وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة ميسان
كلية العلوم
قسم علوم الحياة

دراسة حول الفطريات التي تصيب الحشرات

بحث مقدم الى
قسم علوم الحياة / كلية العلوم

كجزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس

علوم في علوم الحياة

من قبل الطالبين

محمد حسن ماهر　　**ام البنين احسان علي**

اشـــراف : أ. د. علـــي عبد الواحد قاسـم

ذو القعدة ١٤٤٣　　**حزيران 2023**

بسم الله الرحمن الرحيم

(يُؤْتِي الْحِكْمَةَ مَن يَشَاءُ ۚ وَمَن يُؤْتَ الْحِكْمَةَ فَقَدْ أُوتِيَ خَيْرًا كَثِيرًا ۗ وَمَا يَذَّكَّرُ إِلَّا أُولُو الْأَلْبَابِ)

صدق الله العلي العظيم

سورة البقرة رقم الأية 269

الاهداء

إلى صاحب السيرة العطرة، والفكر المستنير فلقد كان له

الفضل الأوّل في بلوغي التعليم العالي (والدي الحبيب)

أطال الله في عمره.

إلى من وضعتني على طريق الحياة، وجعلتني رابط الجأش

وراعتني حتى صرت كبيرا

(أمي الغالية) اطال الله في عمرها إلى إخوتي من كان لهم بالغ الأثر في كثير من العقبات

والصعاب. إلى جميع أساتذتي الكرام ممن لم يتوانوا في

مد يد العون لي أهدي إليكم بحثي

الشكر والتقدير

الحمد لله رب العالمين والصلاة والسلام على سيد المرسلين محمد والله الطيبين الطاهرين .....

وبعد الانتهاء من انجاز البحث بحول الله تعالى وقوته ان تتقدم بجزيل الشكر والامتنان الى الاستاذ المشرف ا.د .علي عبد الواحد

لما قدمه من اراء وافكار قيمة وتوجيهات سديدة فضلا عن تواصله الدائم في الماء مسيرة الكتابة مما اضاف عليه اسم الرصانة العلمية متمنين له دوام الصحة والعافية.والتوفيق.

توصية الأستاذ المشرف

أشهد أن أعداد البحث الموسوم (**دراسة حول الفطريات التي تصيب الحشرات**) قد جرى تحت إشرافي وهو جزء من متطلبات نيل درجة بكالوريوس علوم في علوم الحياة.

الاسم: د. علي عبدالواحد قاسم
اللقب العلمي: أستاذ
العنوان: كلية العلوم /جامعة ميسان
التوقيع:
التاريخ: / / ٢٠٢٣

توصية رئيس قسم علوم الحياة

إشـــارة إلى التوصـــية المقدمة من قبل أ. د. علي عبدالواحد قاســـم أحيل هذا البحث إلى لجنة المناقشة لدراسته وبيان الرأي فيه.

رئيس القسم: د. ميثم عبد الكاظم دراغ

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

التوقيع:

التاريخ: / / ٢٠٢٣

المحتويات

24	Metarhizium pinghaense	13
24	Zoophthora radicans	14
24	Mucor hachijoensis	15
24	Mortirella humilis	16

المقدمة:

ان الفطريات التي تصيب الحشرات ، والمعروفة أيضًا باسم الفطريات الممرضة للحشرات ، هي مجموعة من الفطريات التي تطورت لتصيب الحشرات وتقتلها كوسيلة للحصول على العناصر الغذائية. تمتلك هذه الفطريات مجموعة متنوعة من الآليات لإصابة مضيفيها وقتلهم ، وتوجد في مجموعة واسعة من أنواع الحشرات (Subandiyah *et al.*, 2000). تشمل بعض الفطريات المسببة للأمراض الأكثر شهرة أنواع Beauveria bassiana و Metarhizium anisopliae و Cordyceps. تستخدم هذه الفطريات كعوامل للمكافحة البيولوجية لإدارة تجمعات الآفات في الزراعة والغابات. كما أنها مهمة كمصادر محتملة المبيدات حشرية جديدة وكنماذج لدراسة تطور تفاعلات الطفيليات المضيفة (Vega *et al.*, 2012 ; Ondráčková, 2015)

تم العثور على الفطريات الممرضة للحشرات لتصيب مجموعة واسعة من أنواع الحشرات ، بما في ذلك الخنافس والذباب والعث والنمل في بعض الحالات، تكون هذه الفطريات خاصة جدًا ببعض مضيفات الحشرات ، بينما في حالات أخرى ، يمكن أن تصيب مجموعة واسعة من الحشرات (de Faria *et al.*, 2007).

أحد أكثر الأمثلة الرائعة على الفطريات الممرضة للحشرات هو جنس *Cordyceps* . تصيب هذه الفطريات الحشرات ، عادة النمل أو اليرقات ، ثم تنمو خارج جسم الحشرة ، وتشكل بنية تشبه السيقان ينتج السيقان جراثيم يمكن أن تصيب الحشرات الأخرى ، مما يسمح للفطر بالانتشار (Sung *et al.*, 2007).

تعتبر الفطريات الممرضة للحشرات أيضا ذات أهمية كبيرة للباحثين الذين يدرسون تطور تفاعلات الطفيليات المضيفة نظرًا لأن هذه الفطريات قد تطورت الإصابة الحشرات وقتلها ، فإنها توفر نظاماً نموذجيًا لدراسة التطور المشترك لدفاعات العائل والدفاعات المضادة للطفيليات (Zhang *et al.*,2011) تمتلك الفطريات الممرضة للحشرات عددًا من الميزات المثيرة للاهتمام التي تجعلها فريدة من نوعها بين الفطريات. ومن أكثر الأشياء المدهشة قدرتها على إصابة الحشرات وقتلها دون الإضرار بالكائنات الحية الأخرى. وذلك لأن الفطريات الممرضة للحشرات قد طورت آليات متخصصة لاختراق الهياكل الخارجية الصلبة الكيتينية للحشرات وقتلها ، مع ترك الكائنات الحية الأخرى دون أن يصاب بأذى (Humber *et al.*, 2012)

ميزة أخرى مثيرة للاهتمام للفطريات الممرضة للحشرات هي قدرتها على تنظيم نموها وتكاثرها استجابة للإشارات البيئية. على سبيل المثال ، عندما تكون الموارد شحيحة ، قد تنتج الفطريات جراثيم أكثر مقاومة للظروف البيئية القاسية ، مما يسمح لها بالبقاء على قيد الحياة حتى ظهور ظروف أكثر ملاءمة (Jaber *et al.*, 2016)

بالإضافة إلى أهميتها البيئية والتطورية ، فإن الفطريات الممرضة للحشرات لها أيضا أهمية عملية تستخدم هذه الفطريات كعوامل للمكافحة البيولوجية لإدارة تجمعات الآفات في الزراعة والغابات Ondráčková, 2015). نظرا لأنها خاصة جدًا بالحشرات ولا تضر بالكائنات الأخرى ، فهي تعتبر بديلاً آمنا وصديقا للبيئة للمبيدات الكيميائية بشكل عام ، الفطريات الممرضة للحشرات هي مجموعة رائعة من الكائنات الحية التي لها أهمية بيئية وتطورية وعملية مهمة مع استمرار البحث في هذا المجال، من المحتمل أن نكتشف المزيد عن هذه الفطريات الرائعة وتفاعلها مع الحشرات (Bushley *et al*,.2013).

تصنيف الفطريات التي تصيب الحشرات

تصنف فطريات الحشرات ضمن مملكة الفطريات شعبة الفطريات اللاقحية (Webster and Weber, 2007)

Kingdom: Fungi

Division: Zygomycota

Class: Zygomycetes

Order: Entomophthorales

Family: Entomophthoracea

طرق عزل الفطريات

توجد الفطريات الممرضة للحشرات بشكل شائع في تربة الغابات التي توفر موطنًا للقراد والعديد من الأنواع ممرضة لـ Ixodes Scapularis say ، القراد ذو الأرجل السوداء .كخطوة أولى لتطوير استراتيجيات فعالة للمكافحة الحيوية ، كان الهدف من هذه الدراسة هو تحديد أفضل الطرق لعزل الأنواع الفطرية الممرضة للحشرات من العينات التي تم جمعها ميدانيا للتربة والقراد من غابة شرقية نفضية حيث يكون النوع الأول كتفيًا شائعًا تم تقييم عدة طرق(Scholte *et al.*, 2004)

1. تم زراعة التربة وفضلات الأوراق والقراد على نوعين من الأوساط الزرعية
2. تم فحص التربة بحثًا عن الفطريات الممرضة للحشرات باستخدام طريقة الطعم Baiting method
3. الطرق الجزيئية حيث يتم استخلاص الحمض النووي من مناطق فاصل النسخ الداخلي (ITS) لتكرار الريبوسوم النووي من الثقافات النقية التي تم الحصول عليها من التربة و galleria والقراد وتم تضخيمها وتسلسلها
4. تم استخلاص الحمض النووي مباشرة من القراد وتضخيمه وتسلسله نستنتج أن

أ- القراد يواجه الفطريات الممرضة للحشرات في كثير من الأحيان في التربة أكثر من نفايات الأوراق.

ب- يمكن بسهولة استزراع العديد من أنواع الفطريات الممرضة للحشرات الموجودة في التربة.

ت- طريقة galleria الطعم هي طريقة فعالة بما فيه الكفاية لعزل هذه الفطريات من التربة .

ث- على الرغم من أن استخراج الحمض النووي من القراد لم يكن ممكنا في هذه الدراسة بسبب صغر حجم العينة ، إلا أن استخراج الحمض النووي من الفطريات المعزولة من التربة ومن القراد كان ناجحًا وقدم تسلسلا نظيفا في ١٠٠ و ٧٣ من العينات ، على التوالي من الواضح أن مزيجا من الطرق المذكورة أعلاه ضروري للتوصيف الأمثل للفطريات الممرضة للحشرات المرتبطة بالقراد في البيئة (Jaber *et al.*, 2016 ; Tuininga *et al.*, 2014)

فطريات رتبة : Entomophthorales

تعود هذه الفطريات الى صف الفطريات اللاقحية Class : Zygomycetes وتبدأ العدوى الخارجية بأنواع جنس *Entomophthora* بإنبات الكونيدات وإختراق الأنبوبة لجدار جسم الحشرة وعادة في المناطق بين الحلقات ذات الكيوتكل والزوائد والقصبات الهوائية أو خلال الجروح و عقب الدخول في فراغ جسم الحشرة فإن الخيوط الفطرية تتجزأ إلى قطع خضرية يطلق عليها الأجسام الخيطية الفطرية Hyphal bodies ، تتكاثر هذه القطع الفردية التبرعم أو بالأنشطار حتى يمتلئ فراغ جسم الحشرة بها (Haje *et al.*,1994 ; Ujjan and Shahzad, 2012) . وعقب إنتاج الأجسام الخيطية الفطرية ، إذا كانت ظروف الحرارة والرطوبة غير ملائمة للفطر فإن الأخير قد يكون ابواغ كلاميدية Chalmydospores وهذه الابواغ تنتج من الخيوط الفطرية ، حيث تقوم بعض الخلايا بخزن المواد الغذائية وتحيط نفسها بجدار سميك ويمكن ان تبقي لعدة سنين في التربة ان انتاج هذه الابواغ المقاومة تمكن الفطر يبقى في التربة في صورة ساكنة عند الظروف البيئية غير الملائمة ولفترات طويلة ، وعند عودة الظروف الملائمة تبدء الأجسام الخيطية الفطرية و الابواغ الكلاميدية بالإنبات وتعطي خيوط فطرية بعضها تنمو للخارج مخترقة جدار جسم الحشرة لتكون تراكيب تمثل الحوامل الكونيدية Conidiophores تحمل على اطرافها كونيدات كبيرة الحجم، وبعضها تنتج خلايا بطريقة التبرعم معتمدة في ذلك على ما إذا كانت الحوامل الكونيدية قد تفرعت أو كان لها خيط وأحد طرفي وفي النهاية يتكون جدار يفصل البرعم عن قمة الحامل الكونيدي (Zhang *et al.*,2011 ; Bushley *et al*,.2013) وعندما ينضج هذا البرعم الكونيدي فان محتوياته وكذلك محتويات الحامل الكونيدي تمتص الماء بسرعة ويتكون الضغط الأزموزي يساعد على قذف الكونيدات الناضجة الى مسافات معينة في الجو المحيط وإذا سقطت الكونيدات على عائل مناسب والظروف الجوية مناسبة أليها تنبت الكونيات لتكون أنبوبة إنبات تنمو قادرة على اختراق جسم الحشرة وهكذا تعيد دورة الحياة من جديد .(Subandiyah *et al.*,2000)

وذكر Tuininga *et al.* (2014) ان فطريات الرتبة Entomophthorales عرفت جيدا بانها مسببات مرضية للحشرات والمفصليات الأخرى. ومعظم هذه المسببات المرضية تنتمي الى جنس *Entomophthora* اعادة الفطر تصنيفه حيث اشتق منه جنسين هما *Entomophaga* و *Erynia* وتضم هذه الرتبة اجناس اخرى تضم فطريات متطفلة على الحشرات مثل *Empusa* و *Massospora*. وجد Maina *et al.* (2018) ان الفطر *Entomophaga grylli* متطفل اجباري على نطاطات الحشائش ويؤدي الى خفض اعداد هذه الافة طبيعياً بنسبة تصل الى حوالي ٨٠% مقارنة بالمبيدات اللازمة لمكافحة الافة ولكن وجد ان البيئة الرطبة لها اهمية كبيرة في زيادة الكفاءة التطفلية لهذا الفطر.

