوار اليرقية الخمسة، وذلك بعد 24 و48 و72 ساعة من المعاملة، بينت نتائج التحليل الاحصائي عند مستوى الاحتمال $P \leq 0.05$أن أعلى معدل لنسبة الهلاك في جميع الاطوار اليرقية وفي اليوم الاول من المعاملة كانت عند التركيز 5×10^{-1} للبكتريا B.t في حين كان أقل معدل للهلاك عند التركيز 10^{-3} ،حيث وصلت نسبة الهلاك الى(22.7 ،10.0 ،10.0، 6.7، 3.3)% عند التركيز 5×10^{-1} في حين كانت (4.9 3.3، 1.7، 1.7،1.7)% عند التركيز10^{-3} للاطوار من الاول الى الخامس على التوالي مقارنةً بمعاملة السيطرة والتي كانت صفراً% ولجميع الاطوار . وازدادت نسبة الهلاك في اليوم الثاني لتصل الى (46.4 ،30.0، 25.0، 16.7، 10.0) % عند التركيز 5×10^{-1} و(11.4، 10.0، 6.7، 5.0، 3.3)% عند التركيز 10^{-3} للاطوار من الاول الى الخامس على التوالي مقارنةً بمعاملة السيطرة التي بلغت 1.5% للطور الاول في حين كانت نسب الهلاك فيها صفراً % للاطوار من الثاني الى الخامس على التوالي . ووصلت أعلى نسبة للهلاك في اليوم الثالث من المعاملة وهي(72.8 ،60.0، 43.3، 33.3، 13.3)% عند التركيز 5×10^{-1} وأقل نسبة عند التركيز 10^{-3} وهي(21.6، 16.7، 13.3، 11.7، 5.0)% للاطوار اليرقية من الاول الى الخامس على التوالي مقارنةً بمعاملة السيطرة Control والتي كانت صفراً %وكانت هناك فروق معنوية بين جميع التراكيز البكتيرية وللايام الثلاث كما اختلفت جميعها معنوياً عن معاملة السيطرة Control. كما يوضح الشكل (1) إن اعلى معدل هلاك للاطوار اليرقية كان في الطور الاول واقل معدل للهلاك كان في الطور الخامس لجميع التراكيز وللايام الثلاث (فترات التعريض 72،48،24 ساعة). نستنتج من هذه النتائج ان نسبة هلاك اليرقات تزداد كلما ازداد تركيز المبيد البكتيري فضلاً عن ذلك نلاحظ ان نسبة هلاك اليرقات في اليوم الثالث هي اكثر من اليومين الاول والثاني من المعاملة كما لوحظ ان يرقات الطور الاول أكثر الاطوار اليرقية حساسية للمبيد البكتيري المستعمل واتضح ان تأثير البكتريا يعتمد على عمر اليرقة وسلوكها وفسلجتها.حيث تكون يرقات الطور الاول أعلى في معدل نموها ومعدل استهلاكها للغذاء من الأطوار اليرقية الاخرى وان هضم يرقة الطور الاول لغذاء معامل بممرضات اليرقات ومنها بكتريا B.t. تموت أسرع بثلثي الوقت المسجل لموت يرقات الطور الثاني. وتتفق النتائج التي حصل عليها بهذه الدراسة مع نتائج (علي) [6]الذي اوضح أن بكتريا B.t. تقتل الاعمار اليرقية لدودة البنجر السكري .*Spodoptera erigua* (Hub) وخاصة العمر اليرقي الاول ويعزى ذلك ولو جزئياً الى ضعف وسائل الدفاع الخلوية في العمر اليرقي الاول فضلاً عن بطء عمليات ازالة السمية في هذا العمر اليرقي .كما أن الطور اليرقي الثاني يلي الطور اليرقي الاول في حساسيته للبكتريا. واختلاف الحالة الفسلجية ليرقات حرشفية الاجنحة في الطور الثاني بسبب فقدان (1-2) من مواقع ارتباط السم البلوري في القناة الهضمية الوسطى في هذا الطور اليرقي وهذا ادى الى استغراق البكتريا 28 ساعة للحصول على نسبة قتل 100% [15]. كما ان تأثير المبيد البكتيري يستغرق وقت اطول في قتل اليرقات مع تقدم عمر اليرقة بسبب وزنها وحجمها وفسلجتها وعلى الرغم من ذلك ظهرت على اليرقات اعراض الاصابة بالمبيد البكتيري منذ اليوم الاول حيث توقفت عن التغذي وابتعدت عن الغذاء ولوحظ بطء الحركة وضعف الاستجابة للمحفزات الخارجية حتى تغير لونها من اللون الابيض الطبيعي الى البني ثم الاسود بعد الموت.كما تتفق النتائج التي حصلنا عليها مع نتائج العزاوي [16] من خلال دراستها حول تأثير العزلة المحلية للبكتريا B.tعلى الاطوار اليرقية لعثة درنات البطاطا أن أعلى نسبة قتل ليرقات الطور الاول بلغت 70% في اليوم الاول عند المعاملة بالتخفيفين x46, x46 10^{-6} 10^{-5} في حين انخفضت الى 60% للتخفيف 10^{-7} x46. وفي اليوم الثاني تم الحصول على نسبة

