مجله کشاورزی، دوره ۱۱، شماره ۱، بهار ۱۳۸۸، صص ۱۲۷-۱۱۵

تأثیر چند جدایه ایرانی قارچ *Beauveria bassiana* (Vuillemin) روی شته روسی گندم[1] در شرایط آزمایشگاهی

علی محمدی‌پور *، احمد بغدادی **، مهران غزوی ***، اسداله میرکریمی **** و نجمه نیک پور *****

تاریخ وصول مقاله: ۸۷/۴/۲۹ و تاریخ پذیرش مقاله: ۸۸/۲/۲۲

چکیده

در این بررسی، چهار جدایه قارچ *Beauveria bassiana* از خاک مناطق فشند، آتشگاه، قره‌آقاج و حشره ملخ روی حشره کامل شته روسی گندم *Diuraphis noxia* در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. پس از تعیین غلظت‌های حداقل و حداکثر این چهار جدایه با غلظت‌های 10^3، 10^4، 10^5 و 10^6 اسپور در میلی-لیتر، برای هر حشره آزمایش و غلظت کشنده ۵۰ و ۹۰ درصد محاسبه گردید. کمترین غلظت کشنده ۵۰ درصد، 10^5 ۴ اسپور در میلی‌لیتر مربوط به جدایه DEBI002 و بیشترین آن 10^6 ۲/۵ اسپور در میلی‌لیتر، مربوط به جدایه DEBI010 بود. کمترین زمان ۵۰ درصد مرگ و میر محاسبه شده مربوط به جدایه DEBI002 در غلظت 10^6 اسپور در میلی‌لیتر، ۲/۸ روز بود. نتایج تجزیه واریانس ANOVA بین چهار جدایه روی شته روسی گندم در قالب طرح کاملاً تصادفی در دو روز شش و ۱۰ به صورت زیر محاسبه شد: در غلظت 10^5 اسپور در میلی‌لیتر و در روز ششم، جدایه DEBI002 (۳/۶۴ ± ۳۴/۹۵ درصد)، جدایه DEBI015 (۶/۱۱ ± ۳۷/۱ درصد) و جدایه DEBI001 (۱/۳ ± ۳۲/۳۵ درصد) در گروه A و جدایه DEBI010 (۱/۹۱ ± ۱۸/۷۴ درصد) در گروه B و در غلظت 10^5 اسپور در میلی‌لیتر در روز دهم، جدایه DEBI002 (۱/۲۳ ± ۴۵/۱ درصد)، جدایه DEBI015 (۷/۲۱ ± ۳۹/۴۸ درصد) و جدایه DEBI001 (۲/۶۵ ± ۳۹/۴۳ درصد) در گروه A و جدایه DEBI010 (۳/۹ ± ۱۶/۲۳ درصد) در گروه B قرار گرفتند.

کلمات کلیدی: اسپور، شته روسی گندم، *Beauveria bassiana*، LT_{50}، LC_{50}

* – مربی، بخش تحقیقات حشره شناسی کشاورزی، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، تهران – ایران (E-mail: mohamadipour2000@yahoo.com)

** – استادیار، گروه گیاهپزشکی، دانشگاه پیام نور، ماهدشت، البرز – ایران

*** – استادیار، بخش تحقیقات حشره شناسی کشاورزی، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، تهران – ایران

**** – استاد بازنشسته، گروه حشره شناسی و بیماری‌های گیاهی، پردیس ابوریحان، تهران – ایران

***** – دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید بهشتی، تهران – ایران

[1] *Diuraphis noxia* (Mordvilko) (Homoptera: Aphididae)

مقدمه

شته‌ها از آفات درجه دوم مزارع غلات می‌باشند. در بعضی سال‌ها جمعیت و خسارت برخی از گونه‌ها (به‌ویژه شته روسی گندم) افزایش یافته و خسارت قابل توجهی به مزارع گندم و جو وارد می‌کنند. براساس گزارش سازمان حفظ نباتات، سطح کنترل شیمیایی با شته‌های غلات در سال ۱۳۷۹ حدود ۱۷۰۰۰ هکتار بوده است که به‌طور عمده برای کنترل شته روسی گندم انجام شده است (۱٤).

شته روسی گندم (*Diuraphis noxia*) در منابع مختلف منشأ اصلی این آفت را حدود ایران، ترکستان و روسیه گزارش کرده‌اند. علت نام-گذاری این حشره این است که اولین بار در سال ۱۹۰۰ میلادی از جنوب روسیه گزارش شده است. این حشره از سراسر ایران (به‌غیر از حاشیه شمالی کشور و منطقه مغان) جمع‌آوری شده است. همچنین در سال ۱۹۷۸ در جنوب آفریقا سبب خسارت شد و چند سالی است که در قاره آمریکا گسترش یافته و باعث خسارت اقتصادی شده است (۵ و ۱۳). در سال‌های اخیر خسارت اقتصادی آن از استان‌های فارس، همدان، اصفهان، کرمان، مرکزی، خراسان، تهران، یزد، سیستان و بلوچستان، کرمانشاه و لرستان گزارش شده است. در سال زراعی ۷۳-۱۳۷۲ به‌طور غیرمنتظره‌ای جمعیت آن در استان فارس و در سال ۸۳-۱۳۸۲ در استان خراسان افزایش یافته و خسارت زیادی به‌وجود آورده است (۱۵).

