Faculty of Science

Dept. of Entomology

EFFECT OF SOME ENTOMOPATHOGENS AND INSECTICIDES AGAINST THE COTTON LEAFWORM, *SPODOPTERA LITTORALIS* (BOISDUVAL) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE)

A Thesis Submitted for

The requirement for the degree of

DOCTOR OF PHILSOPHY

(Entomology)

BY

SARA MOHAMMED IBRAHIM ABD EL-KAREEM

B.Sc. Sci. (Entomology), Ain Shams University, June 2003

M. Sc. Sci. (Entomology), Ain Shams University, 2007

Under the supervision of:

Prof. Dr. Adel Sobhy El-Akad
Prof. Entomology, Entomology Dept., Fac. Science, Ain Shams Uni.

Prof. Dr. Mohamed Adel Hussein Tawfik
Prof. Pesticides, Entomology Dept., Fac. Science, Ain Shams Uni.

Dr. Atef Ali El-Banna
Assist. Prof. Entomology, Entomology Dept., Fac. Science, Ain Shams Uni.

Dr. Adel Ramzy Fahmy
Assist. Prof. Entomology, Entomology Dept., Fac. Science, Ain Shams Uni.

Prof. Dr. Hassan Kasem Bekheit
Prof. Pesticides, Plant Protection Research Institute, Agricultural Research Center

2012

Biography

Full Name	**:**	Sara Mohammed Ibrahim Abd El-Kareem
Birth date	**:**	21/12/1982
Birth place	**:**	Cairo
Graduation date	**:**	2003
Awarded degrees	**:**	1- B.Sc. (Special Entomology, very good 2003) 2- M. Sc. (Entomology) (2007)
Religion	**:**	Muslim
Marital status	**:**	Married
Occupation	**:**	Assistant lecturer, Microbial agent compounds production unit, Plant Protection Research Institute, Agricultural Research Center, Dokki, Giza, Egypt
Appointment date	**:**	2009
Registration date	**:**	2009

Faculty of Science

Dept. of Entomology

Supervisors

1- Prof. Dr. Adel Sobhy El-Akad

Professor of Entomology, Department of Entomology, Faculty of Science, Ain Shams University

2- Prof. Dr. Mohamed Adel Hussein Tawfik

Professor of Pesticides, Department of Entomology, Faculty of Science, Ain Shams University

3- Dr. Atef Ali Elbanna

Assistant Professor of Entomology, Department of Entomology, Faculty of Science, Ain Shams University

4- Dr. Adel Ramzy Fahmy

Assistant Professor of Entomology, Department of Entomology, Faculty of Science, Ain Shams University

5- Prof. Dr. Hassan Kasem Bekheit

Professor of Pesticides, Plant Protection Research Institute, Agricultural Research Center

Faculty of Science

Dept. of Entomology

APPROVAL SHEET

Student Name : Sara Mohammed Ibrahim Abd El-Kareem

Thesis Title : Effect of some entomopathogens and insecticides against the cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae)

Degree : Ph. D. (Entomology)

Approved By:

1- Prof. Dr. Ahmed Hassan Abo Ghalia

Professor of Entomology, Faculty of Science, Elsweis Canal University

2-Prof. Dr. Mohamed El-Sayed Khalil

Professor of Pesticides, Faculty of Science, Menofya University

3- Prof. Dr. Adel Sobhy El-Akad

Professor of Entomology, Faculty of Science, Ain Shams University

4- Prof. Dr. Mohamed Adel Hussein Tawfik

Professor of Pesticides, Faculty of Science, Ain Shams University

Date / /2012

كلية العلوم

قسم علم الحشرات

تأثير بعض ممرضات الحشرات والمبيدات الكيميائية على دودة ورق القطن الكبرى

رسالة مقدمة للحصول على درجة دكتوراة الفلسفة فى العلوم فى علم الحشرات

من

سارة محمد إبراهيم عبد الكريم

بكالوريوس العلوم (علم الحشرات، خاص)، كلية العلوم، جامعة عين شمس، يونيو ٢٠٠٣

ماجستير العلوم (علم الحشرات)، كلية العلوم، جامعة عين شمس، ٢٠٠٧

تحت إشراف

أ.د/ عادل صبحى العقاد

أستاذ علم الحشرات، قسم علم الحشرات، كلية العلوم، جامعة عين شمس

أ.د/ محمد عادل حسين توفيق

أستاذ المبيدات، قسم علم الحشرات، كلية العلوم، جامعة عين شمس

د/ عاطف على البنا

أستاذ مساعد علم الحشرات، قسم علم الحشرات، كلية العلوم، جامعة عين شمس

د/ عادل رمزى فهمى

أستاذ مساعد علم الحشرات، قسم علم الحشرات، كلية العلوم، جامعة عين شمس

أ.د/ حسن قاسم بخيت

رئيس بحوث، معهد بحوث وقاية النباتات، مركز البحوث الزراعية

٢٠١٢

كلية العلوم

قسم علم الحشرات

عنوان الرسالة: تأثير بعض ممرضات الحشرات والمبيدات الكيميائية على دودة ورق القطن الكبرى