قتل 100% للتخفيف 46 x 10^{-7}. مما يوضح حساسية الطور اليرقي الاول لبكتريا B.t. المعزولة محلياً. كما وبينت إن الطورين اليرقيين الاول والثاني لحشرة عثة درنات البطاطا *Phthorima operculella* أكثر تحسساً من الطورين الثالث والرابع للعزلة المحلية B.t.

ويعد الوسط القاعدي للمعدة الوسطى ليرقات حشرات حرشفية الاجنحة وسطاً مثالياً لفعالية السم البلوري لبكتريا B.t. حيث تتراوح PH القناة الهضمية الوسطى ليرقات حشرات حرشفية الاجنحة بين (8-10) وكما اشار لذلك Chapman [17]. واظهرت اليرقات في الطورين الرابع والخامس مقاومة للمبيد البكتيري وكانت أقل الاطوار هلاكاً .و تتفق هذه النتيجة مع ما ذكرته (علي) [18] في ان العمر اليرقي الرابع اظهر نوعاً من التحمل للسم البكتيري وربما يعود السبب الى تكيفات هذا العمر لتفادي التسمم بوساطة انزيمات قليلة التخصص ذات كفاءة عالية في تفاعلات التخلص من السموم بشوطيها الاول : الذي يتم فيه اضافة مجموعة محبة للماء Hydrophilic Function الى السموم تسهل افرازها بوساطة انابيب مالبيجي . والشوط الثاني : الذي يتم فيه اقتران نواتج الايض بالسم فيثبطه، فضلاً تواجد الخلايا البلعمية التي تقوم بالتهام الخلايا البكتيرية في الدم .



شكل (1) تأثير التخافيف المختلفة للعزلة المحلية *Bacillus thuringiensis* على الاطوار اليرقية المختلفة لحشرة عثة التين *Ephestia cautella*.

جدول (2) تأثير تراكيز مختلفة للعزلة المحلية *Bacillus thuringiensis* على الاطوار اليرقية لعثة التين *Ephestia cautella* بعد (24،48،72) ساعة

الاطوار اليرقية	%معدل الموت بعد 24 ساعة ±S.E				
	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	$5 * 10^{-1}$	السيطرة
الطور الاول	1.3±4.9 c	0.9±7.0 c	1.0±13.7 b	1.1±22.7 a	0.0±0.0 d
الطور الثاني	2.1±3.3 ab	4.0±8.3 a	2.1±6.7 ab	0.0±10.0 a	0.0±0.0 b
الطور الثالث	1.7±1.7 ab	1.7±1.7 ab	4.0±8.3 ab	0.0±10.0 a	0.0±0.0 b
الطور الرابع	1.7±1.7 b	4.2±6.7 ab	0.0±10.0 a	2.1±6.7 ab	0.0±0.0 b
الطور الخامس	1.7±1.7 a	1.7±1.7 a	2.1±3.3 a	2.1±3.3 a	0.0±0.0 a
الاطوار اليرقية	% معدل الموت بعد 48 ساعة±S.E				
	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	$5 * 10^{-1}$	السيطرة
الطور الاول	2.0±11.4 C	1.8±18.1 C	2.3±32.2 B	2.5±46.4 A	1.5±1.5 E
الطور الثاني	3.7±10.0 BC	3.3±13.3 B	4.5±20.0 AB	2.6±30.0 A	0.0±0.0 C
الطور الثالث	3.3±6.7 BC	3.1±8.3 B	7.5±18.3 AB	3.4±25.0 A	0.0±0.0 C
الطور الرابع	3.4±5.0 AB	8.0±16.7 AB	3.7±20.0 A	4.2±16.7 AB	0.0±0.0 B
الطور الخامس	2.1±3.3 AB	2.1±6.7 AB	3.1±8.3 AB	3.7±10.0 A	0.0±0.0 B
الاطوار اليرقية	% معدل الموت بعد 72 ساعة±S.E				
	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	$5 * 10^{-1}$	السيطرة
الطور الاول	1.5±21.6 D	2.8±33.0 C	3.1±51.9 B	3.0±72.8 A	0.0±0.0 E
الطور الثاني	5.6±16.7 C	4.3±5.0 C	5.4±41.7 B	5.2±60.0 A	0.0±0.0 D
الطور الثالث	4.2±13.3 BC	5.2±20.0 B	8.9±30.0 AB	3.3±43.3 A	0.0±0.0 C
الطور الرابع	4.0±11.7 AB	10.1±21.7 AB	6.7±26.7 A	4.9±33.3 A	0.0±0.0 B
الطور الخامس	2.2±5.0 AB	1.7±8.3 AB	3.7±10.0 AB	4.9±13.3 A	0.0±0.0 B