طرز خسارت شته روسی با سایر شته‌های گندم تفاوت دارد و می‌توان از نحوه خسارت وجود شته مزبور را شناسایی نمود. در اثر تغذیه، این شته در جهت طولی برگ‌ها نوارهای روشن ایجاد می‌شود و برگ به طور طولی لوله شده و شته‌ها در داخل آن‌ها از سطح بالایی برگ تغذیه می‌کنند. در آلودگی‌های شدید گیاهان جوان کوتاه می‌مانند و پنجه‌ها روی زمین می‌افتند. حساس-ترین مرحله رشد گیاهی نسبت به این شته زمانی است که هنوز خوشه‌ها ظاهر نشده‌اند و برگ‌های پرچمی ظاهر می‌شوند. در این صورت برگ‌ها لوله شده و خسارت شدید است به‌طوری‌که خوشه به کلی از بین می‌رود. این حشره ضمن تغذیه از قسمت عمقی بافت برگ و مکیدن شیره گیاهی برگ‌ها را به صورت لوله‌ای درمی‌آورد. درضمن به همراه بزاق خود سمی به داخل گیاه تزریق می‌کند که موجب کاهش ظرفیت فتوسنتز و درنتیجه آسیب غشای کلروپلاست‌ها می‌شود. به همین دلیل کنترل این شته با سموم تماسی، در عمل با مشکل مواجه می‌شود ولی سموم سیستمیک مؤثر هستند (۱، ۳ و ۵).

چون سم‌پاشی مزارع گندم مشکلاتی از نظر ایجاد مقاومت آفات و از بین رفتن عوامل مفید ایجاد می‌کند لذا بررسی‌هایی در زمینه کنترل زیستی این آفت با استفاده از قارچ‌های بیمارگر حشرات انجام شده است. قارچ موسکاردین سفید (*B. bassiana*) به عنوان یک قارچ بیمارگر مهم بر علیه آفات مورد توجه قرار گرفته است (٦، ۷، ۱۱، ۱۲ و ۱٦). در این رابطه، اثر شش جدایه *Beauveria bassiana* بر روی شته روسی گندم بررسی و مشاهده نمودند، جدایه SGBB601

مجله کشاورزی، دوره ۱۱، شماره ۱، بهار ۱۳۸۸، صص ۱۲۷-۱۱۵

تأثیر چند جدایه ایرانی قارچ *Beauveria bassiana* (Vuillemin) روی شته روسی گندم[1] در شرایط آزمایشگاهی

علی محمدی‌پور *، احمد بغدادی **، مهران غزوی ***، اسداله میرکریمی **** و نجمه نیک پور *****

تاریخ وصول مقاله: ۸۷/۴/۲۹ و تاریخ پذیرش مقاله: ۸۸/۲/۲۲

چکیده

در این بررسی، چهار جدایه قارچ *Beauveria bassiana* از خاک مناطق فشند، آتشگاه، قره‌آقاج و حشره ملخ روی حشره کامل شته روسی گندم *Diuraphis noxia* در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. پس از تعیین غلظت‌های حداقل و حداکثر این چهار جدایه با غلظت‌های 10^3، 10^4، 10^5 و 10^6 اسپور در میلی-لیتر، برای هر حشره آزمایش و غلظت کشنده ۵۰ و ۹۰ درصد محاسبه گردید. کمترین غلظت کشنده ۵۰ درصد، 10^5 ۴ اسپور در میلی‌لیتر مربوط به جدایه DEBI002 و بیشترین آن 10^6 ۲/۵ اسپور در میلی‌لیتر، مربوط به جدایه DEBI010 بود. کمترین زمان ۵۰ درصد مرگ و میر محاسبه شده مربوط به جدایه DEBI002 در غلظت 10^6 اسپور در میلی‌لیتر، ۲/۸ روز بود. نتایج تجزیه واریانس ANOVA بین چهار جدایه روی شته روسی گندم در قالب طرح کاملاً تصادفی در دو روز شش و ۱۰ به صورت زیر محاسبه شد: در غلظت 10^5 اسپور در میلی‌لیتر و در روز ششم، جدایه DEBI002 (۳/۶۴ ± ۳۴/۹۵ درصد)، جدایه DEBI015 (۶/۱۱ ± ۳۷/۱ درصد) و جدایه DEBI001 (۱/۳ ± ۳۲/۳۵ درصد) در گروه A و جدایه DEBI010 (۱/۹۱ ± ۱۸/۷۴ درصد) در گروه B و در غلظت 10^5 اسپور در میلی‌لیتر در روز دهم، جدایه DEBI002 (۱/۲۳ ± ۴۵/۱ درصد)، جدایه DEBI015 (۷/۲۱ ± ۳۹/۴۸ درصد) و جدایه DEBI001 (۲/۶۵ ± ۳۹/۴۳ درصد) در گروه A و جدایه DEBI010 (۳/۹ ± ۱۶/۲۳ درصد) در گروه B قرار گرفتند.

کلمات کلیدی: اسپور، شته روسی گندم، *Beauveria bassiana*، LT_{50}، LC_{50}

* – مربی، بخش تحقیقات حشره شناسی کشاورزی، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، تهران – ایران (E-mail: mohamadipour2000@yahoo.com)

** – استادیار، گروه گیاهپزشکی، دانشگاه پیام نور، ماهدشت، البرز – ایران

*** – استادیار، بخش تحقیقات حشره شناسی کشاورزی، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، تهران – ایران

**** – استاد بازنشسته، گروه حشره شناسی و بیماری‌های گیاهی، پردیس ابوریحان، تهران – ایران

***** – دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید بهشتی، تهران – ایران

[1] *Diuraphis noxia* (Mordvilko) (Homoptera: Aphididae)

مجله کشاورزی، دوره ۱۱، شماره ۱، بهار ۱۳۸۸، صص ۱۲۷-۱۱۵

تأثیر چند جدایه ایرانی قارچ *Beauveria bassiana* (Vuillemin) روی شته روسی گندم[1] در شرایط آزمایشگاهی

علی محمدی‌پور *، احمد بغدادی **، مهران غزوی ***، اسداله میرکریمی **** و نجمه نیک پور *****