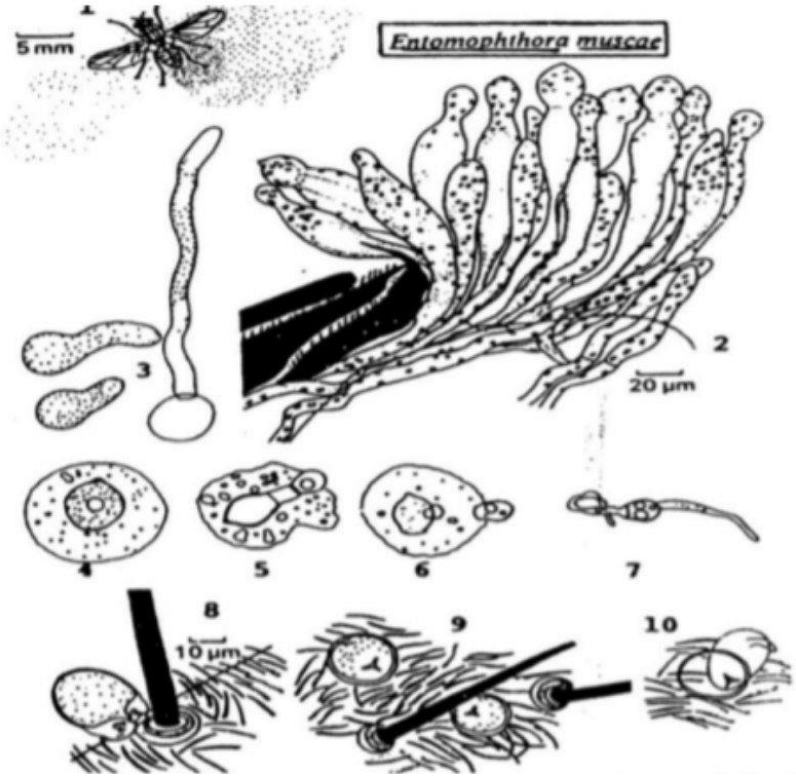
وفي ما يلي اهم اجناس وانواع الفطريات المتطفلة على الحشرات تعود الى رتبة Entomophthorales (Abdel-Raheem *et al.*, 2016)

جنس Entomophthora

يضم هذا الجنس نحو ١٥٠ نوعا معظمها ممرض للحشرات . وفيما يلي عرض لبعض الانواع الهامة:

الفطر *E.muscae*

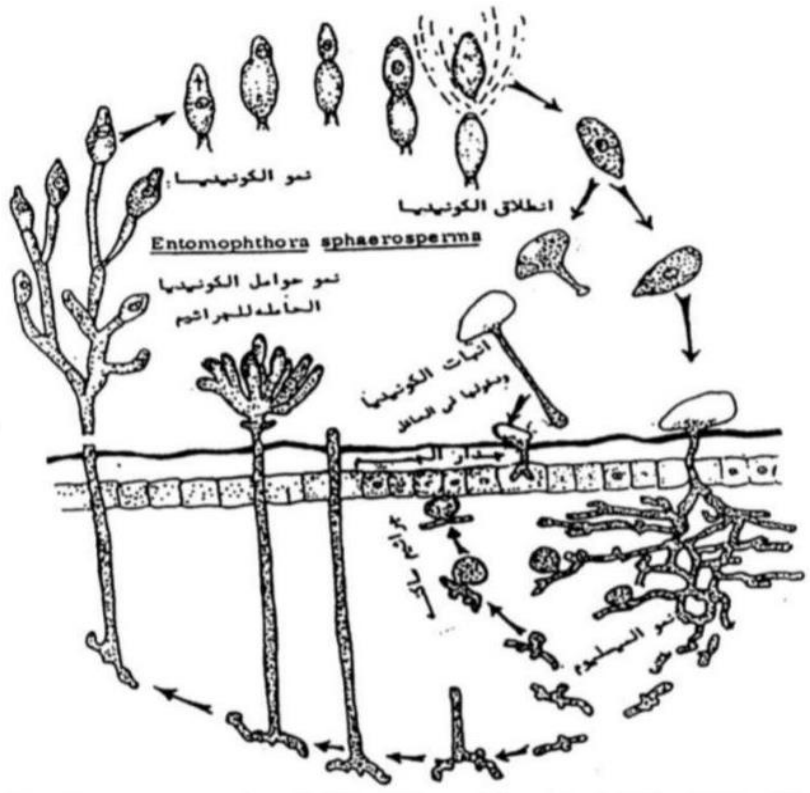
يسمى هذا الفطر بفطر الذباب Fly fungus وهو اهم أنواع هذا الجنس المشهورة. وهو فطر ممرض للذباب المنزلي وحشرات أخرى وتنتشر الاصابة به في الطقس الرطب وخصوصا في فصل الخريف .وقد يشاهد الذباب المصاب أحيانا ملتصقا بالزجاج ومحاطاً بهالة بيضاء واحدة او اكثر ذات قطر ١-٢ سم، وتمثل الهالة كونيدات انفصلت من الفطر حيث تمتلك الحوامل الكونيدية آلية لقذف الكونيدات لمسافة تصل لعدة سنتيمترات (شكل ١) (Freimoser *et al.*, 2003) هذا الفطر كان تحت اسم *Entomophiaga ntscale* وهو قادر على اصابة وقتل الذباب المنزلي وأنواع أخرى من الذباب مثل ذبابة الفاكهة وقد أمكن تنمية هذا الفطر على مزارع نقية تحتوي على مستخلصات من انسجة الحيوان .كما أمكن عمل مزارع ناجحة تحتوى على بيئة تحوى مستخلص جنين القمح وبيتون ومستخلص خميرة وجلسرين .(Ondračkova, 2015)



شكل ١: دورة حياة الفطر *E.muscae*

الفطر *E. sphaerosperma*

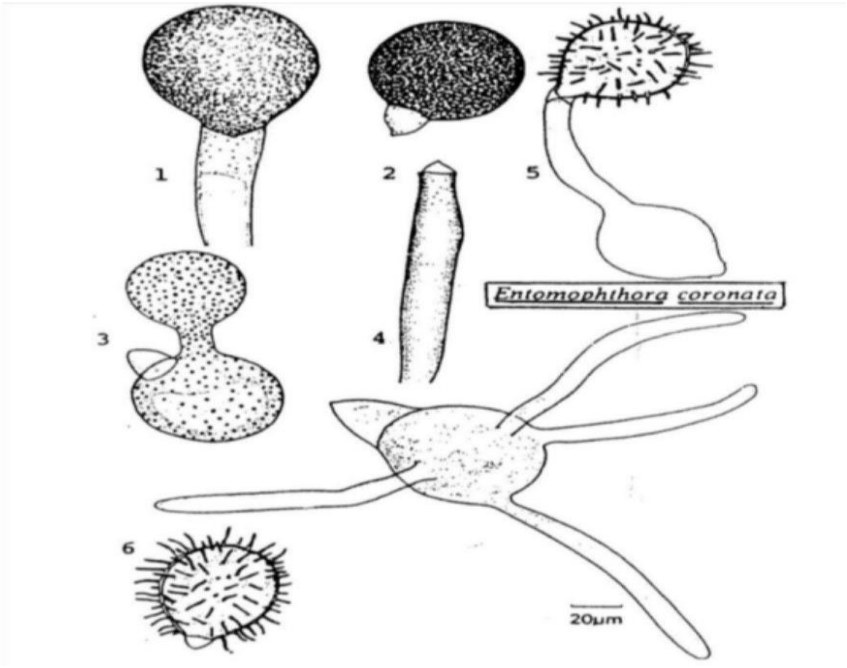
وهو فطر متطفل وممرض لنطاطات الأوراق Leafhoppers وعدد آخر من الحشرات وهو واحد من أقدم الأمراض الفطرية المعروفة .وأدخل هذا الفطر في كندا لمكافحة حشرة (.Sch) *Psylla mnali* التي تتطفل على الكثير من الفواكه ومنها الاجاص وتمكن هذا الفطر من مكافحة هذه الآفة عن طريق اصابة الحشرات انتشار هذه الاصابة بين الحشرات وبالتالي ساعدت تحوله الى وباء قبل ٢-٣ أسابيع من حدوثها طبيعية بدون اضافة الفطر، كما وجد أن هذا الفطر مسؤول عن الأوبئة الطبيعية بين يرقات الفراشة ذات المظهر الماسي Diamond- Back Moth ((*Plutella xylostella* (L.)) (شكل ٢) (Kim *et al.*, 2010).



شكل ٢: دورة حياة الفطر *Entomophthora sphaerosperma*

الفطر *E. coronate*

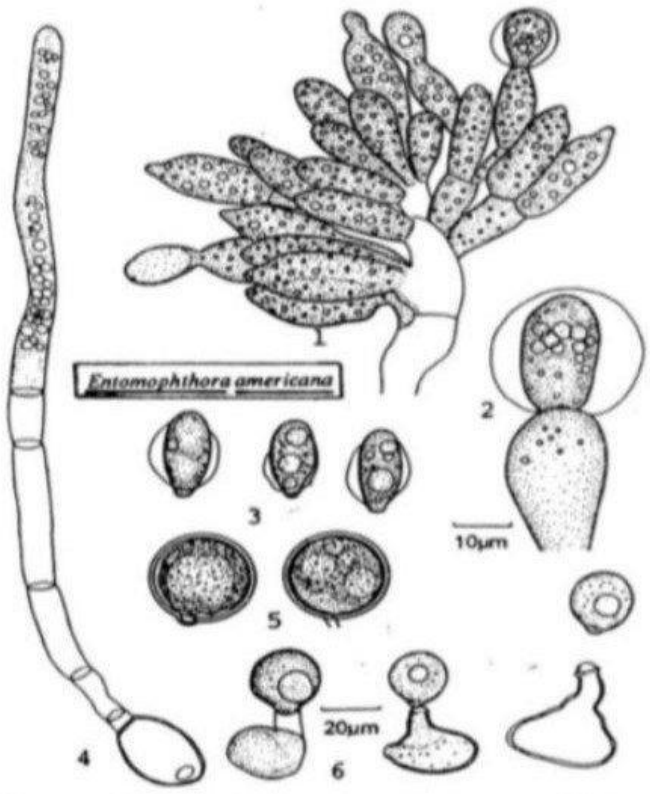
وهذا الفطر عرف بأسماء مختلفة و هو فطر ممرض للكثير من الحشرات مثل المن والنمل الأبيض وهو فطر مترمم يتواجد بكثرة على بقايا النبات (Sevim *et al.*, 2010) ويصيب هذا الفطر الحشرة مثل النمل عن طريق اختراق أنابيب انبات كونيداته لطبقة الكيوتكل لجدار الجسم الخارجي للحشرة أو عن طريق المري عند ابتلاع الكونيدات النامية (شكل٣).



شكل ٣: الفطر *E. coronate* الحامل الكونيدي والكونيدات النامية

الفطر *E. americana*

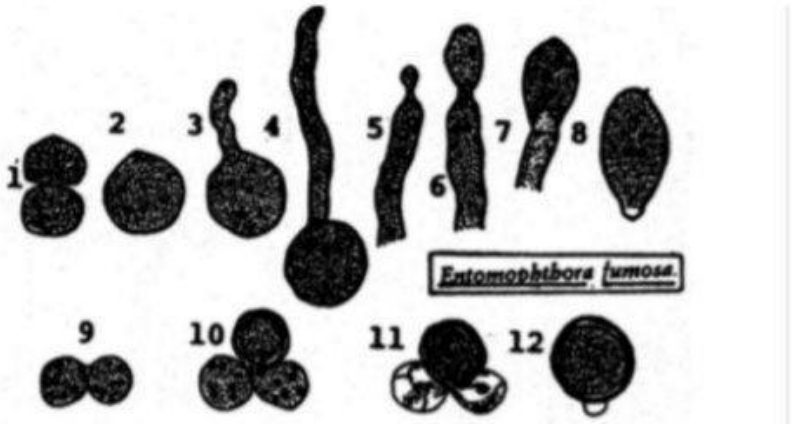
وهو فطر شائع يصيب الذباب الأخضر Green fly (*Lucilia sericata*) في فصل الخريف خصوصا الذباب المتواجد حول جثث الحيوانات الميتة حيث يتجمع هذا الذباب. وتزداد الاصابة في الطقس الرطب قد يتواجد المرض بصورة وبائية شديدة بين عشائر هذا الذباب (شكل ٤) (Fargues *et al.*, 1996)



شكل ٤: الفطر *E. americana* ١) الحوامل المتفرعة ،٢) حامل كونيدي واحد عليه كونيديا ، ٣) الكونيدة بعد انطلاقها ، ٤) إنبات الكونيدة وظهور أنبوبة الانبات ، ٥) إنبات الكونيدة لإنتاج كونيدات ثانوية ، (٦) أجسام خيطية فطرية كروية من الذبابة الميتة

الفطر *E. fumosa*

هو فطر ممرض للبق الدقيقي (Mealybugs) يهاجم مضيفه عن طريق انبوبة الانبات للكونيدات ومن ثم زيادة تفرع الخيوط الفطرية داخل جسم الحشرة. بعد ذلك تتجزأ الخيوط الفطرية وتكون أجسام خيطية فطرية يحوي كل منها أربعة أنوية . وعندما يموت العائل ونفاذ المواد الغذائية يتوقف نمو الخيوط الفطرية ويتكاثر الفطر لاجنسيا بتكوين الكونيدات وكذلك جنسيا بتكوين ابواغ لاقحية Zygospores بواسطة تزاوج الحوافظ المشيجية (Ortiz-Urquiza and Keyhani, 2013) (شكل ٥)



شكل ٥: الفطر *E. fumosa* كونيدات نامية مع وجود انبوبة الانبات

الجنس *Ernpuisa*

وهو جنس قريب جدا للجنس السابق *Entomophthora* وبعض الباحثين يعتبرون الاثنان جنساً واحداً . ومن اهم أنواع هذا الجنس

الفطر *E. grylli*

و هو فطر يهاجم عديدة من حرشفيات ومستقيمات الأجنحة خاصة نطاطات الحشائش قصيرة القرون مثل النوع *Empusu plusia* وهو ممرض ليرقات ديدان ورق القطن الحرشفية الأجنحة Egyptian cotton leafworm (*Spodoptera littoralis*) وهو ممرض للمن ايضا (Altinok *et al.*, 2018).