1-الحروف الانكليزية الصغيرة المتشابهة تشير الى عدم وجود فروقات معنوية في الصف الواحد لكل طور بين التراكيز في اليوم الاول حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال $P\leq 0.05$.

2-الحروف العربية المتشابهة تشير الى عدم وجود فروقات معنوية في الصف الواحد لكل طور بين التراكيز في اليوم الثاني حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال $P\leq 0.05$.

3- الحروف الانكليزية الكبيرة المتشابهة تشير الى عدم وجود فروقات معنوية في الصف الواحد لكل طور بين التراكيز في اليوم الثالث حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال $P\leq 0.05$.

إختبار فاعلية العزلة التجارية (kurstaki *B.thuringiensis*)

يبين الجدول (3) معدلات نسبة الهلاك التراكمي للاطوار اليرقية لحشرة عثة التين *E.cautella* بعد معاملتها بالتراكيز 10^{-3}، 10^{-2}، 10^{-1}، 5×10^{-1} غم / لتر للعزلة التجارية لبكتريا *B. thuringiensis* kurstaki ومقارنة تأثيرها على كل طور يرقي لوحده من الاطوار اليرقية الخمسة بعد 24 و48 و72ساعة من المعاملة .حيث تبين من خلال النتائج وعند مستوى الاحتمال $P\leq 0.05$ إن أعلى معدل لنسبة الهلاك التراكمي في اليوم الاول من المعاملة هي عند التركيز 5×10^{-1} حيث كان(10.0، 13.8، 8.3، 5.0، 0.0)% في حين كان أقل معدل لنسبة هلاكها عند التركيز 10^{-3} حيث كان(3.6، 1.7، 0.0، 0.0، 0.0)% للاطوار اليرقية من الاول الى الخامس على التوالي مقارنةً بمعاملة السيطرة والتي كانت صفراً% عدا في الطور الثاني حيث كانت 0.5% . وازداد معدل نسبة هلاك يرقات في اليوم الثاني لتصل الى (35.0، 26.7، 18.3، 13.3، 3.3)% عند التركيز 5×10^{-1} في حين كانت(5.4، 6.7، 3.3، 1.7، 0.0)% عند

التركيز 10^{-3} للاطوار من الاول الى الخامس على التوالي مقارنةً بمعاملة السيطرة والتي كانت 1.4% في الطور الاول و0.5 % في الطور الثاني في حين كانت صفراً% للاطوار من الثالث الى الخامس على التوالي و في اليوم الثالث من المعاملة كان معدل نسبة هلاك اليرقات(59.4، 46.5، 31.7، 23.3، 8.3)% عند التركيز 5 × 10^{-1} و(15.0، 16.4، 4.1، 6.7، 1.7)% عند التركيز 10^{-3} للاطوار اليرقية من الاول الى الخامس على التوالي مقارنةً بمعاملة السيطرة والتي كانت 3.6% في الطور الاول و0.5% في الطور الثاني في حين كانت صفراً من الطور الثالث الى الخامس على التوالي. كما يوضح الشكل(2) إن اعلى معدلات هلاك للاطوار اليرقية كانت في الطور اليرقي الاول واقل معدلات للهلاك كانت في الطور اليرقي الخامس لجميع التراكيز وللايام الثلاثة . نستنتج مما سبق ان نسبة هلاك الاطوار اليرقية تزداد كلما ازداد تركيز المبيد البكتيري كذلك ترتفع نسبة هلاك اليرقات في اليوم الثالث وبمعدل اعلى من اليومين الاول والثاني من المعاملة كما يتضح ان يرقات الطور الاول أكثر الاطوار اليرقية حساسية للمبيدات البكتيرية المستعملة واتضح ان تأثير البكتريا يعتمد على عمر اليرقة وسلوكها وفسلجتها.وتتفق النتيجة التي توصلنا اليها مع ماحصل عليه الجبوري [19] من نتيجة عند دراسته نسبة قتل يرقات الطور الاول المعامل بالمبيد البكتيري Agerin والتي هي 67.94% عند التركيز 4.8X10^{6}/ مل. وكذلك تتفق نتائج هذه الدراسة مع النتائج التي حصل عليها Huang *et. al.* [20] من ان حساسية اليرقات تزداد بزيادة تركيز المبيد البكتيري الذي تعرضت له . كما توضح النتائج تفوق العزلة المحلية للبكتريا *B.thuringiensis* في قتل الاطوار اليرقية المختلفة لحشرة عثة التين *E.cautella* والتي تحتوي على 3.12 ×10^{9}خلية /1 مل من المستعمرة البكتيرية على العزلة التجارية *B.thuringiensis* kurstaki التي تحتوي على 9.6× 10^{8} خلية / 1مل من المستعمرة البكتيرية