تاریخ وصول مقاله: ۸۷/۴/۲۹ و تاریخ پذیرش مقاله: ۸۸/۲/۲۲

چکیده

در این بررسی، چهار جدایه قارچ *Beauveria bassiana* از خاک مناطق فشند، آتشگاه، قره‌آقاج و حشره ملخ روی حشره کامل شته روسی گندم *Diuraphis noxia* در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. پس از تعیین غلظت‌های حداقل و حداکثر این چهار جدایه با غلظت‌های 10^3، 10^4، 10^5 و 10^6 اسپور در میلی-لیتر، برای هر حشره آزمایش و غلظت کشنده ۵۰ و ۹۰ درصد محاسبه گردید. کمترین غلظت کشنده ۵۰ درصد، 10^5 ۴ اسپور در میلی‌لیتر مربوط به جدایه DEBI002 و بیشترین آن 10^6 ۲/۵ اسپور در میلی‌لیتر، مربوط به جدایه DEBI010 بود. کمترین زمان ۵۰ درصد مرگ و میر محاسبه شده مربوط به جدایه DEBI002 در غلظت 10^6 اسپور در میلی‌لیتر، ۲/۸ روز بود. نتایج تجزیه واریانس ANOVA بین چهار جدایه روی شته روسی گندم در قالب طرح کاملاً تصادفی در دو روز شش و ۱۰ به صورت زیر محاسبه شد: در غلظت 10^5 اسپور در میلی‌لیتر و در روز ششم، جدایه DEBI002 (۳/۶۴ ± ۳۴/۹۵ درصد)، جدایه DEBI015 (۶/۱۱ ± ۳۷/۱ درصد) و جدایه DEBI001 (۱/۳ ± ۳۲/۳۵ درصد) در گروه A و جدایه DEBI010 (۱/۹۱ ± ۱۸/۷۴ درصد) در گروه B و در غلظت 10^5 اسپور در میلی‌لیتر در روز دهم، جدایه DEBI002 (۱/۲۳ ± ۴۵/۱ درصد)، جدایه DEBI015 (۷/۲۱ ± ۳۹/۴۸ درصد) و جدایه DEBI001 (۲/۶۵ ± ۳۹/۴۳ درصد) در گروه A و جدایه DEBI010 (۳/۹ ± ۱۶/۲۳ درصد) در گروه B قرار گرفتند.

کلمات کلیدی: اسپور، شته روسی گندم، *Beauveria bassiana*، LT_{50}، LC_{50}

* – مربی، بخش تحقیقات حشره شناسی کشاورزی، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، تهران – ایران (E-mail: mohamadipour2000@yahoo.com)

** – استادیار، گروه گیاهپزشکی، دانشگاه پیام نور، ماهدشت، البرز – ایران

*** – استادیار، بخش تحقیقات حشره شناسی کشاورزی، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، تهران – ایران

**** – استاد بازنشسته، گروه حشره شناسی و بیماری‌های گیاهی، پردیس ابوریحان، تهران – ایران

***** – دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید بهشتی، تهران – ایران

[1] *Diuraphis noxia* (Mordvilko) (Homoptera: Aphididae)

کمترین LC_{50} $۰/۵۷ \times ۱۰^{۵}$ اسپور در میلی‌لیتر و کمترین LT_{50} را در بین جدایه‌ها دارا بود (۸). بیمارگری *Lecanicillium lecanii* و *B. bassiana* بر روی شش شته غلات بررسی و LT_{50} و LC_{50} برای هر کدام مشخص نمودند (۹). اثر بیمارگری *B. bassiana* (SGBB601) بر روی شته رازک *Phorodon humuli* بررسی و کمترین غلظت کشندگی ۵۰ درصد را $۱/۳۷ \times ۱۰^{۵}$ اسپور در میلی‌لیتر و کمترین LT_{50} مربوط به غلظت $۱۰^{۸}$ (۱/۱ ± ۳/۱) به‌دست آوردند (٤). اثر جدایه‌هایی از *B. bassiana* روی پسیل معمولی پسته در شرایط آزمایشگاهی انجام دادند و کمترین و بیشترین غلظت‌کشندگی ۵۰ درصد را مربوط به جدایه‌های DEBI008 با $۳/۹۱ \times ۱۰^{۲}$ اسپور در میلی‌لیتر، DEBI007 با $۳/٦۳ \times ۱۰^{٤}$ اسپور در میلی‌لیتر مشخص نمودند. همچنین ببیشترین و کمترین زمان کشندگی ۵۰ درصد در غلظت $۲/۵ \times ۱۰^{۷}$ اسپور در میلی‌لیتر برای DEBI008، DEBI007به‌ترتیب ۳/٤ و ۵/٦ روز تعیین شد (۲).

باتوجه به خصوصیت شته روسی گندم، اثر چند جدایه ایرانی از قارچ *B. bassiana* بر روی این حشره بررسی و بین آنها مقایسه و LT_{50}، LC_{50} آنها مشخص شد.

مواد و روشها

پرورش گیاه

به منظور تأمین گیاهان موردنیاز جهت پرورش حشرات شته روسی گندم، به‌طور هفتگی حدود ٦۰-۵۰ گلدان حاوی ۱۵-۱۰ گیاه گندم رقم فلات کشت گردید و در شرایط اتاق حرارت ثابت شامل دمای ۲ ± ۲۳ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۱۰ ± ٦۰ درصد و دوره روشنایی ۸:۱٦ (تاریکی: روشنایی) قرار داده شد و بعد از یک هفته، بر روی آنها استوانه‌هایی از جنس PVC شفاف به قطر هفت سانتی‌متر و به ارتفاع ٤۰ سانتی‌متر، که در دو طرف دارای پنجره توری بودند، قرار داده شد. بعد از گذشت یک هفته، این گیاهان جهت انتقال شته‌ها مورد استفاده قرار گرفتند.

پرورش حشرات

برای پرورش حشرات در اواخر اسفند ماه طی بازدید از مزارع گندم گرمسار نمونه‌های موردنظر از طریق نحوه خسارت شناسایی و با گیاه گندم جمع‌آوری گردید و به آزمایشگاه منتقل شد. شته‌ها ابتدا در زیر استریومیکروسکوپ قرار گرفته و بعد از جداسازی شته روسی گندم از سایر شته‌ها، شته موردنظر به گیاه گندم محصورشده توسط پوشش استوانه‌ای که ۱٤ روز قبل کشت شده بود، منتقل و در اتاق حرارت ثابت نگهداری شد.