الجنس *Massospora*

يضم هذا الجنس أنواع قليلة ، وهي طفيليات إجبارية على عدد من حشرات السيكادا Cicadidae ومن أمثلة الفطريات في هذا الجنس الفطر *Massospora icdlint* والذي يتطفل على حشرة السيكادا Cicada ويرقات هذه الحشرة تظل ساكنة dormant في التربة حتى ١٧ سنة وعند الانبثاق فأن الفطر يغزو جسم الحشرة وتتكون الخيوط الفطرية وتنتشر داخل الحشرة (Wang and Wang 2017).

أجناس أخرى

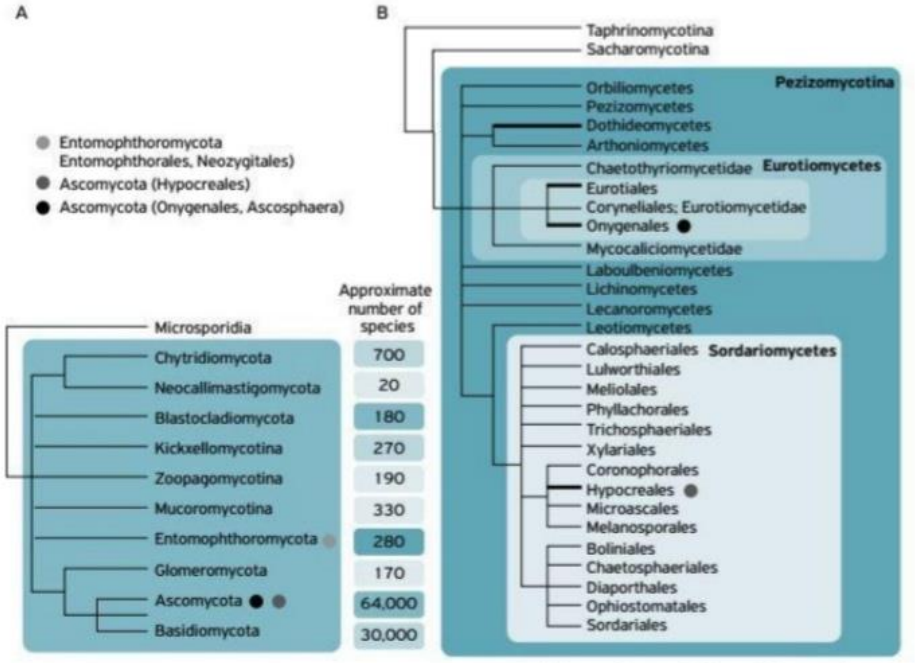
وهناك اجناس اخرى متطفلة على الحشرات ايضا مثل جنس *Ernia* والذي يتبعه النوع *Erynia fahae* كما ذكر Joshi (٢٠٠٦) ان هذا الفطر استخدم في الولايات المتحدة مكافحة نطاطات أوراق البطاطا وذكر واعطى نتائج كبيرة في الحد من اضرار تلك الحشرات.

وهناك أجناس أخرى تعود الى الرتبة Entomophthorales تكون فعالة في المكافحة البيولوجية ضد حشرات المن وديدان اللوز مثل الجنسين *Pandona* و *Neozygi* وهذه الأجناس بالإضافة إلى الأجناس الأخرى تسبب إصابات وبائية Epizootics للحشرات اضافة الى بعض مفصليات الأرجل (Singh *et al.*, 2005) . والعوائل الحشرية لهذه الفطريات توجد في أكثر من ٢٢ عائلة من رتب تصفية الأجنحة ، ذات الجناحين وحرشفية الأجنحة وعمدية الأجنحة ومتشابهة الأجنحة وغشائية الأجنحة والذي تعود الى فطريات رتبة Entomophthorales كعوامل مكافحة حيوية. هناك بعد العوامل التي تحد من استعمال بعض هذه الفطريات في المكافحة البايلوجية لبعض هذه الفطريات منها هو قصر عمر وبقاء الكونيدات التي تكونها، كما أن معظم أنواع هذه الفطريات يصعب تكثيرها على مستوى تجاري . وقد استخدمت هذه الفطريات كعوامل مكافحة ميكروبية بدرجة معينة من النجاح في بلاد روسيا واستراليا . وقد أدخل الفطر *E.maintaiga* إلى أمريكا لمكافحة حشرة جادوب السنديان *Lymantria* (Haiek *et al*,.1994).

آلية تصنيف واصابة الفطريات الممرضة للحشرات

الفطريات الممرضة للحشرات هي مجموعة من الكائنات الحية الدقيقة المتنوعة نسبيا أو مختلفة التغذية و حقيقية النواة أحادية الخلية أو متعددة الخلايا (خيوط فطرية) والتي تتكاثر عن طريق الأبواغ الجنسية أو اللاجنسية أو كليهما. تحاط خلاياها بجدار كايتيني (Hsia, 2014). يشير المصطلح الممرض للحشرات إلى تلك الكائنات الحية الدقيقة القادرة على مهاجمة الحشرات التي تستخدمها كمضيفات لتطوير جزء من دورة حياتها تلك التي تقلل أعداد الحشرات الآفات إلى مستويات لا تسبب ضررا اقتصاديًا للمحاصيل، أو تلك التي تشكل وسيلة للسيطرة على الحد من نواقل المرض (Tuininga *et al.*, 2014). ويتم تعريفها أيضا على أنها طفيليات اختيارية أو اجبارية للحشرات ، مع قدرة عالية على انتاج التراكيب التكاثرية وخصوصا التراكيب اللاجنسية للبقاء على قيد الحياة. تشكل هذه الفطريات مجموعه ذات أهمية كبيرة في المكافحة البيولوجية للحشرات. حوالي ما يقرب من ٨٠٪ من الأمراض التي تصيب الحشرات يمكن استخدام احد هذه الفطريات كعامل مكافحة حيوية ضد الحشرات وبالتالي التقليل من اضرار تلك الآفات (Humber *et al.*, 2012 ; Hafiza *et al.*, 2014) .

هناك فطريات يمكن أن تترمم على اجسام الحشرات الميتة ، يوجد على سطح الارض حوالي ١,٥ مليون نوع من الفطريات، شخص منها لحد الان حوالي ١٨٠ الف نوع (Hawksworth, 2012)، يوجد حوالي ما يقرب من ٧٥٠ الى ١٠٠٠ نوع من الفطريات المتطفلة او التي تهاجم الحشرات تعود الى اكثر من ١٠٠ جنس. وبالتالي تعتبر الفطريات التي تهاجم الحشرات او مسببات الأمراض الحشرية من اكثر مسببات الأمراض الفطرية مقارنة ببقية نواع الفطريات المرضية الاخرى (Ujjan and Shahzad, 2012)



شكل ١: المواقف التطورية للفطريات الممرضة للحشرات.

(أ) فطريات المملكة ، مع التركيز على الكائنات الحية مع مسببات الأمراض الحشرية. تمثل الأرقام العدد التقريبي للأنواع الموصوفة في كل شعبة (فرعية) ويمثل التظليل في عشر وحدات في المربعات النسب النسبية للأنواع المعروفة من مسببات الأمراض الحشرية (أعلى نسبة عندما يكون اللون الأزرق أغمق). تشير النقاط ذات اللون الرمادي الفاتح والأسود والرمادي الداكن إلى الفروع التي تحتوي على مسببات الأمراض الأكثر شيوعًا والأكثر شهرة.

(ب) يحتوي Ascomycota على أكبر عدد من الأنواع الموصوفة وأكبر تنوع ، بما في ذلك مجموعة متنوعة من أشكال الحياة الرخامية والتكافلية والممرضة. تمثل الخطوط السميكة أوامر مع الفطريات المسببة للأمراض الحشرات ونقاط رمادية فاتحة وسوداء ورمادية داكنة تحدد تلك التي تحتوي على أكثر مسببات الأمراض المعروفة: Hypocreales (رمادي غامق ، على سبيل المثال ، كورديسيبس سينسولاتو ، ميتاريزيوم وبوفريا) وأونيجينياليس (أسود ، أسكوسفيرا)

الفطريات المتطفلة على الحشرات التي تعود للفطريات اللاقحية Zygomycota

بالاعتماد على الدراسات الجزيئية والوراثية الحالية بعض الباحثين صنفوا شعبة الفطريات اللاقحية zygomycota الى اربع تحت شعب اهمها Entomophthoromycotina و Mucoromycotian وغالبية فطريات هذه المجموعتين تتواجد عادة في التربة والروث او متطفلات ضعيفة على النباتات والحيوانات (Ujjan and Shahzad, 2012) وتعتبر فطريات الرتبتين Harpellales و Asellariales بمثابة مقاييس القناة الهضمية يخترق النسيج من خلال بطانة القناة الهضمية ويقتل يرقات البعوض عن طريق تثبيط التحلل الانزيمي. وبالاضافة الى ذالك فان العديد من افراد الرتبة Harpellales تتطفل على افراد عائلة الذباب الاسود (Black fly) البالغ Simuliidae حيث تنمو خيوط هذه الفطريات داخل جسم الذبابة وتملئ مبيضها بالتراكيب التكاثرية الفطرية ، فتقوم الذبابة بنشر الفطريات عندما يحاول وضع بيضها في اماكن متفرقة (Subandiyah *et al.*, 2000). صنف التحت شعبة zoopagomycotina الى عدة رتب منها Entomophthorales و zoopagales حيث تضم فطريات متطفلة يقوم بعضها بإنتاج مواد لاصقة او مخاطية تحيط بالحشرة فتعيق حركتها او تنتج حجرة ضيقة حول الحشرة (Ondráčková, 2015)

الفطريات المتطفلة على الحشرات التي تعود للفطريات البازيدية Basidiomycota

غالبًا ما ترتبط الفطريات القاعدية ارتباطاً وثيقا بالحشرات باعتبارها المورد الغذائي الوحيد لها وكموطن ، والعديد من الحشرات تخصب هذه الفطريات وتفرقها(.(2003) *et al.* Freimoser. تحدث ارتباطات الحشرات في الأنواع الفرعية الثلاثة من الفطريات القاعدية (Pucciniomycotina و Ustilaginomycotina و Agaricomycotina) ، ولكن توجد الطفيليات فقط في Septobasidiales من (Pucciniomycetes، إن جنس .Septobasidium وأربعة أجناس إضافية - Auriculoscypha و Uredinella و Coccidiodictyon و Ordonia - هي طفيليات محددة من الحشرات القشرية التي نادرًا ما تقتل مضيفيها ، ولكنها تستخدمها كمزودي المغذيات ، مع إبقائها على قيد الحياة .(Ortiz-Jaber *et al.*, 2016 ; Urquiza and Keyhani, 2013).

طرق الاصابة Infections process

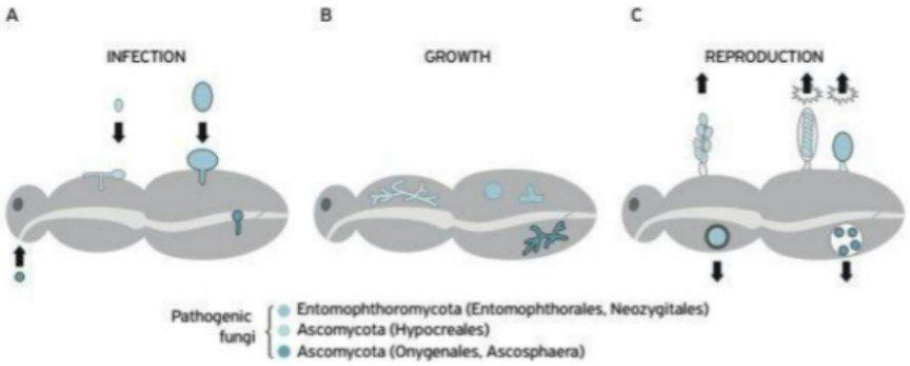
يجب أن تواجه الفطريات الممرضة للحشرات العديد من تحديات المضيف من أجل إنتاج ما يكفي من الأبواغ المعدية الجديدة في كل جيل للحفاظ على مجموعات قابلة للحياة (Ujjan and Shahzad, 2012 ; Ondráčková, 2015)

أولاً: غالبا ما يتطلب الانتقال الناجح إطلاق أعداد ضخمة من الأبواغ و أو أسطح بوغ لزجة أو مواد تزيد من الالتصاق بطرق أخرى

ثانيًا: يجب أن تنبت الجراثيم وتبدأ في اختراق الهيكل الخارجي للحشرة الصلبة بسرعة نسبيًا أو تنجو من الهضم بعد امتصاصه عن طريق الفم.