حيث كان معدل نسب هلاك الاطوار اليرقية عند المعاملة بالعزلة المحلية 6.67% في حين كان 3.96% للعزلة التجارية لليوم الاول من المعاملة اما في اليوم الثاني من المعاملة فقد كانت معدلات نسب هلاك الاطوار اليرقية 16.32% للعزلة المحلية في حين كانت 10.14% للعزلة التجارية وفي اليوم الثالث من المعاملة كانت معدلات نسب هلاك الاطوار اليرقية للعزلة المحلية 26.96% في حين كانت 19.96% للعزلة التجارية. نستنتج من هذا على وجود فروق معنوية في معدلات هلاك الاطوار اليرقية بين العزلة المحلية والعزلة التجارية في اليوم الاول من المعاملة وكذلك توجد فروق معنوية في اليومين الثاني و الثالث من المعاملة وهذا يدل على ان العزلة المحلية هي اكثر كفائة من العزلة التجارية لكونها أي العزلة المحلية متأقلمة للظروف البيئية العراقية.

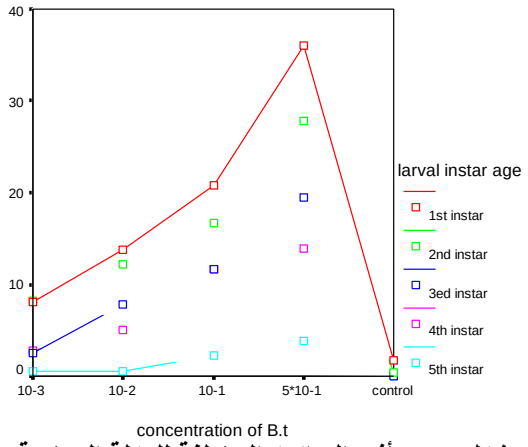
جدول (3) تأثير تراكيز مختلفة للعزلة التجارية لبكتريا *Bacillus thuringiensis* kurstaki على الاطوار اليرقية لعثة التين *Ephestia cautella* بعد (24،48،72) ساعة