جداسازی و کشت جدایه‌ها

چهار جدایه ایرانی از قارچ‌های بیمارگر حشرات *B. bassiana* از کلکسیون بخش تحقیقات حشره‌شناسی کشاورزی مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور تهیه شد (جدول ۱).

جدول ۱ - جدایه‌های *B. bassiana* استفاده شده در آزمایشات زیست‌سنجی روی شته روسی گندم

Table1 - used isolates of *B. bassiana* in bioassay experiments on Russian wheat aphid

جدایه Isolate	محل جمع‌آوری Locality	جدا شده Matrix
BEBI001	کرج (فشند) Karaj (Fashand)	خاک Soil
BEBI002	کرج (آتشگاه) Karaj (Atashgah)	خاک Soil
BEBI010	ورامین (قره آقاج) Varamin (Ghare-aghaj)	حشره سن گندم Sunn pest
BEBI015	گرمسار Garmsar	حشره ملخ(*Sphingonotus*. sp) locust (*Sphinyonotus*. sp)

برای اثبات بیمارگری این جدایه‌ها از لاروهای سنین ٥-٤ *Galleria mellonella* استفاده گردید. بدین‌ترتیب که تعداد ۱۰ عدد لارو در سوسپانسیونی با غلظت زیاد و نامشخص از هر جدایه *B. bassiana* به مدت ۲۰-۱۵ ثانیه غوطه‌ور گردید، سپس لاروها در ظروف استوانه PVCشفاف در دار استریل حاوی پنبه مرطوب قرار داده شد. بعد از ٢٤ ساعت لاروهای مرده حذف گردید و غذای مصنوعی در اختیار لاروها گذاشته و با در توری‌دار پوشانده شدند. در طی ١٤-٧ روز لاروهای آلوده شده در شرایط استریل جدا گردید. بعد از ظهور بار قارچی روی بدن حشره، اسپورها از سطح بدن لاروها کشت شد.

برای کشت جدایه‌ها و به‌دست آوردن کنیدی به منظور آلوده‌سازی شته‌ها از محیط SDA (Sabourded Dextrose Agar) استفاده و برای نگهداری طولانی مدت جدایه‌ها از محیط SDA 1/10در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد.

بعد از ۲۰ الی ۳۰ روز اسپورها را توسط لوپ از سطح محیط کشت برداشته و در محلول ۰/۰۵Tween 80 درصد به صورت سوسپانسیون در آورده و برای آلوده‌سازی حشرات موردنظر استفاده گردید.

آزمون زنده‌مانی جدایه

برای اندازه‌گیری میزان زنده‌مانی اسپورهای جدایه‌های موردنظر ٢٤ ساعت قبل از آزمون زیست‌سنجی، سوسپانسیون رقیقی از جدایه‌ها در محلول ۰/۰۵ درصد Tween 80 تهیه و در روی محیط Water Agar کشت شد. بعد از ١٨-١٦ ساعت درصد زنده‌مانی از طریق فرمول زیر محاسبه گردید. درصورتی‌که درصد جوانه‌زنی بیش از ۸۵ درصد بود، آزمون زیست‌سنجی انجام گرفت.

$$\text{درصد جوانه‌زنی} = \left[\frac{a}{(a+b)}\right] \times ۱۰۰$$

در این رابطه، a تعداد اسپور جوانه زده و b تعداد اسپور جوانه نزده می‌باشد.

زیست‌سنجی

برای محاسبه غلظت کشنده جدایه‌های مختلف از محلول ۰/۰۵ درصد Tween 80 به عنوان ماده حامل استفاده شد. اسپورهای جدایه‌های مورد آزمایش درون محلول ۰/۰۵ درصد Tween 80 به حالت معلق درآمده سپس سوسپانسیون به‌دست آمده را از سرنگ استریل دارای پارچه ململ دو لایه عبور داده شد. محلول حاصل را در شیشه‌های حاوی گلوله‌های شیشه‌ای ریخته و برای چند دقیقه به شدت تکان داده شد.

جهت شمارش اسپورها و تهیه تراکم‌های مختلف اسپور در واحد حجم از لام گلبول‌شمار (Improved Neubar) استفاده شد. پس از انجام آزمایشات مقدماتی و تعیین غلظت‌های حداقل و حداکثر ($۱۰^{۳}$ و $۱۰^{۶}$ اسپور در میلی‌لیتر) آزمون زیست‌سنجی انجام گردید.

آزمایش‌های زیست‌سنجی به روش اسپری در شش تکرار برای هر تیمار (غلظت‌های $۱۰^{۳}$، $۱۰^{۴}$، $۱۰^{۵}$ و $۱۰^{۶}$) به همراه تیمار شاهد (محلول ۰/۰۵ درصد Tween 80) انجام گرفت. برای هر تکرار به طور متوسط از تعداد ۲۵-۲۰ عدد حشره کامل شته روسی گندم استفاده گردید. بدین منظور بوته‌های گندم دارای شته را در سینی سفیدی ریخته شد و در زیر استریومیکروسکوپ حشرات کامل باتوجه به علائم مربوطه به‌وسیله قلم‌مو (Camel-hair brush) جدا گردید. حشرات کامل به داخل ظرف پتری هفت سانتی‌متری که درون آن یک برگ گندم قرار داده شده بود انتقال یافت. بعد از جداسازی شته روسی گندم، حشرات با پنج میلی‌لیتر از سوسپانسیون موردنظر به‌مدت پنج ثانیه اسپری شد و در اطاقک رشد با شرایط دمایی ۲۳ ± ۱ °c، رطوبت نسبی ۱۰ ± ۶۰ درصد و دوره روشنایی (۱۶L: ۸D) به مدت ۱۰ روز نگهداری شدند. مرگ و میر حشرات هر روز ثبت و جدول مرگ و میر تجمعی آن‌ها تهیه شد.

محاسبات آماری

برای تعیین غلظت‌های کشنده از نرم‌افزار PriProbit (1998-2000) استفاده شد و برای رسم خط رگرسیون باتوجه به پردازش داده‌ها در نرم‌افزار فوق، داده‌ها در نرم‌افزار Excel وارد شد و برای تعیین LT_{50} ایزوله‌های مختلف از نرم‌افزار Curve Expert 1.3 و به منظور مقایسه زهراگینی جدایه‌ها از نرم‌افزار SAS(2001) استفاده شد.