ثالثًا: يجب أن تتكاثر الخلايا الفطرية داخل hemocoel أو العضلات أو الأنسجة الأخرى لجسم المضيف لتدمير الجهاز المناعي للمضيف بحيث يموت لاحقا .

رابعا: يجب أن يدير العامل الممرض الفطري جثة المضيف لتحسين إنتاج البوغ وانتشاره في ظل الظروف البيئية السائدة. وهكذا ، تظهر الفطريات الممرضة للحشرات عدة خطوات في تطور الالتهابات الفطرية (Subandiyah *et al.*, 2000)



الشكل ٦: يوضح الرسم البياني الطرق التي تصيب بها القطريات المسببة للأمراض مضيفي المفصليات عن طريق الأبواغ اللاجنسية أو الجنسية وتتكاثر وتنتشر.(أ) العدوى تصيب الفطريات Entomophthorales بشكل رئيسي بكونيديا كبيرة لزجة تخترق البشرة مباشرة ، وتصيب فطريات Hypocreales بالكونيدية الصغيرة، التي تنتج هياكل استبدادية جراثيم الأسكوسفيرا صغيرة أيضا تدخل عن طريق الفم وتصيب من خلال ظهارة الأمعاء. (ب) النمو تتكاثر معظم Hypocreales و Onygenales من خلال نمو hyphal وتتكاثر الفطريات Entomophthorales من خلال البروتوبلاست. (ج) التكاثر الكونيديا اللاجنسية للفطريات Entomophthorales والأبواغ الأسكوية الجنسية من Hypocreales يتم تفريغها قسريًا. بشكل أساسي من سطح الجثث الأسهم صعودا إلى اليمين) ، بينما كبيرة جدا وسميكة الجدران جراثيم الراحة الجنسية للفطريات Entomophthorales وغير الجنسية يتم تحرير كونيديا من Hypocreales بشكل سلبي (الأسهم لأعلى ولأسفل إلى اليسار). ينتج Ascosphaera الأبواغ الجنسية فقط التي يتم إطلاقها بشكل سلبي (السهم المتجه لأسفل إلى اليمين)

التصاق الجراثيم في بشرة العائل وإنبات الأبواغ

يحدث التلقيح عن طريق الاتصال المباشر بين الجثث المعدية والمضيفات المعرضة للإصابة أو بشكل غير مباشر عن طريق الجراثيم المحمولة جواً أو الجراثيم المترسبة على الغطاء النباتي أو جزيئات التربة تظهر. تجارب العدوى المعملية أن عددا قليلاً من الجراثيم مطلوب بشكل عام لتحقيق عدوى يمكن التنبؤ بها الفطريات. كائنات غيرية التغذية ، ولكن يجب أن تمتص المركبات العضوية التي تنتجها الكائنات الحية الأخرى كمصادر أساسية للطاقة (Zhang *et al.*, 2011 ; Smith, 1993). الخطوة الأولى للعدوى هي اتحاد التكاثر الفطري في بشرة العائل. يتضمن هذا الارتباط آليات الالتصاق غير المحددة التي يتم التحكم فيها بواسطة الخصائص الكارهة للماء لجدار الخلية الكونيدي تشير العملية إلى التفاعل بين البروتينات الموجودة في الكونيديا والسطح الكارهة للماء للهيكل الخارجي للحشرات الحساسة (Tuininga *et al.*, 2014)

في بعض فطريات الرتبة Hypocreales مثل *Beaveria* و *Metarhizium* و *Isaria* ، ترجع خصائص الكونيديا الكارهة للماء إلى وجود بروتينات غنية بالسيستين تسمى hydrophobins في جدار الخلية في المقابل، يحتوي *Verticillium lecanii* على كونيديا ماء (Rumbos and Athanassiou, 2017). تحدث هذه العملية في ثلاث مراحل متتالية

1. امتزاز الجراثيم إلى السطح من خلال التعرف على مستقبلات بروتين سكري معينة في الحشرة
2. التصاق أو توحيد السطح البيني بين الجراثيم النابتة مسبقا واللصمة ٣- الإنبات والتطوير حتى تشكيل الضغط الذي يبدأ مرحلة الاختراق .
3. تنتج الفطريات الممرضة للحشرات التابعة للرتبة Entomophthorales كونيديا مشتقة تطوريًا من sporangia يتم تفريغ كونيديا من العديد من الفطريات الحشرية بالقوة وتكون كبيرة الحجم وعادة ما تلتصق بقوة بالبشرة عبر طبقات جدار الخلية الزائدة أو المخاط ، مما يساعد في عملية الالتصاق بعض الانواع (Humber *et al.*, 2012) ، على سبيل المثال ، أنواع *Neozygites* و *Zoophthora* ، تنتج أيضًا الشعيرات الدموية المطولة التي تتطور في نهاية الشعيرات الدموية الطويلة النحيلة تصبح هذه التكاثرات سهلة الانفصال عند لمسها من قبل حشرة وتلتصق بالبش

خلال قطيرة لاصقة تنضح من طرف الكونيدة (Jaber *et al.*, 2016). قام Holder and (2005) Keyhani بفحص طريقة التصاق الكونيديا الهوائية . والكونيدية المغمورة ، والأبواغ المتفجرة من *B. bassiana* على الأسطح الكارهة للماء وبينت نتائجهم ما يلي:

1 - ترتبط الكونيديا الهوائية جيدًا بالأسطح الكارهة للماء ولكنها ضعيفة مع الأسطح المحبة للماء

2- سوف تلتصق الكونيديا المغمورة بالأسطح الكارهة للماء والماء .

٣- سوف تلتصق الأبواغ المتفجرة في المختبر بقوة بالأسطح المحبة للماء وترتبط بشكل ضعيف بالأسطح الكارهة للماء.

تتم عملية الالتصاق بين الجراثيم وبشرة الحشرة من خلال وجود جزيئات يصنعها الفطر تسمى مواد لاصقة. تم وصف نوع من الالتصاق يعرف باسم MAD1 ، والذي يقع على سطح الكونيديا ، في Metarhizium anisopliae. يشارك بروتين آخر شبيه بالالتصاق ، MAD2 ، في التصاق M. anisopliae على أسطح النبات ، ويبدو أيضًا أنه مرتبط بكفاءة جذر نبات M. anisopliae. يؤثر اضطراب ترميز الجين MAD1 على الإنبات وتكوين المتفجرات ، مما يقلل بشكل كبير من ضراوة الفطريات (Ujjan and 2012 Shahzad,). يحدث الإنبات عندما يجد الكونيدة ظروفًا ملائمة للرطوبة ودرجة الحرارة ومتطلبات غذائية وكيميائية وفيزيائية أخرى في البشرة ، ويمكن أن ينتج عنه تراكيب اختراق مثل الأنابيب الانبات و عضو الالتصاق appressorium أو مادة صمغية تلتصق لبدء تكوين الأنبوب الجرثومي التي تخترق المسام أو الطبقات الخارجية من اللقيمة بمجرد أن يلتصق الكونيدة بالبشرة ، قد يتكون ضغط في نهاية الأنبوب الجرثومي إن appressoria هو بنية العدوى التي يتم من خلالها اختراق العائل من خلال اختراق أو ربط العدوى لبعض فطريات Entomophthorales (Humber *et al.*, 2012). لا تشكل أعضاء التصاق appressorium ويمكن أن تخترق البشرة مباشرة من الأنبوب الجرثومي تحتاج Beaveria bassiana ، من أجل إنبات الكونيديا ، إلى مصدر خارجي للكربون مثل الكيتين ، وبدرجة أقل ، بعض الأحماض الدهنية (Stock, 2009). بالإضافة إلى ذلك، قد تكون الدهون فوق الحشرة مهمة لربط الفطر ببشرة العائل Freimoser *et al.* (2003). يشير إلى دورين محتملين للدهون فوق الحشرة وعلاقتها بالفطريات الممرضة للحشرات الأول هو إتاحة مصادر الطاقة لإنبات الكونيديا النادرة ، والثاني يمكن أن يكون نشاطا محددا مضادا للفطريات قد يثبط الوطاء نمو في الآونة الأخيرة ، ارتبط تدهور الدهون في الطبقة الخارجية كمرحلة نمو قبل تغلغل الفطريات كما تم اقتراح التوليف اللاحق للإنزيمات المتحللة للماء (proteases, lipases and chitinases ، من بين أمور أخرى التي تعمل على تحلل البشرة وتطلق المغذيات للفطر (Altinok *et al.*, 2019 ; Vega *et al.*, 2009.)

النسخ المتماثل Hemocoel Replication

تقوم معظم الفطريات بانتقال ثنائي الشكل الخيطي إلى الشكل وحيدة الخلية اي تشبه الخميرة ، أو بعبارة أخرى ، غالبًا بدون تكوين جدار الخلية وتتطور في البلاستوسبور (blastospores) ، وتجنب التعرف عليها عن طريق تعميم خلايا الدم في hemocoel (Maina *et al.*, 2018) من المحتمل أن تكون مزايا هذا الشكل الخلوي هي الزيادة في معدلات اكتساب المغذيات ويمكن أن تتكاثر الخلايا الفطرية في hemocoel دون أن يكتشفها الجهاز المناعي للحشرة ، والذي يستخدم حواتم جدار الخلية ككاشفات بمجرد إفلاتهم من الجهاز المناعي للحشرة، يحدث تسمم الدم (Zhang *et al.*,2011). يمكن للحشرة أن تستجيب للعدوى من خلال الآليات الخلطية الفينولوكسيدازات والليكتين والبروتينات والببتيدات الدفاعية) أو الخلوية (البلعمة أو التغليف أو كليهما. ومع ذلك ، من الواضح أن الأبواغ المتفجرة لبعض الأنواع مثل *Nomuraea rileyi* لا يتم بلعمها بواسطة خلايا دموية الحشرات ، ربما بسبب عدم وجود بقايا محددة على السطح ، مما

يجعلها غير قابلة للتعرف عليها بواسطة لكتين الفكاهة عندما يتم استنفاذ العناصر الغذائية من الحشرة ، وخاصة مصادر النيتروجين ، تعود مراحل الخميرة إلى نموها الفطري ، كما لوحظ في الفطر Freimoser *Entomophtora thripidum* (Litwin *et al.*, 2020 ; *et al.*, 2003).

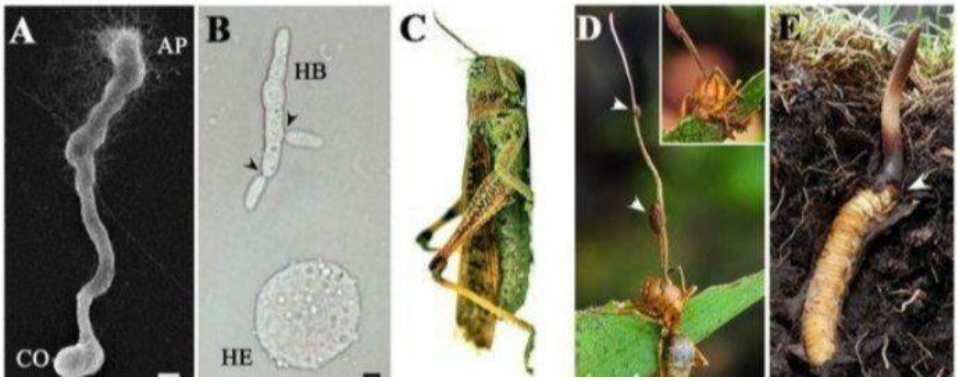
يتسبب الفطر في ظهور أعراض فسيولوجية للشذوذ في الحشرة مثل النوبات ، وقلة التنسيق ، وتغير السلوك والشلل تنتج الوفاة عن مجموعة من التأثيرات التي تشمل الضرر المادي للأنسجة والسمية وجفاف الخلايا بسبب فقدان السوائل واستهلاك العناصر الغذائية بمجرد دخول الحشرة ، يتعين على الفطريات التعامل مع آليات استجابة الجهاز المناعي التي تم تطوير استراتيجيات دفاعية وكابتة للمناعة ، مثل إنتاج السموم أو التغييرات الهيكلية في جدار الخلية (Ondráčková, 2015). يجب أن يتغلب الفطر على اليات الدفاع عن الحشرات لإكمال عملية العدوى عن طريق تخليق البروتياز الأخرى التي تؤدي إلى تدهور جهاز المناعة الخلطية ، وكذلك استخدام ديسبيتيدات دورية، بما في ذلك التدمير ، التي تسبب شللا للحشرة في قدرتها على فتح قنوات الكالسيوم أيضا مثل السموم الأخرى التي تلحق الضرر بالجهاز العضلي وتبيبات Malpighi ، مما يؤثر على الإفراز ويعيق قدرتها على التغذية والحركة (Altinok *et al.*, 2018)

هناك عدد كبير من المستقلبات الثانوية ذات الوزن الجزيئي المنخفض التي تم عزلها من مسببات الأمراض الحشرية ، وقد أظهر العديد منها نشاطا هامشيا في المبيدات الحشرية . على الرغم من قلة دراستها ، فقد لوحظ أيضا أن الجزيئات الكبيرة المختلفة ذات الطبيعة البروتينية لها تأثير مبيد حشري ملحوظ ، مثل بروتينات الميلانين في الفطرين *B. bassiana* و *B. sulphurescens* وبروتين سكري معزول من الفطر *Hirsutella thompsonii* (Asif *et al*,. 2009) تمتلك نواتج الأيض المبيدات الحشرية التي تنتجها الفطريات طرفا عديدة للعمل ، وغالبا ما تكون السبب المباشر لموت الحشرات في كثير من الحالات ، حيث تعمل في الخلايا المتخصصة في الجهاز المناعي لتجنب مهاجمة الهياكل الفطرية الغازية. يعتبر إنتاج السموم من سمات معظم أنواع الفطريات الممرضة للحشرات من بين السموم التي تنتجها *M. anisopline* ، فإن التدمير هو الأكثر دراسة ، من حيث طريقة عملها ، والذي يتضمن تثبيط تخليق الحمض النووي ، والحمض النووي الريبي ، والبروتينات في خلايا الحشرات (Hsia, 2014) .