اسم الطالب : سارة محمد إبراهيم عبد الكريم

الدرجة العلمية : الدكتوراة فى فلسفة العلوم

القسم التابع له : علم الحشرات

اسم الكلية : العلوم

اسم الجامعة : عين شمس

سنة التخرج : ٢٠٠٣م

سنة المنح : ٢٠١٢م

كلية العلوم

قسم علم الحشرات

رسالة : دكتوراة فى فلسفة العلوم

اسم الطالب : سارة محمد إبراهيم عبد الكريم

عنوان الرسالة : تأثير بعض ممرضات الحشرات والمبيدات الكيميائية على دودة ورق القطن الكبرى

لجنة الإشراف:

أ.د/ عادل صبحى العقاد	أستاذ علم الحشرات- قسم علم الحشرات- كلية العلوم- جامعة عين شمس
أ.د/ محمد عادل حسين توفيق	أستاذ المبيدات- قسم علم الحشرات- كلية العلوم- جامعة عين شمس
د/ عاطف على البنا	أستاذ مساعد علم الحشرات- قسم علم الحشرات- كلية العلوم- جامعة عين شمس
د/ عادل رمزى فهمى	أستاذ مساعد علم الحشرات- قسم علم الحشرات- كلية العلوم- جامعة عين شمس
أ.د/ حسن قاسم بخيت	رئيس بحوث- معهد بحوث وقاية النباتات- مركز البحوث الزراعية

لجنة الممتحنين:

أ.د/ أحمد حسن أبو غالية	أستاذ علم الحشرات- كلية العلوم- جامعة قناة السويس
أ.د/ محمد السيد خليل	أستاذ المبيدات- كلية العلوم- جامعة المنوفية
أ.د/ عادل صبحى العقاد	أستاذ علم الحشرات- كلية العلوم- جامعة عين شمس
أ.د/ محمد عادل حسين توفيق	أستاذ المبيدات- كلية العلوم- جامعة عين شمس

تاريخ البحث: / /

الدراسات العليا: / /

ختم الإجازة: أجيزت الرسالة بتاريخ: / /

موافقة مجلس الكلية: / /

موافقة مجلس الجامعة: / /

كلية العلوم

قسم علم الحشرات

شـــــكـــــــر

أشكر السادة الأساتذة الذين قاموا بالإشراف وهم:

أ.د/ عادل صبحى العقاد	أستاذ علم الحشرات- قسم علم الحشرات- كلية العلوم- جامعة عين شمس
أ.د/ محمد عادل حسين توفيق	أستاذ المبيدات- قسم علم الحشرات- كلية العلوم- جامعة عين شمس
د/ عاطف على البنا	أستاذ مساعد علم الحشرات- قسم علم الحشرات- كلية العلوم- جامعة عين شمس
د/ عادل رمزى فهمى	أستاذ مساعد علم الحشرات- قسم علم الحشرات- كلية العلوم- جامعة عين شمس
أ.د/ حسن قاسم بخيت	رئيس بحوث- معهد بحوث وقاية النباتات- مركز البحوث الزراعية

ثم الأشخاص الذين تعاونوا معى فى البحث:

د/ طارق الرئيس	رئيس قسم الفسيولوجى- معهد بحوث وقاية النباتات- مركز البحوث الزراعية
أ.د/ سندس عبد التواب محمد	رئيس بحوث- قسم بحوث دودة ورق القطن- معهد بحوث وقاية النباتات- مركز البحوث الزراعية
د. مروة محمد محمود	باحث مساعد- وحدة إنتاج المبيات الحيوية البكتيرية والفيروسية- معهد بحوث وقاية النباتات- مركز البحوث الزراعية
أعضاء هيئة التدريس السادة الموظفون بالقسم والكلية والمكتبة	قسم علم الحشرات- كلية العلوم- جامعة عين شمس كلية العلوم- جامعة عين شمس

وكذلك الهيئات الآتية:

١ -أعضاء هيئة البحوث وحدة إنتاج المبيدات الحيوية البكتيرية والفيروسية- معهد بحوث وقاية النباتات- مركز البحوث الزراعية.

٢ -أعضاء هيئة البحوث والعاملين بقسم بحوث دودة ورق القطن- معهد بحوث وقاية النباتات- مركز البحوث الزراعية.

First and foremost, thanks are due to Allah

I am absolutely lucky to be supervised and directed by **Prof. Dr. Adel Sobhy El-Akad**, Prof. of Entomology, Faculty of Science, Ain Shams University; **Prof. Dr. Mohamed Adel Hussein Tawfik**, Prof. of Pesticides, Faculty of Science, Ain Shams University; **Dr. Atef Ali El-Banna**, Assisstant Prof. of Entomology, Faculty of Science, Ain Shams University; **Dr. Adel Ramzy Fahmy**, Assisstant Prof. of Entomology, Faculty of Science, Ain Shams University; and **Prof. Dr. Hassan Kasim Bekheit**, Prof. of Pesticides, Plant Protection Research Institute, Agricultural Research Center. I want to thank them for their continuous supervision, valuable guidance, generous encouragement, help and overall their moral support and kindness.