نتایج

پس از آلوده کردن حشرات کامل با غلظت‌های مورد نظر و سپری شدن ۱۰ روز با استفاده از آمار مرگ و میر تجمعی، مدل رگرسیونی انتخاب گردید. سپس غلظت کشندگی ۵۰ درصد در سطح ۹۵ درصد محاسبه شد که در جدول (۲) ارائه شده است.

جدول ۲ - غلظت کشنده جدایه‌های مختلف *B. bassiana*

Table 2 - Log LC_{50} of different isolates of *B. bassiana*

نام جدایه Isolate	لگاریتم $LC_{50\ spore/mL}$ حد بالا و پایین در سطح ٪۹۵ Log $LC_{50\ spore/ml}$ with 95% CL[a]	لگاریتم $LC_{99\ spore/mL}$ حد بالا و پایین در سطح ٪۹۵ Log $LC_{99\ spore/ml}$ with 95% CL[a]
آتشگاه (BEBI002) (BEBI002) Atashgah	5/6 (5/3 – 5/9)	8/13(7/4 – 9/8)
فشند (BEBI001) Fashand (BEBI001)	5/9 (5/4 – 6/6)	12/01(10/2 – 15/5)
قره آقاج (BEBI010) Ghare-aghaj (BEBI010)	6/4 (6/03 – 7/6)	9/17 (7/82– 15/84)
ملخ (BEBI015) Locust (BEBI015)	5/7 (5/3– 6/5)	12/8 (10/6 – 17/3)

[a] Confidence Limits

در میان چهار جدایه مورد آزمایش، کمترین غلظت کشنده ۵۰ درصد مربوط به جدایه آتشگاه (۴×۱۰^{۵} اسپور در میلی‌لیتر) و بیشترین مقدار LC_{50} در جدایه قره آقاج ($۲/۵ \times ۱۰^{۶}$ اسپور در میلی‌لیتر) بود و در دو جدایه فشند و ملخ مقدار LC_{50} به‌ترتیب برابر با $۷/۹ \times ۱۰^{۵}$ و ۵×۱۰^{۵} اسپور در میلی‌لیتر به‌دست آمد.

تجزیه تحلیل داده‌ها توسط PriProbit با استفاده از حد بالا و پایین و رابطه آن با تلفات (NED)[1] بیانگر ارتباط مستقیم غلظت - کشندگی می‌باشد (شکل‌های ۱، ۲، ۳ و ۴).

با استفاده از جدول (۳) زمان کشندگی چهار جدایه بر روی حشره در چهار غلظت مشخص گردید، کمترین زمان کشندگی مربوط به جدایه آتشگاه ۲/۸ روز در غلظت $۱۰^{۶}$ و بیشترین زمان کشندگی مربوط به جدایه ملخ، ۹/۵ روز در غلظت $۱۰^{۶}$ اسپور در میلی‌لیتر محاسبه گردید.

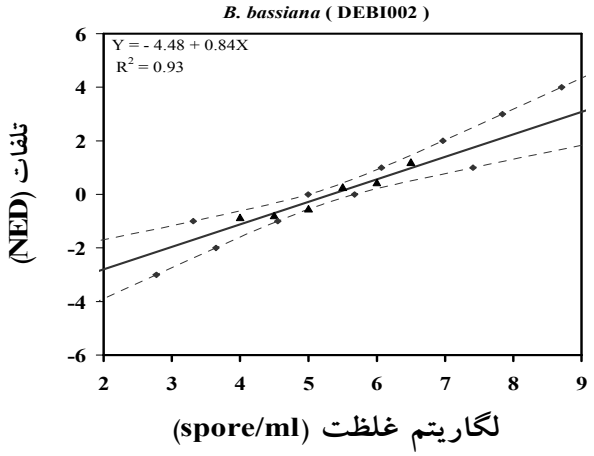
از محاسبه زمان کشندگی در غلظت‌های $۱۰^{۳}$، $۱۰^{۴}$، $۱۰^{۵}$ و $۱۰^{۶}$ برای برخی از گروه‌ها صرف نظر گردید. زیرا این گروه‌ها تا پایان آزمایش ۵۰ درصد حشرات تلف نشده بودند.

1 - Normal Equivalent Deviate = انحراف از حالت تعادل در یک ترزیع نرمال

جدول ۳ – زمان کشنده جدایه‌های مختلف *B. bassiana*

Table 3 – LT_{50} of different isolates of *B. bassiana*

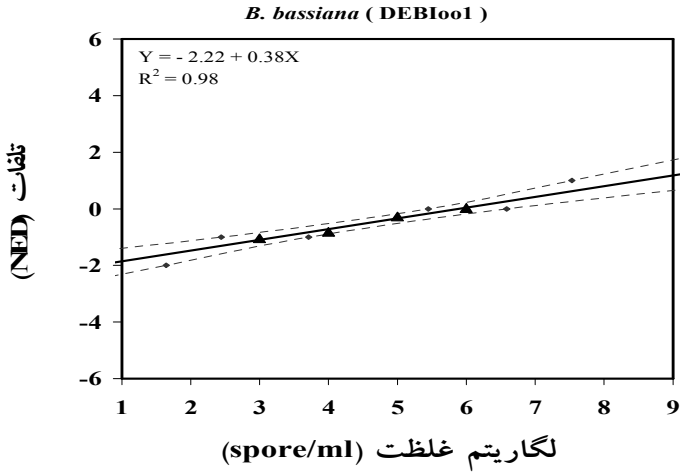
نام جدایه Isolate	غلظت (هاگ) Concentrations اسپور بر میلی‌لیتر	مدل رگرسیونی Regression Model	ضریب همبستگی (r)	زمان کشندگی ۵۰٪ برحسب روز LT_{50}(Day)
آتشگاه (BEBI002) Atashgah (BEBI002)	10^6	لجستیک Logistic Model	0.994	2.8±3.54
فشند (BEBI001) Fashand(BEBI001)	10^6	لجستیک Logistic Model	0.95	8±5.24
ملخ (BEBI015) Locust (BEBI015)	10^6	لجستیک Logistic Model	0.954	9.5±5.16