أخيرًا ، عندما تكون ظروف درجة الحرارة والرطوبة مواتية ، يمكن للخيوط أن تعبر غشاء الحشرة ، مما يحدث لظهور الفطر نحو الخارج بشكل عام، يحدث الظهور في المناطق الأقل تصلبا من الغلاف ، مثل الغشاء بين القطاعات أو الفتحات التنفسية ، ولكن هذا سيعتمد أيضا على المضيف ومرحلة التطور (Vega *et al.*, 2009). نظرا لأن الواصلة التي تتقاطع مع التكامل يمكن أن تظل في المرحلة الخضرية وتبدأ عملية التبويض (مرحلة التكاثر) في غضون ٢٤ إلى ٤٨ ساعة ، اعتمادا على الرطوبة النسبية وتوليف المضادات الحيوية لمنع نمو الكائنات الانتهازية و *B. bassiana* و *B. brongniarti* (Bushley *et al*,. 2013) . تنتج المضاد الحيوي oosporina تشكل الواصلة conidiophores مما يؤدي إلى ظهور الأبواغ اللاجنسية التي هي وحدات معدية مع وظيفة الانتشار. تتحكم العوامل البيئية في إنتاج الكونيديا وبقائها وإنباتها بحيث تكون حاسمة في تطوير الأوبئة الحيوانية. يحدث التبويض عادة في الجثث ، ولكن يمكن أن يحدث أيضا في الحشرات الحية. يمكن أن يكون تشتت الجراثيم عملية نشطة أو سلبية وتعتمد على خصائص البوغ والسبور انجيوم (Asi *et al.*, 2009).

دورة العدوى الفطرية وخصوصية المضيف

تتعرف الفطريات الممرضة للمرض على الحشرات وتصيبها من خلال التصاق الأبواغ وتشكيل اعضاء الألتصاق appressoria التي تخترق البشرة (Ondrakova, 2015) (الشكل ٧ أ). بعد الوصول إلى hemocoel تجويف الجسم للحشرة ، ستتحول الخيوط الفطرية إلى خلايا تشبه الخميرة تخضع لتبرعم للتكاثر السريع وتتصدى للاستجابة المناعية للمضيفين الشكل (ب) لكي تكتمل دورة العدوى، يجب أن تكون الحشرات الميتة إما فطرية لإنتاج الكونيدات مخروطية لاجنسية (الشكل ٧ ج) أو مستعمرة لتشكيل جسم مثمر (الشكل ٧ د ، هـ) لإنتاج جراثيم جنسية للعدوى التالية وبدلاً من ذلك ، يمكن لمسببات الأمراض الحشرية مثل *M. robertsii* مع مجموعة عوائل واسعة أن تشكل علاقة مع منطقة الرايزوسفير rhizosphere-root لنقل النيتروجين من الحشرات الميتة إلى النبات والحصول على الكربون في المقابل هذه إستراتيجية للمثابرة طويلة المدى في التربة عند غياب العوائل المحتمة (Shahid *et al.*, 2012 ; Ondrakova, 2015).



الشكل ٧ - الأنماط الدقيقة والكبيرة المتعلقة بالعدوى الفطرية واستعمار مضيفات الحشرات (أ) تكوين أبريسوريوم (AP) المتزامن مع إنتاج السمع بواسطة robertsii على بشرة حشرة بعد ١٨ ساعة من التلقيح : CO: كونيديوم شريط ه ميكرومتر (ب) تشكيل جسم خيطي (roberts في hemocoel الجراد ٣٦ ساعة بعد الإصابة تشير الأسهم إلى حلقات الانكماش المتكونة لتبرعم تشبه الخميرة : سعادة الكريات الدموية شريط ٥ ميكرومتر (ج) قتل الجراد وفطرته بواسطة الجراثيم اللاجنسية لمسببات الأمراض المحددة . أكريدوم (د) نملة الزومبي هذا النمل الحفار (Camponotussp) قتل واستعمر من قبل (أحادي الجانب تشكيل الجسم المثمر الجنسي (السدي) ، الذي الدلع من رأس الحشرة يظهر الملحق الجزء الأمامي من النملة ، التي كانت مثبتة بإحكام على الورقة قبل موتها. تشير الأسهم إلى لوحات perithecial (هـ) فطر البرقة ظلت برقة عنة الأشباح (Hepialis sp) المصابة بـ O. sinensis(قريبة من.سطح التربة ورأسها مرفوعا حتى الموت، واندلعت المدى من رأس الحشرة (السهم).

الأنواع المختلفة من الفطريات الطفيلية لها نطاقات مختلفة من مضيفات الحشرات الأنواع العامة ، مثل *B. bassiana* و *M.roberts*، يمكن أن تصيب مئات الأنواع من الحشرات من مختلف الرتب ، في حين أن الأنواع مثل *M.acridum* (خاصة بالجراد والجنادب)، و *O.unsideis* (خاص بالنمل الفورميسين)، تصيب فقط مجموعة ضيقة من الحشرات (Maina *et al.*, 2018). على وجه الخصوص. أحادي الجانب هو مجمع الأنواع الذي يتضمن أنواعًا مختلفة كونها مضيفة خاصة للغاية ، والتي تقترب من مستوى فطر واحد مقابل نوع واحد من النمل فيما يتعلق بتطور خصوصية المضيف الفطري ، أظهرت دراسة أنواع *Metarhizium* ذات نطاقات مضيفة مختلفة مسارا اتجاهيًا للأنواع من كونها متخصصة إلى أن تصبح عمومية ، وقد اقترنت العملية بتوسعات عائلة البروتين . على وجه الخصوص ، يرتبط عدد مستقبلات البروتين G المتباينة المقترنة بشكل كبير بخصوصية المضيف (Asi *et al.*, 2009 ; Litwin et al., 2020) .

السيطرة على سلوك الحشرات بواسطة الفطريات الطفيلية

غالبا ما تتلاعب الطفيليات بسلوك مضيفيها ؛ على سبيل المثال ، تنتحر الصراصير الجنادب بالغرق عند إصابتها بدودة الشعر الطفيلية *Spinochordodes tellinii*. كما لوحظ سلوك موت مذهل في النمل الحفار(*Camponotus* spp.) بعد الإصابة بالفطر الطفيلي *O. unsideis* (Asi *et al*., 2009). يتصرف النمل المصاب المحتضر بشكل أساسي مثل الزومبي ؛ يمشون بمفردهم ويتسلقون بشكل غير منتظم إلى ارتفاع معين في الغطاء النباتي (حوالي ٢٥ سم فوق سطح التربة). يأكلون هوامش الأوراق في الغابات المطيرة والأغصان في الغابات المعتدلة ويحدث الانتقال من التجول إلى الاكل بشكل متزامن في وقت الظهيرة (في غضون ساعة ربما بالاقتران مع إشارة شمسية (Ortiz-Urquiza and Keyhani, 2013). ثم ينفجر الجسم الثمر من رؤوسهم الشكل) (١) (د). وبالمثل ، فإن فطر اليرقة *O. sinensis*. يصيب على وجه التحديد يرقات عث الأشباح التي تعيش في التربة(Hepialus spp) ويحافظ على علاقة تكافلية لمدة تصل إلى خمس سنوات . قبل تحنيط مضيفها ، يقود الفطر اليرقة بالقرب من سطح التربة (حوالي ١-٣ سم) ، ثم ينمو الجسم الثمر من رأس اليرقة الشكل (E) يمكن أن تؤدي العدوى بمسببات الأمراض الفطرية الملزمة إلى أمراض "قمة" مماثلة ، أي أن الحشرات المصابة تصعد إلى موضع مرتفع قبل الموت هذه التغييرات السلوكية التي يتم التحكم فيها عن طريق العوامل الممرضة تفيد الفطريات من خلال زيادة كفاءة انتقال الجراثيم لبدء دورة العدوى التالية (Gul *et al*., 2019 ; Abdel, 2015)

تحفيز المناعة السلوكية للحشرات

على النقيض من التلاعب السلبي ، يمكن للحشرات أن تتجنب وتكافح العدوى الفطرية الطفيلية من خلال الاستجابة المناعية السلوكية أو الاجتماعية . يحدث هذا بشكل خاص في الحشرات الاجتماعية مثل نحل العسل والنمل والنمل الأبيض ، والتي يمكن أن تعرض عددًا أقل نسبيًا من جينات الببتيد المضادة للميكروبات للخطر نسبيًا مقارنة بالحشرات غير الاجتماعية (Ondrakova, 2015). يمكن أن تحدث السلوكيات الصحية لنحل العسل والنمل والنمل الأبيض ، مثل الاستمالة المتبادلة ، عن طريق رائحة أبواغ الفطريات *Metarhizium* وتوفر مقاومة سلوكية للعدوى. أشارت دراسات أخرى إلى أن الاستمالة الخيفي للنمل يقترن بالتطهير الكيميائي من خلال انبعاث حمض الفورميك ، مما يقلل من صلاحية *Metarhizium spores* في النمل الأبيض ، يتم استخدام بروتين متعدد الموجه اللعابي يحتوي على مستقبل التعرف على الأنماط ومجال المستجيب المضاد للميكروبات (١) ،٣ - glucanase كمواد لبناء العش لحماية المستعمرات من عدوى *Metarhizium* أو البكتيرية يمكن أن تحدث الوقاية السلوكية أيضا من خلال الانسحاب الاجتماعي والموت في عزلة على سبيل المثال ، نمل الحديقة Lasius neglectus المصاب بالفطر *M. anisopliae* يبتعد عن غرفة الحضنة ، ويتوقف النمل المحتضر عن التواصل الاجتماعي مع رفاقه في العش ويترك أعشاشه قبل الموت بساعات أو أيام. لذلك، على عكس النمل الزومبي الذي تم التلاعب به بواسطة *O. unsideis* الشكل (D) ، فإن الموت بعيدا عن المستعمرة هو استجابة نشطة وإيثارية للنمل المصاب بالفطريات العلاج الوقائي المعتمد على الكثافة يحدث أيضا في الجراد ، لكن الجراد الصحراوي (Schistocerca gregaria) يرفع درجة حرارة الجسم بشكل نشط لمنع عدوى M. acridum . بالإضافة إلى ذلك ، لوحظ ارتفاع في المراقبة المناعية الفسيولوجية في الجراد المجتمعي ، مما مكن الجراد من أن يصبح جماعيًا أكثر مقاومة لعدوى Metarhizium من الأفراد المنفردين Ondráčková, 2015 ; (Malik *et al*., 2016.