الاطوار اليرقية	% معدل الموت بعد 24 ساعة ±S.E				
	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	10^{-1} * 5	السيطرة
الطور الاول	2.0 ±3.6 bc	0.9 ±4.6 bc	1.8 ±7.3 b	1.5 ±13.8 a	0.0 ±0.0 c
الطور الثاني	1.7 ±1.7 b	3.5 ±5.0 ab	2.2 ±5.0 ab	0.0 ±100 a	0.5 ±0.5 c
الطور الثالث	0.0 ±0.0 a	2.1 ±3.3 a	3.3 ±3.3 a	4.0 ±8.3 a	0.0±0.0 a
الطور الرابع	0.0 ±0.0 a	2.1 ±3.3 a	3.42 ±5.0 a	2.2±5.0 a	0.0 ±0.0 a
الطور الخامس	0.0 ±0.0 a	0.0 ±0.0 a	0.0 ±0.0 a	0.0 ±0.0 a	0.0 ±0.0 a
الاطوار اليرقية	%معدل الموت بعد 48 ساعة±S.E				
	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	10^{-1} * 5	السيطرة
الطور الاول	2.2 ±5.4 CD	2.3 ±10.9 C	2.0 ±18.2 B	2.7 ±35 A	1.4 ±1.4 D
الطور الثاني	3.3 ±6.7 BC	4.0 ±11.7 B	2.2 ±15.0 B	3.3±26.7 A	0.5 ±0.5 C
الطور الثالث	2.1 ±3.3 B	2.1 ±3.3 B	3.7 ±10.0 AB	4.0 ±18.3 A	0.0 ± 0.0 B
الطور الرابع	1.7 ±1.7 B	2.2 ±5.0 AB	4.8 ±11.7 AB	2.2 ±13.3 A	B 0.4 ±0.4
الطور الخامس	0.0 ±0.0 A	0.0 ±0.0 A	3.3 ±3.3 A	2.1 ±3.3 A	0.0 ±0.0 A
الاطوار اليرقية	% معدل الموت الموت بعد 72 ساعة±S.E				
	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	10^{-1} * 5	السيطرة
الطور الاول	2.3±15.0 C	3.9±25.6 C	3.8±36.8 B	3.8±59.4 A	C 0.3±3.6
الطور الثاني	2.0 ±16.4 C	4.5 ±20.0 C	2.6±30.0 B	2.1±46.5 A	0.5±0.5 D
الطور الثالث	1.3 ±4.1 C	2.1 ±16.7 B	4.8±21.7 B	3.1 ±31.7 A	0.0 ±0.0 C
الطور الرابع	2.1 ±6.7 BC	3.3±6.7 BC	5.4±18.3 AB	5.6 ±23.3 A	0.4 ±0.4 C
الطور الخامس	1.7 ±1.7 AB	1.7 ±1.7 AB	3.3 ±3.3 AB	1.7 ±8.3 A	0.0 ±0.0 B

1-الحروف الانكليزية الصغيرة المتشابهة تشير الى عدم وجود فروقات معنوية في الصف الواحد لكل طور بين التراكيز في اليوم الاول حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال $P\leq 0.05$

2-الحروف العربية المتشابهة تشير الى عدم وجود فروقات معنوية في الصف الواحد لكل طور بين التراكيز في اليوم الثاني حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال $P\leq 0.05$.

3- الحروف الانكليزية الكبيرة المتشابهة تشير الى عدم وجود فروقات معنوية في الصف الواحد لكل طور بين التراكيز في اليوم الثالث حسب اختبار دنكن متعدد الحدود عند مستوى احتمال $P\leq 0.05$



شكل (2) تأثير التراكيز المختلفة للعزلة التجارية *Bacillus thuringiensis* على الاطوار اليرقية المختلفة لحشرة عثة التين *Ephestia cautella*

المصادر:

[1] المعاضيدي ، جبار فرحان والربيعي ، حسين فاضل .2000 . انتاج واستخدام المبيدات البكتيرية في مكافحة الحشرات . ورشة العمل القطرية الاولى في مجال المكافحة الحيوية للآفات الزراعية .منظمة الطاقة الذرية العراقية .25-26 تشرين الثاني.

[2] Travis,R.G.& Maureen, O.C.(2000) " *Bacillus Thurhngiensis* Biology, Ecology and Safety"John Wiely and Sons ,New York.

[3] Ahmed,M.S.H.; A.A.Hameed and A.A.Kadhum.1986. Disinfestation of CommercialyPaked dates by Combination Treatments.Acta Alimin.15(3):221-228.

[4] Navon, A.; and K.R.S. Ascher. (2000). Bioassays of Entomopathogenic microbes and nematodes. Agricultural Research Organization. CAB International. pp.324.

[5] Buchanan, R.E.; and N.E. Gibbons. (1974) .Determinative Bacteriology. Williams and Wilkins Company. U.S.A. pp.1268.

[6] علي، جهينة ادريس محمد. (2000) . المكافحة الحيوية لدودة البنجر السكري (Lepidoptera: *Spodoptera erigua* (Hub). (Gelechiidae بأستخدام البكتريا *Bacillus thuringiensis* (Berl.). اطروحة دكتوراه. كلية الزراعة والغابات. جامعة الموصل. العراق.

[7] Quinn, P.J.; M.E. Carter; B.K. Markey; and G.R. Carter. (1997). Clinical verterinary microbiology. Mosby. Year Book. Europe Limited. England. pp.648.

[8] Cruickshank,R. ,Duguid,J.P., Marmion, B.P.& Swan, R.H.A.(eds). 1975. Medical Microbiology. 12th edition, Volume2. Churchill Livingstone, London.