شکل ۱ – رابطه بین لگاریتم غلظت و تلفات در جدایه آتشگاه (BEBI002)

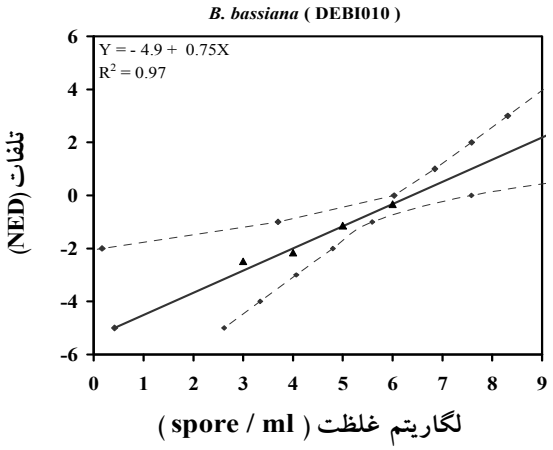
Fig. 1 . Concentration– mortality curve for isolate of Atashgah (BEBI002)

NED =	-4	-3.5	-3	-2.5	-2	-1.5	-1	-0.5	0	0.5	1	1.5	2	2.5	3	3.5
درصد تاثیر =	0.12	0.28	0.64	1.47	3.3	7.4	15.6	30	49.8	69.8	84.4	92.8	97.01	98.9	99.8	100
پروبیت =	1	1.5	2	2.5	3	3.5	4	4.5	5	5.5	6	6.5	7	7.5	8	8.5



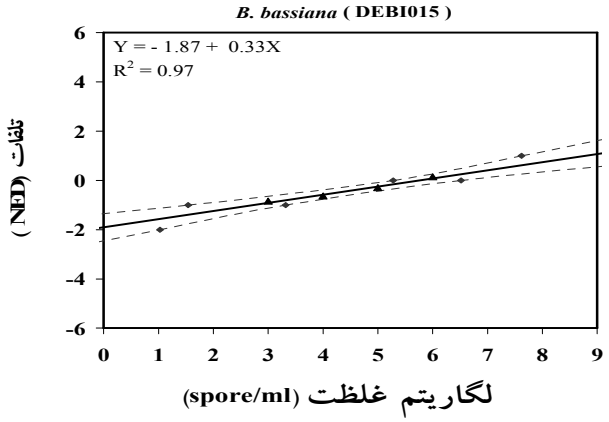
شکل ۲ – رابطه بین لگاریتم غلظت و مرگ و میر در جدایه فشند (BEBI001)

Fig. 2. Concentration – mortality curve for isolate of Fashand (BEBI001)



شکل ۳- رابطه بین لگاریتم غلظت و مرگ و میر در جدایه قره آقاج (BEBI010)

Fig. 3. Concentration – mortality curve for isolate of Ghare-aghaj (BEBI010)



شکل ٤- رابطه بین لگاریتم غلظت و مرگ و میر در جدایه ملخ (BEBI015)

Fig. 4. Concentration – mortality curve for isolate of Locust (BEBI015)

میزان مرگ و میر شته روسی گندم در غلظت‌های 10^3، 10^4، 10^5 و 10^6 به تفکیک جدایه در طی ۱۰ روز نمونه‌برداری پس از آلودگی ثبت گردید و باتوجه به نمودار Excel برای تجزیه و تحلیل روزهای شش و ۱۰ انتخاب شد. مقایسه میانگین تلفات براساس آزمون دانکن در قالب طرح کاملاً تصادفی در سطح پنج درصد با نرم‌افزار SAS به شرح زیر گروه‌بندی شدند:

در غلظت 10^5 و در روز ششم، جدایه DEBI002، جدایه DEBI015 و جدایه DEBI001 در گروه A و جدایه DEBI010 در گروه B و در غلظت 10^5 در روز دهم، جدایه DEBI002، جدایه DEBI015 و جدایه DEBI010 در گروه A وجدایه قره‌آقاچ در گروه B قرار گرفتند (جدول‌های ٤ و ٥).

جدول ٤ – مقایسه میانگین تلفات جدایه‌های مختلف *B. bassiana* در غلظت 10^5 اسپور در میلی‌لیتر در روز ششم آزمایش

Table 4 - Mean comparion of the mortality of different isolates of *B. bassiana* in Concentration 10^5 spore/mL, 6th day experiment

نام جدایه Isolate	تعداد مشاهدات Number of observations	میانگین تلفات Mean of mortality	سطح میانگین Grouping
آتشگاه (BEBI002) Atashgah(BEBI002)	3	35.0 ± 3.64	A
ملخ (BEBI015) Locust (BEBI015)	3	37.1 ± 6.11	A
فشند (BEBI001) Fashand(BEBI001)	3	32.4 ±1.30	A
قره آقاچ (BEBI010) Ghare-aghaj(BEBI010)	3	18.7 ±1.91	B

Significantly different at 5% (Duncan test)

جدول ۵ – مقایسه میانگین تلفات جدایه‌های مختلف *B. bassiana* در غلظت 10^5 اسپور در میلی‌لیتر در روز دهم آزمایش

Table 5 - Mean comparison of the mortality of different isolates of *B. bassiana* in Concentration 10^5 spore/mL, 10th day experiment

نام جدایه Isolate	تعداد مشاهدات Number of observations	میانگین تلفات Mean of mortality	سطح میانگین Grouping
آتشگاه (BEBI002) Atashgah(BEBI002)	3	45.1 ±1.23	A
ملخ (BEBI015) Locust (BEBI015)	3	39.5 ±7.21	A
فشند (BEBI001) Fashand(BEBI001)	3	39.4 ± 2.65	A
قره آقاج (BEBI010) Ghare-aghaj(BEBI010)	2	16.2 ± 3.90	B