كما هو موضح أعلاه، فإن التغيرات السلوكية أثناء تفاعلات الفطريات والحشرات متنوعة ، ولكن بشكل عام ، تتلاعب مسببات الأمراض الخاصة بالمضيف وتلتزم بسلوك الحشرات بينما يمكن أن تؤدي جراثيم الأنواع العامة إلى مناعة سلوكية نشطة للمضيف. تم بذل جهود خاصة بما في ذلك البروتينات المقارنة ، وعلم النسخ ، وعلم الأيض للكشف مؤقتًا عن الآليات الجزيئية الكامنة وراء أمراض الاختطاف الفطري (Stock, 2009). ومع ذلك ، على عكس الجين الوحيد لفيروس baculovirus (egt [ecdysteroid UDP glucosyltransferase]) الذي يمكنه تعطيل هرمون تساقط العثة الغجرية وبالتالي تعزيز مرض القمة وبروتين فوسفاتيز التيروزين ptp) من الفيروس البكتيري الذي يعمل كفيريون البروتين الهيكلي لتسهيل العدوى الفيروسية لأنسجة دماغ الحشرات لتحفيز النشاط الحركي المعزز (ELA) ، لا يزال العامل (العوامل) الرئيسية المشاركة في السيطرة الفطرية لسلوك الحشرات غير معروف (Subandiyah *et al.*, 2000). أشار مسح الجينوم الذي أجريناه إلى عدم وجود جين فيروسي يشبه egt ، ولكن توجد نسخة واحدة من جين ترميز البروتين المحتوي على مجال PTP في جينومات الفطريات الطفيلية للحشرات ، على سبيل المثال، MAA_02506 من *M. robertsi* و BB_03722 من *B. bassiana* Kim *et al.*, 2010) ; Malik *et al.*, 2016). يبقى أن نحدد ما إذا كان التداخل مع دوران الهرمونات أو تأثير ELA الشبيه بالفيروسات الذي يتوسطه PIP يحدث أثناء العدوى الفطرية بالإضافة إلى ذلك ، تشفر جينومات الفطريات الطفيلية مجموعة من عديد الببتيدات الخاصة بالنسب والتي تشبه المستجيب بالإضافة إلى مجموعات الجينات المشاركة في التخليق الحيوي للمستقلبات الصغيرة (Bushley *et al*,.2013) . لقد وجد أن مبيدات الببتيد الحلقي التدمير التي تنتجها *Metarhizium* يمكن أن تستخدم من قبل الفطريات للتهرب من مناعة الحشرات ، وقدرتها على إنتاج السم مرتبطة بخصوصية المضيف تشير النتائج إلى أن الفطريات يمكن أن تنشر مواد كيميائية صغيرة لتغيير فسيولوجيا الحشرات (Litwin et al., 2020)

كما هو الحال في الثدييات ، يلعب مسار الإشارات الدوبامين (DA ؛ ناقل عصبي كاتيكولامين) دورًا محفوظاً في تعديل سلوك اللافقاريات. إلى جانب تصبغ البشرة ، يتزامن التنظيم الأعلى لجينات DA-biosynthetic في رأس الجراد مع تغيير السلوك من الانفرادي إلى التجمعي . كما ثبت أن DA يساهم في تغيير السلوك والتفاعلات الاجتماعية في النمل (Barra-Bucarei *et al.*, ; Kim et al. 2010 2019). أظهر حقن الأمينات الحيوية في نمل الخشب الأحمر (Formica polyctena) أن السيروتونين يمكن أن يحفز السلوك العدواني ، بينما أدت إدارة DA إلى فتح الفك السفلي وسلوكيات عض موجهة ضد الحشرات الأجنبية . كما هو موضح أعلاه، عادةً ما تخترق الفك السفلي لنمل الزومبي أنسجة النبات بعمق ، لذلك من المحتمل ، على الرغم من عدم تأكيده ، أن العدوى الفطرية يمكن أن تغير تراكم DA والمواد الكيميائية الأخرى في الحشرات ، مما يتسبب في تلاعب سلوكي دقيق (Rumbos and Athanassiou, 2017)

تعد التغييرات في سلوك العائل أثناء التفاعلات بين الفطريات والحشرات متنوعة ومعقدة وذات أهمية علمية كبيرة تذكرنا التغييرات السلوكية السلبية أو النشطة في الحشرات بالتكيفات التطورية التي إما تعزز السيطرة عبر المملكة بواسطة الفطريات أو السلوك الإيثاري من قبل المضيفين لا تزال هناك فجوات كبيرة في فهمنا للآليات الجزيئية الكامنة وراء التغيرات السلوكية في الحشرات أثناء تفاعلها مع الفطريات (٢٠١٥ ,Jaber *et al.*, 2016 ; Ondračková). نظرًا للتنوع التصنيفي لكل من الحشرات والفطريات ، يمكن أن تختلف الآلية الجزيئية المشاركة في تغييرات سلوك الحشرات بين أزواج الأنواع المتفاعلة أو تعمل على أساس كل حالة على حدة. إن إنشاء نظام نموذجي مثالي(على سبيل المثال ، نملة الزومبي) ، واكتساب المعلومات الجينومية (Altinok *et al.*, 2019) ، ونشر المعرفة والتقنيات الخاصة بعلوم الوراثة الفطرية ، والتمثيل الغذائي الثانوي ، والكيمياء ، وعلم وظائف الأعضاء وعلم الأعصاب للحشرات من شأنه أن يساعد في الكشف عن الأسرار البيولوجية وراء التغيرات في سلوك الحشرات (Hajek *et al.*, 1994 ; Maina *et al.*, 2018).

بشكل عام ، تطور فهمنا للفطريات الممرضة للحشرات من خلال مراقبة الحشرات الميتة بهدف فهم كيفية استخدام هذه الكائنات كعوامل تحكم بيولوجية آلية الإصابة بالفطريات الممرضة للحشرات معقدة للغاية ولا يزال هناك العديد من الأسئلة التي يجب الإجابة عليها. ليس هناك شك في أن هذه الآلية عالية التخصص ، والمعرفة بالعلاقة بين الحشرات والفطريات ضرورية ، وكلاهما كائنات نشطة (Gul *et al.*, 2019 ; Hsia, 2014) ازداد استخدام الفطريات الممرضة للحشرات في الزراعة في السنوات الأخيرة بسبب الإمكانات الكبيرة التي تتمتع بها في إدارة الآفات ، مما يمثل بديلاً فعالاً لاستخدام المواد الكيميائية للمبيدات الحشرية ، والتي تعتبر ضارة للغاية بصحة الإنسان والنظم البيئية. سيسمح فهم الآليات المتضمنة في عملية العدوى واستخدام تقنيات الهندسة الوراثية الجديدة بتطوير منتجات بيولوجية جديدة فعالة للاستخدام الميداني وحماية أنواع الحشرات المفيدة (Maina *et al.*, 2018 ; Shahid et al., 2012).

المواد وطرائق العمل Method and Materials

أولا: المواد Materials

١- الاجهزة والمعدات Equipment and Instrument

الجدول رقم ١: المعدات والاجهزة المختبرية المستخدمة خلال فترة الدراسة

مع اسم الشركة المصنعة وبلد المنشأ .

اسم الجهاز	الشركة المصنعة (المنشأ)
اطباق بتري Petri Dishes	Bio zek medical (Holland)
ثلاجة Refrigerator	Vistal (Poland)
جهاز المازج المغناطيسي Magnatic stirrers	Heidolph (Germany)
جهاز تقطير Distal water	GFR ® (Germany)
حاضنة Incubator	Human Lab (Korea)
دوارق مختلفة الاحجام Different volum of Flask	Iso Lab (Germany)
شرائح زجاجية وغطاء الشريحة Slides and cover slides	Superestar (India)
فرن كهربائي Oven	Memmert (Germany)
كابينة زرع Biosafety cabinet	Zenith lab (china)
كفوف Gloves	Broche (Malaysia)
مجهر ضوئي Light microscope	Olympus (Japan)
مصباح بنزن Benzen burner	Iraq
المؤصدة Autoclave	Hirayama (Japan)
ميزان حساس Sensitive Balace	Sarorius (Germmany)
الناقل الزرعي Standard wire loop	Himedia (India)

٢- المواد الكيميائية Chemical Materials

جدول رقم ٢: المواد الكيميائية المستخدمة في الدراسة مع اسم الشركة المصنعة والبلد .

اسم المادة	الشركة المصنعة (المنشأ)
70% Ethanol	Unicare (Dubai)
Lactophenol cotton blue	Bio neer Korea
Lactophenol	Bio neer Korea

طرائق العمل Methods

جمع العينات Sample collection

تم جمع ٢٠ حشرة حية من نوع الصرصر الامريكي (American cockroach) واسمه العلمي *Periplaneta americana* مركز المدينة العمارة في محافظة ميسان خلال المدة من تشرين الثاني ٢٠٢٢ لغاية كانون الثاني ٢٠٢٣ ووضعت الحشرات في أكياس من النايلون معقمة مع تسجيل تاريخ ومكان جمع العينات ثم تم نقلها الى المختبر.

وسط البطاطا دكستروز آكار Potato Dextrose Agar (PDA)

حُضِّر الوسط حسب توصيات الشركة المصنعة وذلك بإضافة ٣٩ غم من الوسط في 1000 مل من الماء المقطر في دورق زجاجي وعُقم الوسط بعد إذابته بصورة جيدة بجهاز الموصدة Autoclave تحت درجة حرارة (121 م°) وضغط 15 باوند \ انج^2 ولمده 15 دقيقة. وبعد انخفاض درجة حرارة الوسط صب في أطباق بتري زجاجية معقمة قطرها ذات قطر ٩ سم.

طريقة عزل الفطريات

زرعت العينات بعد جلبها الى المختبر مباشرة على سطح وسط البطاطا دكستروز آكار بعد تقطيعها الى قطع صغيرة بواسطة مشرط معقم ، زرعت ٥ قطع من كل حشرة على سطح الوسط الزرعي . حضنت الاطباق بدرجة حرارة ٢٥±٢ مْ في الحاضنة Incubator

الفحص المظهري للفطريات وتشخيصها

لدراسة الفطريات المعزولة وتشخيصها بشكل دقيق فحصت الاطباق بعد مرور 7– 10, ثم يتم تحضير مزارع نقية للفطريات النامية على الاوساط الزرعية وذلك بنقل جزء من حافة المستعمرة الفطرية الظاهرة في الاطباق الحاوية على العينات باستعمال لوب معقم الى أطباق حاوية على نفس الوسط الزرعي التي زرعت عليها العينات في البداية، وللغرض نفسه حضرت مزارع مائلة (Slant Cultures) , حيث يتم تلقيحها أيضا بجزء من المستعمرة النقية وتحضن بدرجة حرارة +_ 25 م° لمدة 7– 10 أيام حسب نوع الفطر , ثم تحفظ في الثلاجة بدرجة حرارة (4 م°) لاستخدامها عند الحاجة.

الفحص المجهري الخيوط الفطرية

تم تشخيص الفطريات المعزولة من خلال فحص الخيوط الفطرية والكونيدات من حيث اشكالها، ابعادها، طريقة ترتيبها على الخيوط الفطرية، الوانها، والابواغ الكلاميدية. ولهذا الغرض تم عمل شرائح زجاجية حاوية على جزء من المستعمرة الفطرية ووضع قطرة من صبغة اللاكتوفينول الزرقاء في اذا كانت الخيوط الفطرية والكونيدات شفافة و صبغة اللاكتوفينول اذا كانت الخيوط الفطرية والكونيدات ملونة، وفحصها تحت المجهر على قوة تكبير (10x او 40 x او 100x).

شخصت الفطريات بالاعتماد على المفاتيح التصنيفية التالية (Ellis, ; Ellis, 1971 ; Ellis, 1965 1976 ; Frisvad and ; Hyde *et al* ., 1999 ; Kohlmeyer and Kohlmeyer, 1979 ; Samnels *et al* ., ; Samson *et al* ., 2011 ; Refai *et al* ., 2015 ; Samson, 2004 Luo *et* ; Hemandez-Restrepo *et al* ., 2017 ; Raghukumar C, 2012 ; 2012 (*al* ., 2019

حساب النسبة المئوية للظهور والتردد Occurrence and Frequnaty

تم حساب النسبة المئوية لظهور الأنواع الفطرية المعزولة من حشرة الصرصر الامريكي بالاستعانة بالمعادلة التالية :

$$\text{النسبة المئوية للظهور \%} = \frac{\text{عدد عزلات النوع الواحد}}{\text{عدد العينات}} \times 100$$

تم حساب النسبة المئوية لتردد الأنواع الفطرية المعزولة من حشرة الصرصر الامريكي بالاستعانة بالمعادلة التالية :

$$\text{النسبة المئوية للتردد \%} = \frac{\text{عدد عزلات النوع الواحد}}{\text{عدد العزلات الكلية}} \times 100$$

النتائج Results

الدراسة المسحية للفطريات المعزولة

تم خلال الدراسة عزل وتشخيص ١٦ نوعا من الفطريات التي تنمو على وداخل جسم حشرة الصرصر، وجميع الفطريات المعزولة تعود الى الفطريات اللاقحية Zygomyccota (جدول رقم ٣).

عزلت خلال الدراسة ٢٧ عزلة فطرية واظهرت الدراسة ان الفطر *Beauveria bassiana* اعطى اعلى عدد من العزلات بلغت ٥ عزلات واعلى نسبة ظهور وتردد بلغت 25 % و 18.5% على التوالي لكل منهما، تلاه الفطر *Metarhizium anisopliae* حيث عزلت ٤ عزلات و نسبة ظهور وتردد بلغت 20 % و 14.8 % على التوالي، ثم الفطر *B. pseudobassiana* (٣ عزلات و ١٥ % ظهور و ١١,١ % تردد). واظهرت بقية العزلات نسبة ظهور وتردد بلغت ٥ % و ٣,٧ % لكل منها على التوالي زلة واحدة لكل فطر وبنسبة تردد بلغت ٥,٣% لكل منها، ما عدا النوعين *Basidiobolus ranarum* و *Exophiala dermatitidis* والتي عزلت عزلتين لكل منهما وبنسبة ظهور وتردد بلغت ١٠ % و ٧,٤ % لكل منها على التوالي.