[9] Ausubel,F.M.,Brent,R.,Kingston,R. E.,Moore,D.D.,Smith,J.A.,Seidman,J.D .& Struhl,K. 1987 . Current Protocols in Molicular Biology.John Wiley & Sons, Inc.New York.

[10] شوكت،ميسون علي. (1986). دراسة خلوية حول تأثير اشعة كاما على تكوين الخلايا الجنسية الذكرية في يرقات عثة التين *Ephestia cautella*(Walker) (Lepidoptera:pyralidae). رسالة ماجستير ،جامعة بغداد.كلية التربية بن الهيثم.

[11] Abbot , W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide . J. Econ. Entomol. , 18: 265-267.

[12] Schneider-Orelli; O. 1947. Entomologisches Parktikum Verlag Sauerlander , Aarau . 237 PP.

[13] Dunncan, B.D. (1955). Multiple ranges and multiple f-test. Biometrics, 11:pp.1-42.

[14] Lacey, A.L.; E. Riga; and W. Snyder. (2004). The potential for using insect specific pathogens for control of insect pest of potato . J. p. prog.. Vol. IV. no.1.

[15] Rausell, C.; A.C. Martinez-Ramirez; I. Garcia-Robler and M.D. Real. (2000). A binding site for *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin is lost during larval development in two forest pest. Appl. Environ. Mic. 66:1553-1558. Cited by. (Gilliland et al. (2002).

[16] العزاوي،علياء عبدالعزيز.(2006) دراسة تأثير بكتريا *Bacillus thuringiensis* في السيطرة على عثة درنات البطاطا *Phthorimaea operculella* (zeller) (Lepidoptera Gelechiidae): رسالة ماجستير / كلية العلوم للبنات . جامعة بغداد .

[17] Chapman, R.F. (1978). The insects structure and function. Great Britain. London. Sydney. Auckland. Toronto. pp.819.

[18] علي، جهينة ادريس محمد. (2003) . تشخيص ثلاث عزلات من *Bacillus thuringiensis* ممرضة لدودة درنات البطاطا *Ph. operculella*. مجلة التربية والعلم.

[19] الجبوري، خالد اعميري محمد عبيد . (2003) . استعمال بكتيريا *Bacillus thuringiensis* (Berl.) وبعض منظمات النمو الحشرية للسيطرة على عثة درنات البطاطا *Phthorimaea operculella*. دبلوم عالي. الكلية التقنية. قسم التقنيات الحياتية النباتية. هيئة التعليم التقني.

[20] Huang, F.; L.L. Buschman; and R.A. Higgins. (2005). Larval survival and development of susceptible and resistant Ostrinia (Lepidoptera: Pyralidae) on diet containing *Bacillus thringiensis* . Agric. For. Entomol. 7.45-2 .U.S.A .

Efficacy of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) isolates on fig moth, *Ephestia cautella* (Walker) Larvae

Hutham S. Balasim *** ***Ayad A. AL-Taweel *** ***Basim S. Hamad * ***Maha I. Jassim ****

*Integrated Pest Management Center/Directorate of Agricultural Research, Ministry of Science and Technology .Baghdad/Iraq

Abstract:

The following dilution 5×10^{-1}, 10^{-1}, 10^{-2} , 10^{-3} gm/L for the indigenous isolate of *Bacillus thuringiensis* bacteria and the commercially isalate were used for experiments against the different stages of fig moth of *E.cautella* which exposed by filter paper method. The results showed that mortality of larval stages was increased with the increasing concentration of the biocide, in addition to increase in the mortality of the larval stages reached to the highest percentage in the third days of treatment of the larval stage in comparison with the first and second days of exposure. The results also showed that the sensitivity of larval stages was increased in first and second instars while reduced in the last instars .The high percentage of first instar mortality for the indigenous isolate in the concentration of 5×10^{-1} was 72.8% , while the low percentage of mortality showed in the concentration of 5×10^{-1} for the fifth instar larvae which was 13.3% in third days of treatment while a high percentage of mortality was showed for the first instar larvae for the commercially isulate in the concentration of 5×10^{-1} was 59.4% Furthermore, low percentage of mortality was shown in the concentration of 5×10^{-1} in fifth instar larval which was 8.3% in the third days of treatment. The results also showed that the indigenous isolated was more effective than the commercially produced bacteria for killing larval instars of fig moth *E.cautella* .The total percentage of larval instar mortality reached to 44.5 % after the third days of treatment in concentration 5×10^{-1} in the indigenous isolate , and it was 33.8 % in the commercially produced bacteria .