Significantly different at 5% (Duncan test)

نتایج آزمایش بیانگر زهراگینی بالایی جدایه آتشگاه می‌باشد و بین چهار جدایه در غلظت‌های پایین اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

بحث

در این مطالعه، قدرت بیمارگری بین ایزوله‌های مختلف *B. bassiana* روی حشره کامل شته روسی گندم بررسی و مشاهده شد که همه جدایه‌ها قادر به آلوده‌سازی شته با دامنه غلظت بسیار متغیر هستند اما جدایه DEBI002 بیشترین زهراگینی را نسبت به دیگر جدایه نشان داد که LC_{50} برابر با $۱۰^۵ \times ٤$ اسپور در میلی‌لیتر داشت. درحالی‌که جدایه DEBI010 LC_{50} برابر با $۱۰^۶ \times ۲/۵$ اسپور در میلی‌لیتر کمترین زهراگینی دارا بودند. نرخ افزایش مرگ و میر به‌طور مثبتی رابطه مستقیم با غلظت کنیدی و همچنین سرعت مرگ و میر رابطه مستقیمی با شدت زهراگینی برای همه جدایه‌ها دارا بود. در بررسی اثر شش جدایه *B. bassiana* بر روی شته روسی گندم مشاهده کردند که جدایه SGBB601 کمترین LC_{50} ($۱۰^۵ \times ۰/۵۷$ اسپور در میلی‌لیتر) و کمترین LT_{50} (۲ ± ۵/۵ روز) درغلظت $۱۰^۶$ اسپور بر میلی‌لیتر مربوط به همین جدایه بود (۸). بیمارگری *Lecanicillium lecanii* و *B. bassiana* بر روی شش شته غلات بررسی شد و LT_{50} و LC_{50} برای هر کدام مشخص نمودند که نتایج نشان‌دهنده اختلاف اساسی در حساسیت به دو قارچ بیمارگر و بیمارگری هر قارچ به گونه‌های شته می‌باشد که قارچ *B. bassiana* سریع‌تر باعث مرگ و میر شته‌ها شد، البته در بین شته‌ها شته روسی گندم نسبت به بقیه شته‌ها حساس‌تر بود و LC_{50} آن $۱۰^٤ \times ۸/۲$ اسپور در میلی‌لیتر گزارش شد، که دلیل این امر را به خاطر شرایط اکولوژیکی و نحوه فعالیت شته موردنظر می‌باشد

(۹). اثر بیمارگری (SGBB601) *B. bassiana* بر روی شته رازک *Phorodon humuli* بررسی و کمترین غلظت کشندگی ۵۰ درصد را $۱/۳۷ \times ۱۰^{۵}$ اسپور در میلی‌لیتر و کمترین LT_{50} مربوط به غلظت $۱۰^{۸}$ اسپور در میلی‌لیتر با $۳/۱ \pm ۱/۱$ روز به‌دست آوردند (٤). باتوجه به نتایج فوق-الذکر جدایه‌های قارچ بیمارگر، بیمارگری بالایی در میزبان‌هایی که از آن به‌دست آمده‌اند نشان می‌دهند به عبارت دیگر ایزوله‌های جدا شد از میزبان، بیمارگری بیشتری نسبت به ایزوله‌های مشتق شده از غیرمیزبان دارا می‌باشند. با این وجود نتایج تحقیق حاضر، برخلاف نظریه فوق‌الذکر بوده و جدایه DEBI002 از قارچ *B. bassiana* جدا شده از خاک زهراگینی بیشتری روی شته روسی گندم نشان داد. البته برخی محققین بر این باورند که ایزوله‌های حاصله از خاک معمولاً مرگ و میر قابل توجهی در حشره ایجاد می‌کنند که با داده‌های به‌دست آمده از این تحقیق هم‌خوانی دارد (۸). طبق فرضیه ارتباط جدید انگل‌ها روی میزبان‌هایی که با آنها سابقه ارتباط طولانی و برهم‌کنش نداشته‌اند با قدرت بیشتری عمل می‌کنند و قادرند آن‌ها را با سهولت بیشتری کنترل نمایند، به دلیل عدم تکامل مکانیزم‌های دفاعی میزبان در مقابل انگل جدید می‌باشد که علی‌رغم این نظریه در اینجا بیمارگری بالایی برای جدایه DEBI015 مشاهده نشد (۱۰). در آزمایش فوق، بیشترین بیماری‌گری مربوط به جدایه جدا شده از خاک می‌باشد. همچنین نتایج LT_{50} بیانگر رابطه معکوس بین زمان آزمایش و افزایش غلظت می‌باشد که با نتایج به‌دست آمده از اکثر محققین منطبق می‌باشد (٤، ۸ و ۹). البته فرمول تجارتی *B. bassiana* (BB286) روی شته روسی گندم آزمایش شده و LC_{50} $۱/٦۱ \times ۱۰^{۵}$ اسپور در میلی‌لیتر و LT_{50} در غلظت‌های مختلف از جمله $۱۰^{٦}$ (شش روز) تعیین نمودند (۸). با مقایسه LT_{50} جدایه آتشگاه (DEBI002) و SGBB601 در غلظت $۱۰^{٦}$ اسپور در میلی‌لیتر (DEBI002 ۲/۸ روز و SGBB601 ۵/۵ روز) مشخص گردید (۹). باتوجه به اینکه در بحث بیمارگری قارچ‌های بیمارگر زمان نقش مؤثری را بازی می‌کند و از طرف دیگر هرچه LC_{50} و LT_{50} کمتر باشد آن جدایه از نظر مبارزه بیولوژیکی و همچنین از نظر اقتصادی حائز اهمیت می‌باشد. باتوجه به اینکه جدایه آتشگاه (DEBI002) با LC_{50} ٤×۱۰^{۵} اسپور در میلی‌لیتر در مدت زمان کوتاه‌تر توانسته ۵۰ درصد جمعیت آفت را کنترل کند که این خود امید جدیدی در راه تولید انبوه و فرموله کردن این جدایه و گامی در رسیدن به اهداف کنترل بیولوژیک می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور به‌خصوص بخش تحقیقات حشره‌شناسی کشاورزی به جهت حمایت‌های مالی و آزمایشگاهی در مراحل مختلف اجرای این تحقیق قدردانی می‌گردد.