تلعب الفطريات المتطفلة على الحشرات Entomopathogenic fungi دورا حيويا مهما ورئيسيا في السيطرة على الحشرات الممرضة وبالتالي امكانية استخدامها كعوامل سيطرة حيوية على للحشرات Insect pests control agents، في البيئة الطبيعية اعتبر الاحياء المجهرية الممرضة عوامل سيطرة حيوية طبيعية على مجتمع الآفات الحشرية Insect pest population (Malik *et al.*, 2016 ; Maina *et al.*, 2018).

تشير الدراسات الى ان تشخيص الفطريات الممرضة للحشرات المهمة يكون سريع وسهل لأنها تمتلك صفات واضحة (Humber, 2012 ; Scholte *et al.*, 2004)، وان غالبية هذه الفطريات تعود الى رتبة Entomophthorales والفطريات بالطور اللاجنسي Hyphomycetes، وبعض هذه الفطريات تعتبر مسببات الأمراض الانتهازية Opportunistic pathogens وعادة ما تسبب موت الحشرات بسبب نقص التغذية وتدمير الأنسجة وإفراز السموم. تلعب الإنزيمات المحللة للهيكل الخارجي Exoskeleton (طبقة الكايتين) للحشرة التي تفرزها هذه الفطريات مثل الكايتينيز والبروتيز واللايبيز دورًا مهمًا في اصابة الحشرات وتحطيم هذا الهيكل الحشرات وخصوصا بعد اختراق أنبوب الانبات germination tube لكونيدات هذه الفطريات (Barra-Bucarei *et al.*, 2019 ; Malik *et al.*, 2016). وآلية اختراق ودخول الفطريات الممرضة للحشرات من خلال طبقة كيوتكل الحشرة عن طريق آليتين هما الضغط الميكانيكي والتحلل الإنزيمي (Litwin *et al.*, 2020) .

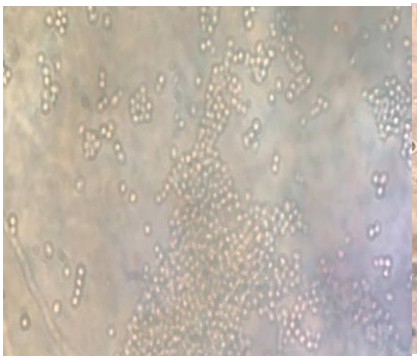
هناك ارتباط وثيق بين الفطريات الممرضة للحشرات والحشرات لأن الفطريات تستخدم مادة الكايتين كمصدر للكربون ، وهو المكون الرئيسي لهيكلها الخارجي (Barra-Bucarei *et al.*, 2019) ، تلتصق الكونيدات بجسم الحشرات وتبدأ دورة الحياة الفطر. تنقسم دورة الحياة إلى مرحلة طفيلية تبدأ بإصابة الحشرة وتستمر حتى يموت العائل ، ومرحلة رمية تحدث بعد موت الحشرة. في المرحلة الأولى ، يحدث تلامس بين الكونيدات والحشرة ثم يتكون أنبوب الإنبات، بعد ذلك يخترق عضو الالتصاق appressorium

وتتكون الممصات haustoria ومن خلال الضغط الميكانيكي الذي (الضغط الخيطي) والإنزيمي (Altinok *et al.*, 2019 ; Meyling, 2007).

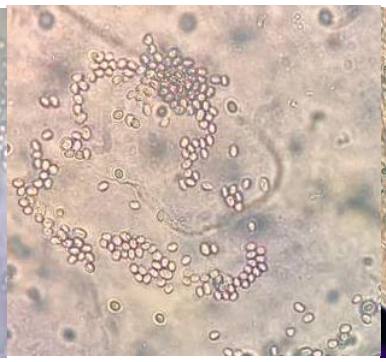
يعتبر الصرصر الامريكي من الحشرات التي تنتشر في جميع انحاء العالم وفي كل مكان تقريبا، وتنقل الكثير من الامراض للإنسان (Baggio-Deibler *et al.*, 2018)، يمكن ان تصاب الصراصير بالكثير الفطريات مما يؤدي الى موت الكثير منها (Yu, 2020) حيث لوحظ ان الفطريات الممرضة للحشرات تفرز انزيمات قادرة على تحليل طبقة الكايتين التي تغطي جيم الصرصر (Rosa *et al.*, 2020). وذكر Baggio-Deibler *et al.* (2018) ان الكثير من الفطريات عزلت من الصراصير ومنها *M.anisopliae* و *B. bassiana*، وتعتبر انواع جنس *Beauveria* من الانواع الاكثر شيوعا في التطفل على الحشرات وخصوصا الصراصير فوجد ان النوعين *B. bassiana* و *B. pseudobassiana* الاعلى ترددا بالمقارنة مع بقية الانواع (Gautam *et al.*, 2020) ، ووجد ايضا ان انواع جنس *Metarhizium* من الفطريات المتطفلة والشائعة التي تصيب الصرصر الامريكي وخصوصا النوعين *M. anisopliae* و *M. pinghaense* (Chao *et al.*, 2020). وهذا يتفق مع ما توصلت اليه دراستنا من ان انواع الجنسين *Beauveria* و *Metarhizium* هما الأكثر ترددا وظهورا مقارنة مع بقية الفطريات المعزولة، لذلك تستخدم فطريات هذين الجنسين في السيطرة البايلوجية على الحشرات وخصوصا الصراصير (Vejar-Cota *et al.*, 2017 ; Imoulan *et al.*, 2017).

جدول رقم ٣ : نسبة تردد وظهور الانواع الفطرية المعزولة من الصرصر الامريكي

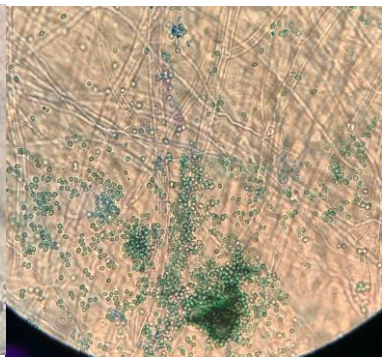
الانواع الفطرية	عدد العزلات	نسبة الظهور %	نسبة التردد %
Akanthomyces attenuates	١	5	3.7
Beauveria bassiana	٥	25	18.5
B. pseudobassiana	٣	15	11.1
Basidiobolus ranarum	٢	10	7.4
Spodoptera frugiperda	١	5	3.7
Samsoniella alboaurantiu	١	5	3.7
Lecanicillium pissodis	1	5	3.7
Zygorhynchus moelleri	١	5	3.7
Syncephalotrichum racemosum	١	5	3.7
Metarhizium anisopliae	٤	20	14.8
M. pinghaense	٢	10	7.4
Exophiala dermatitidis	١	5	3.7
Tetranychus urticae	١	5	3.7
Zoophthora radicans	١	5	3.7
Mortirella humilis	١	5	3.7
Mucor hachijoensis	١	5	3.7
المجموع الكلي للعزلات	٢٧		١٠٠