Sincere thanks and appreciation are due to **Dr. Tarek El-Ra'es,** Researcher of Entomology, Plant Protection Research Institute, Agriculture Research

Center for his valuable help offered during the present study.

My deep thanks and everlasting gratitude goes to **Prof. Dr. Sondos Abdel Tawab Mohamed**, Professor of Entomology, Plant Protection Research Institute, Agriculture Research Center.

Deep thanks are also offered to **Dr. Marwa M. Mahmoud, Dr. Shaimaa Eid Abdel Ghany**, and all my colleagues and co-workers who offered me valuable help and support during this study.

CONTENTS

No.

I. Introduction…… 1

II. Review of literature…… 5

1. Effect of bioinsecticides and carbamate insecticides……... 5
   - 1.1. Entomopathogenic bacteria…….. 5
   - 1.2. Entomopathogenic virus……... 13
   - 1.3. Entomopathogenic fungi……... 18
   - 1.4. Profect® (a biopesticide)…… 25
   - 1.5. Carbamate insecticides…….. 27
   - 1.6. Successive application of biopesticides and carbamate insecticide……... 29
2. Effect of biopesticides and carbamate insecticide on enzyme activity……. 31
   - 2.1. Entomopathogenic bacteria……. 31
   - 2.2. Entomopathogenic virus……. 32
   - 2.3. Carbamate insecticide……. 32
3. Histopathological effect of bioinsecticides on insect midgut…… 35
   - 3.1. Effect of *Bacillus thuringiensis* on insect's midgut……. 35
   - 3.2. Effect of *Spli*NPV on insect's midgut…. 44

III. Materials and methods……... 45

1. Materials…… 45

1.1. The test insect…….. 45

1.2. Tested compounds…… 45

1.2.1 The bioagents…… 45

a. Protecto® WP 9.4% (*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*)…….... 46

b. Viruset® WP 4% (*Spodoptera littoralis* nucleopolyhedrosis virus [*Spli*NPV])…….. 46

c. Profect® WP 5% + 2% (*Btk* + *Spli*NPV)……. 46

d. Bioranza® WP 10% (*Metarhizium anisopliae* Sorok.)…… 47

1.2.2. The carbamate insecticide…… 47

- KUIK® 90% SP (S-methyl N-(methyl carbamoyloxy) thioacetimidate)…….. 47

2. Methods and experimental techniques…….. 48

2.1. Rearing technique of the cotton leaf worm, *Spodoptera littoralis* (Boisduval) 48
2.2. Toxicological studies…….. 50
2.3. Biological studies…… 50
2.4. Successive application of tested compounds…….. 51
2.5. Semi-field studies…… 51
2.6. Biochemical studies……. 52
2.6.1. Sample preparation……. 52
2.6.2. Electrophoretic pattern of β-esterase in homogenate of the cotton leaf worm 4^{th} and 6^{th} instar larvae……. 53
2.6.3. Effect of bioinsecticides on acid phosphatase activity…… 55
2.6.4. Effect of KUIK on acetylcholinesterase activity…... 56
a. Sample preparation…… 56
b. Measurement of AChE activity…….. 57
2.7. Histopathological studies……. 58
2.7.1. Specimen preparation……. 58
2.7.2. Buffer used…….. 60

2.7.3. Ultrathin sections preparation 60
3. Assessment of results and statistical analysis 61
IV. Results……... 62
1. Effect of bioinsecticides and carbamate insecticide against the cotton leaf worm, *Spodoptera littoralis*……. 62
1.1. Bioassay test…… 62
1.1.1. Virulence of tested compounds against the cotton leaf worm larvae……... 62
1.2. Biological studies…… 69
1.2.1. Effect of bioinsecticides on larval duration, pupation rate, and pupal duration…….. 69
1.2.2. Effect of bioinsecticides on adult emergence rate and adult longevity……. 75
1.2.3. Effect of bioinsecticides on oviposition rate and egg hatchability…….. 79
1.3. Successive application of tested compounds on the rate of larval mortality of the cotton leaf worm…… 83
1.4. Semi-field application……. 85

1.5. Biochemical studies……. 88

1.5.1. Effect of the bioinsecticides on the β-esterase banding-pattern in the cotton leaf worm larvae…… 88

1.5.2. Effect of bioinsecticides on acid phosphatase activity…… 93

1.5.3. Effect of the carbamate insecticide on acetylcholinesterase activity…... 96

1.6. Histopathological studies……. 99

1.6.1. Midgut ultrastructure of the larvae of the cotton leaf worm… 99

1.6.2. Histopathological effect of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* on the larval midgut of the cotton leaf worm……... 106

1.6.3. Histopathological effect of the nuclear polyhedrosis virus (*Spli*NPV) on the larval midgut 114

1.6.4. Effect of the mixture of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* and *Spli*NPV on the larval midgut of the cotton leaf worm……... 120

V. Discussion and Conclusion……. 125