References

1 . Archer TL and Bynum ED (1992) Economic injury level for the Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) on dryland winter wheat. J. Econ. Entomol. 85(3): 987-992.

2 . Alizadeh A, Kharrazi Pakdel A, Talebi- Jahromi KH and Samih MA (2006) The effect of some Beauveria bassiana isolates on common pistachio psylla Agonoscena pistaciae. Proceedings of the 17th.Iranian Plant Protection Congress. page 6.

3 . Basky Z and Jordan J (1997) Comparison of the development and fecundity of Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) South Africa and Hungary. J. Econ. Entomol. 90(2): 623-627.

4 . Dorschner KW, Feng M and Baird CR (1991) Virulence of an aphid derived isolate of Beauveria bassiana (Fungi: Hyphomycetes) to the hop aphid, Phorodon humuli (Homoptera: Aphididae). Environmental Entomology 20: 690-693.

5 . Dolati L, Rassulian G, Esmaili M and Azmayesh Fard P (1995) Study of the biology and distribution of the Russian wheat aphid in Tehran province. Proceedings of the 12th Iranain Plant Protection Congress. 6 p.

6 . Ferron P (1978) Biological control of insect pests by entomogenous fungi. Annu. Rev. Entomol. 23: 409- 442.

7 . Ferron P (1981) Pest control by the fungi Beauveria and Metarhizium. In: Burges HD, editor. Microbial control of pests and plant diseases 1970–80. London: Academic Press. Pp 465- 482.

8 . Feng MG and Johnson JB (1990) Relative virulence of six isolates of Beauveria bassiana on Diuraphis noxia (Homop: Aphididae). Environmental Entomology 19: 785-790.

9 . Feng M, Johnson JB and Kish LP (1990) Virulence of Verticillium lecanii and an aphid-derived isolate of Beauveria bassiana (Fungi: Hyphomycetes) for six species of cereal-infesting aphids (Homoptera: Aphididae). Environmental Entomology 19: 815-820.

10 . Ghazavi M, Kharazi- pakdel A, Ershad J and Bagheri E (2002) Efficacy of Iranain Isolates of Beauveria bassiana against Locusta migratoria (Orthoptera: Acrididae). Appl. Ent. Phtopath. 69(2):143-125.

11 . Hall RA (1981) The fungus Verticillium lecanii as a microbial insecticide against aphids and scales. In “Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-80.” (H. D. Burges, Ed.), Academic Press, New York, Pp. 483-498.

12 . Humber RA and Soper RS (1986) USDA-ARS collection of entomopathogenic fungal cultures: catalog of strains. USDA-ARS, Plant Protection Research Unit, Boyce Thompson Institute at Cornell University, Tower Road, Ithaca, N.Y.

13 . Majani TD and Rezwani A (1995) Surveys on the wheat aphids and their proportional densities in Gorgan region. Proceedings of the 12th. Iranian Plant Protection Congress. 9 Pp.

14 . Mashhadijafarloo M (2001) Antibiosis evaluation of different wheat varieties to the Russian wheat aphid Diuraphis noxia in field conditions in East Azarbidjan province. M.Sc. Thesis, 85 pp. Tabriz University, Iran.

15 . Sajadi Naeeni M (2003) Brief pathogenic factors and pest control in wheat in farm years 2001-02 & 2002-03. Plant protection organization.

16 . Zimmermann G (1986) Insect pathogenic fungi as pest control agents. Fortschritte der Zoologie 32: 217-231.

Efficacy of Iranian Isolate of *Beauveria bassiana* against Russian wheat aphid *Diuraphis noxia* (Mordvilko) (Homoptera:Aphididae) on the Laboratory conditions

A. Mohammadipour *, A. Bagdadi **, M. Ghazavi ***, A. Mirkarimmi **** and N. Nikpour *****

Abstract

In this study, the effects four *Beauveria bassiana* isolates, obtained from soil of Fashand, Atashgah & Ghare-agaj and one from a grass hopper *Sphingonotus.*sp on adults of adult Russian wheat aphid *Diuraphis noxia* was studied under laboratory conditions.

After determination of the minimum & maximum concentrations, the adults Russian wheat aphid were treated with conidial concentrations of 1×10^{3} to 1×10^{6} spore/ml to calculate LC_{50} & LC_{90}.

DEBI002 proved to have the lowest LC_{50} (4×10^{5} spore/ml) whilst DEBI010 showed the highest LC_{50} (2.5×10^{6} spore/ml). The lowest LT_{50} was obtained 2.8 days for DEBI002 at 1×10^{6} spore/ml. In a completely randomized block design, the mortalities caused by the isolates on 6^{th} & 10^{th} days was as follows:

At 1×10^{5} spore/ml, on 6^{th} days DEBI002(34.95% ± 3.64), DEBI015(37.1% ± 6.11) & DEBI001 (32.35% ± 1.3) were classified as level A & DEBI010 (18.74% ± 1.91) as level B. on 10^{th} days, at 1×10^{5} spore/ml DEBI002(45.1% ± 1.23), DEBI015(39.48% ± 7.21) & DEBI001(39.43% ± 2.65) were classified as level A & DEBI010 (16.23% ± 3.9) as level B (Duncans Muitple Range Test).

Key words : *Beauveria bassiana,* LC_{50}, LT_{50}, Russian wheat aphid, Spore

* - Researcher, Agricultural Entomology Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran- Iran **(ali.mohammadipour@ gmail.com)**

** - Associate Professor, Plant Protection Department, Aboureihan Campus- university of Tehran

*** - Associate Professor, Agricultural Entomology Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran - Iran

*** - Professor, Plant Protection Department, Aboureihan Campus- university of Tehran, Tehran- Iran

***** - Master of Science, University of Shahid Beheshtiey, Tehran- Iran