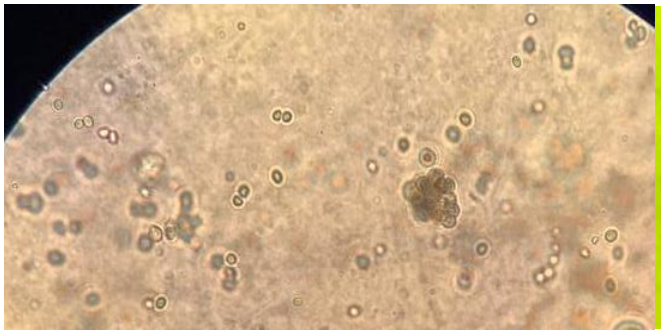
B. pseudobassiana



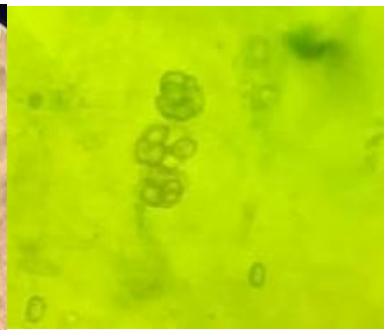
Beauveria bassiana



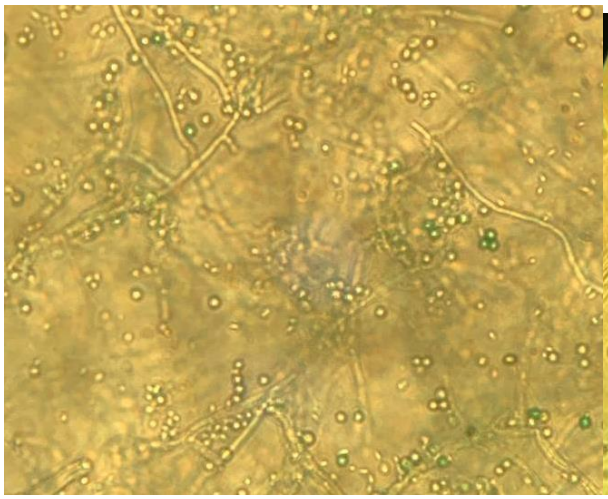
Akanthomyces attenuates



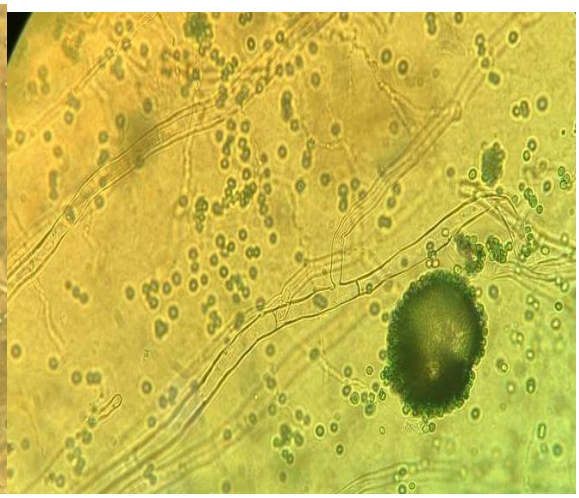
Spodoptera frugiperda



Basidiobolus ranarum

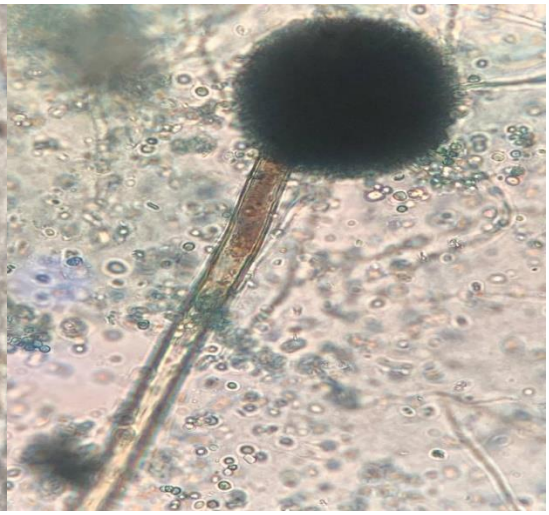


Lecanicillium pissodis



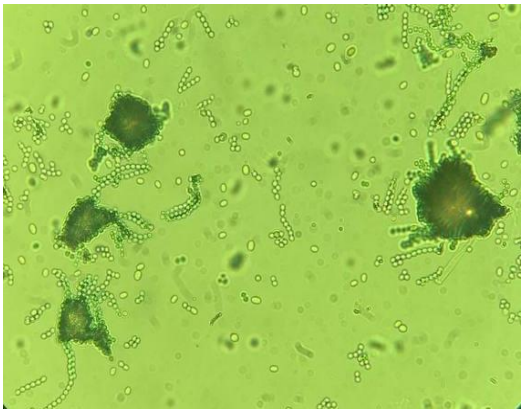
Samsoniella alboaurantium

Syncephalotrichum racemosum

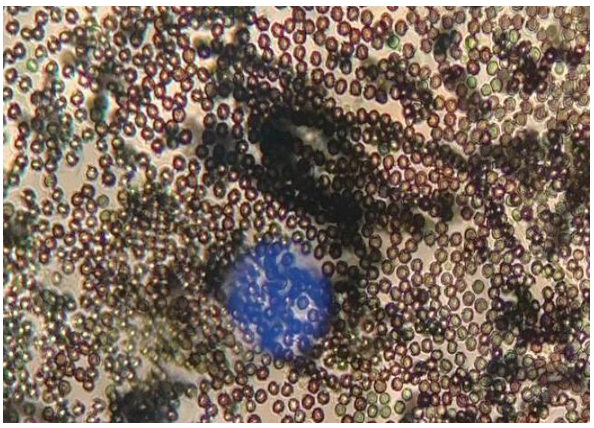


Zygorhynchus moelleri

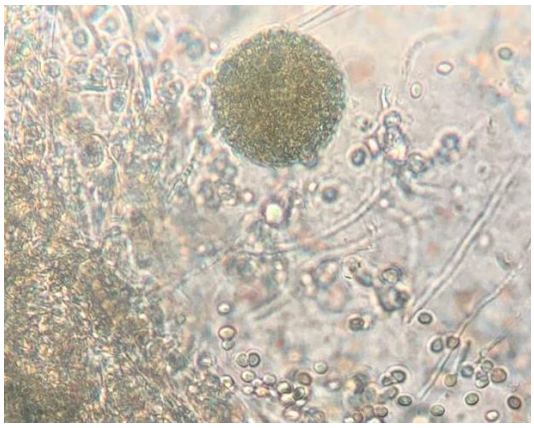
Exophiala dermatitidis



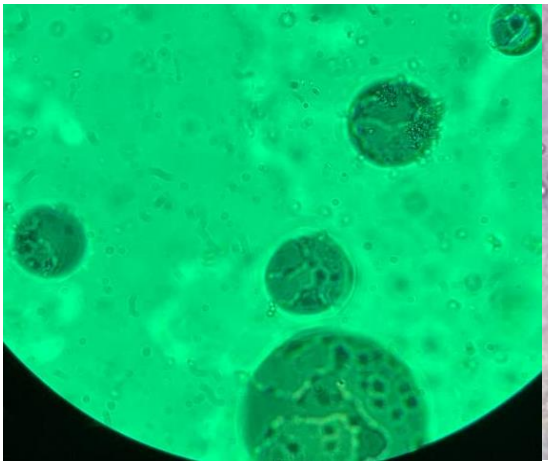
Metarhizium anisopliae



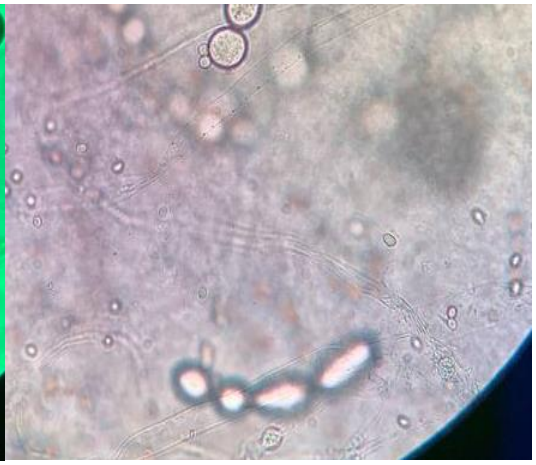
Metarhizium pinghaense



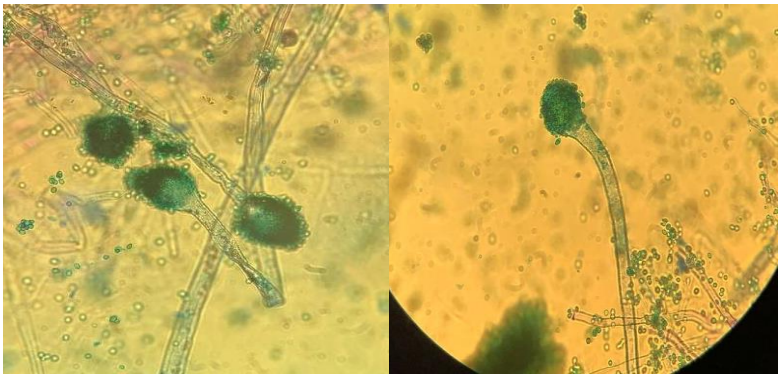
Tetranychus urticae



Mortirella humilis



Zoophthora radicans



Mucor hachijoensis

References المصادر

AbdelGany TM. Entomopathogenic Fungi and Their Role in Biological Control. OMICS Group eBooks, Foster city, USA. 2015, 46 DOI:10.4172/978-1-63278- 065-2-66.

Abdel-Raheem, M., Abd El-Rahman, I. E. S., & Reyad, N. F. (2016). Entomopathogenic fungi. LAP LAMBERT Academic Publishing.

Altinok, H. H., Altinok, M. A., & Koca, A. S. (2019). Modes of action of entomopathogenic fungi. Curr. Trends Nat. Sci, 8(16), .117-124.

Altinok, H. H., Altinok, M. A., & Koca, A. S. (2019). Modes of action of entomopathogenic fungi. *Current Trends in Natural Sciences*, *8*(16), 117-124.

Asi MR, Bashir MH, Afzal M, Imran S. Effect of Conidial Concentration of Entomopathogenic Fungi on Mortality of Cabbage Aphid, Brevicoryne brassicae L. Pakistan Journal of Life and Social Sciences. 2009; 2:175-180.

Balazy, S. Entomophthorales. Krakow, Poland: Polish Academy of Sciences, v.24, 1993.

Baggio-Deibler, M. V., da Costa Ferreira, M., Monteiro, A. C., de Souza-Pollo, A., & Lemos, M. V. F. (2018). Management of the American cockroach's oothecae: The potential of entomopathogenic fungi control. *Journal of invertebrate pathology*, *153*, 30-34.

Barra-Bucarei, L., France Iglesias, A., & Pino Torres, C. (2019). Entomopathogenic Fungi. *Natural Enemies of Insect Pests in Neotropical Agroecosystems: Biological Control and Functional Biodiversity*, 123-136.

Berbee, M. L., & Taylor, J. W. (2010). Dating the molecular clock in fungi–how close are we?. Fungal Biology Reviews, 24(1- 2), 1-16. SILVA, W.; SANTI, L.; SCHRANK.

Chao, Y., Wang, M., Dai, W., Dong, F., Wang, X., & Zhang, F. (2020). Synergism between Hydramethylnon and *Metarhizium anisopliae* and Their Influence on the Gut Microbiome of *Blattella germanica* (L.). *Insects*, *11*(8), 538.

Da Silva, W. O. B., Santi, L., Schrank, A., & Vainstein, M. H. (2010). Metarhizium anisopliae lipolytic activity plays a pivotal role in Rhipicephalus (Boophilus) microplus infection.Fungal Biology, 114(1), 10-15.

Fargues, J., Goettel, M. S., Smits, N., Ouedraogo, A., Vidal, C., Lacey, L. A., & Rougier, M. (1996). Variability in susceptibility to simulated sunlight of

conidia among isolates of Entomopathogenic Hypsometers'. Mycopathologia, 135(3), 171-181.

Freimoser, F. M., Screen, S., Hu, G., & Leger, R. S. (2003). EST analysis of genes expressed by the zygomycete pathogen Conidiobolus coronatus during growth on insect cuticle. Microbiology, 149(7), 1893-1900.

Gautam, U. K., Bohatá, A., Shaik, H. A., Zemek, R., & Kodrík, D. (2020). Adipokinetic hormone promotes infection with entomopathogenic fungus *Isaria fumosorosea* in the cockroach *Periplaneta americana.Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, *229*, 108677.

Gul, H. T., Saeed, S., & Khan, F. A. (2014). Entomopathogenic fungi as effective insect pest management tactic: A review. *Applied Sciences and Business Economics*, *1*(1), 10-18.

Hafiza TG, Shafqat S, Fawad ZAK. Entomopathogenic Fungi as Effective Insect Pest Management Tactic: A Review. Applied Sciences and Business Economics. 2014; 1(1):10-18.

Hajek AE, St. Leger RJ. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. Annual review of entomology. 1994; 39(1):293- 322.

Holder, D. J., & Keyhani, N. O. (2005). Adhesion of the entomopathogenic fungus Beauveria (Cordyceps) bassiana to substrata. Applied and environmental microbiology, 71(9), 5260- 5266.

Hsia ICC, Touhidul Islam M, Ibrahim Y, How TY, Omar D. Evaluation of Conidial Viability of Entomopathogenic Fungi as Influenced by Temperature and Additive. International journal of Agriculture and Biology. 2014; 16(1):146-152.

Humber, R. A. (2012). Identification of entomopathogenic fungi. *Manual of techniques in invertebrate pathology*, 151-187.

Imoulan, A., Hussain, M., Kirk, P. M., El Meziane, A., & Yao, Y. J. (2017). Entomopathogenic fungus Beauveria: Host specificity, ecology and significance of morpho-molecular characterization in accurate taxonomic classification. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, *20*(4), 1204-1212.

Kim, J.S., Roh, J.Y. Choi, J.Y. Wang, Y. Shim, H.J., Je, Y.H. (2010). Correlation of the aphicidal activity of Beauveria bassiana SFB-205 supernatant with enzymes. Fungal Biol, 114, 120–128.

Litwin, A., Nowak, M., & Różalska, S. (2020). Entomopathogenic fungi: unconventional applications. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, *19*(1), 23-42.

Maina, U. M., Galadima, I. B., Gambo, F. M., & Zakaria, D. (2018). A review on the use of entomopathogenic fungi in the management of insect pests of field crops. Journal of Entomology and Zoology Studies, 6(1), 27-32.

Maina, U. M., Galadima, I. B., Gambo, F. M., & Zakaria, D. (2018). A review on the use of entomopathogenic fungi in the management of insect pests of field crops. *J. Entomol. Zool. Stud*, *6*(1), 27-32.

Malik, M. A., Manzoor, M., Ali, H., Muhammad, A., ul Islam, S., Qasim, M., ... & Saqib, H. S. A. (2016). Evaluation of imidacloprid and entomopathogenic fungi, Beauveria bassiana against the red palm weevil Rhynchophorus ferrugineus (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, *4*(1), 262-268.

Meyling, N. V. (2007). Methods for isolation of entomopathogenic fungi from the soil environment-laboratory manual.

Ondráčková, E. (2015). The use of entomopathogenic fungi in biological control of pests. Acta Fytotechn Zootechn, 18, (Special Issue): 102–105.

Ortiz-Urquiza A, Keyhani NO. Action on the Surface: Entomopathogenic Fungi versus the Insect Cuticle. Insects. 2013; 4:357-374.

Rosa, E., Ekowati, C. N., HANDAYANI, T. T., IKHSANUDIN, A., PRILIANI, F., & Arifiyanto, A. (2020). Characterization of entomopathogenic fungi as a natural biological control of American cockroaches (Periplaneta americana). *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, *21*(11).

Roy, H. E., Steinkraus, D. C., Eilenberg, J., Hajek, A. E., & Pell, J. K. (2006). Bizarre interactions and endgames: entomopathogenic fungi and their arthropod hosts. Annu. Rev. Entomol., 51, 331-357.

Rumbos, C. I., & Athanassiou, C. G. (2017). Use of entomopathogenic fungi for the control of stored-product insects: can fungi protect durable commodities?. Journal of pest science, 90(3), 839-854.

Scholte, E. J., Knols, B. G., Samson, R. A., & Takken, W. (2004). Entomopathogenic fungi for mosquito control: a review. *Journal of insect science*, *4*(1), 19.

Sevim, A., Demir, I., Höfte, M., Humber, R. A., & Demirbag, Z. (2010). Isolation and characterization of entomopathogenic fungi from hazelnut-growing region of Turkey. Biocontrol, 55(2), 279- 297.

Sevim, A., Sevim, E., Demirbağ, Z. (2015). General biology of entomopathogenic fungi and their potential to control pest species in Turkey (Entomopatojenik fungusların genel biyolojileri ve Türkiye'de zararlı böceklerin mücadelesinde kullanılma potansiyelleri). Erzincan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 8(1), 115–147.

Shah, P. A., & Pell, J. K. (2003). Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Applied microbiology and biotechnology*, *61*(5), 413-423

Shahid, A. A., Rao, Q. A., Bakhsh, A., & Husnain, T. (2012). Entomo-pathogenic fungi as biological controllers: new insights into their irulence and pathogenicity. Archives of Biological Sciences, 64(1), 21-42.

Smith, P. (1993). Control of Bemisia tabaci and the potential of *Paecilomyces fumosoroseus* as a biopesticide. Biocontrol News & Info, 14, 71–78.

Stock, S.P., Vandenburg, J., Glazer, I., Boemare, N. (2009). Insect Pathogens Molecular Approaches and Techniques, CAB International; 417pp.

Subandiyah, S., Nikoh, N., Sato, H., Wag man, F., Tsuyumu, S., & Fukatsu, T. (2000). Isolation and characterization of two entomopathogenic fungi attacking Diaphorina citri (Homoptera, Psylloidea) in Indonesia. Mycoscience, 41(5), 509-513.

Tuininga, A. R., Miller, J. L., Morath, S. U., Daniels, T. J., Falco, R. C., Marchese, M., ... & Stafford, K. C. (2014). Isolation of entomopathogenic fungi from soils and Ixodes scapularis (Acari: Ixodidae) ticks: prevalence and methods. Journal of medical entomology, 46(3), 557-565.

Ujjan AA, Shahzad S. Use of entomopathogenic fungi for the control of mustard aphids (Lipaphi serysimi) on canola (*Brassica napus* L.). Pakistan Journal of Botany. 2012; 44:2081-2086.

Vega FE, Goettel MS, Blackwell M, Chandler D, Jackson MA, Keller S et al., Fungal entomopathogens: New insights on their ecology. Fungal Ecology. 2009; 2:149- 159.

Vega, F. E., Meyling, N. V., Luangsa-ard, J. J., & Blackwell, M. (2012). Fungal entomopathogens. Insect pathology, 171-220.

Vejar-Cota, G., García-Gutiérrez, C., Rosas-García, N. M., Escobedo-Bonilla, C. M., & González-Ocampo, H. A. (2017). Morphological and molecular characterization of entomopathogenic fungi with potential to control sugarcane borers at Sinaloa. *Southwestern Entomologist*, *42*(2), 395-400.

Wang, C., & Wang, S. (2017). Insect pathogenic fungi: genomics, molecular interactions, and genetic improvements. Annual review of entomology, 62, 73-90.

Yu, J. H. (2010). Regulation of development in *Aspergillus nidulans* and *Aspergillus fumigatus*. *Mycobiology*, *38*(4), 229-237.