نشریه کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی
دوره ۲، شماره ۱، بهار ۱۳۹۲ (۵۲-۴۳)

اثر قارچ بیمارگر حشرات، *Beauveria bassiana* بر واکنش تابعی و تولیدمثل زنبور پارازیتویید *Aphidius matricariae* Haliday (Hym.: Braconidae)

مریم راشکی[1*]، عزیز خرازی پاکدل[2]، حسین اللهیاری[3]، اصغر شیروانی[4]، الهام رضوان‌نژاد[5] و ژاک فن‌آلفن[6]
۱، گروه اکولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ۲ و۳، گروه گیاهپزشکی، دانشکدهٔ علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ۴، گروه گیاهپزشکی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ۵، گروه بیوتکنولوژی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان، ۶، پژوهشگاه تنوع زیستی و دینامیک اکوسیستم، دانشگاه آمستردام، هلند
(تاریخ دریافت: ۹۲/۲/۲۷- تاریخ تصویب: ۹۲/۱۰/۲۹)

چکیده

در این تحقیق، اثر قارچ بیمارگر *Beauveria bassiana* (Ascomycota, Hypocreales) بر واکنش تابعی (در شرایط آزمایشگاهی) و وضعیت تولیدمثلی (در شرایط نیمه‌طبیعی) زنبور پارازیتویید *Aphidius matricariae Haliday* (Hym.:Aphidiidae) روی پوره‌های سن سوم شتهٔ سبز هلو، *Myzus persicae* (Sulzer) (Hem.:Aphididae)، روی گیاه بادمجان بررسی شد. تجزیهٔ داده‌های تعداد شته‌های پارازیته‌شده در تراکم‌های مختلف شامل ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴ نشان‌داد که واکنش تابعی زنبور از نوع سوم است. بیشترین کارایی زنبور پارازیتویید *A. matricariae* در پارازیته‌کردن شتهٔ سبز هلو در زمان نبود قارچ *B. bassiana* مشاهده شد. دراین حالت مقدار b و T_h به ترتیب h^{-1} ۰/۰۰۴۴ و h ۰/۴۳۰ بود. مرحلهٔ آلودگی قبلی شتهٔ سبز هلو، بر تعداد مومیایی تولیدشده و مرگ‌ومیر شته بر اثر آلودگی به اسپور قارچ پس از ۱۶ روز اثر معنادار داشت. به‌طوری که، میانگین تعداد مومیایی‌های به‌دست‌آمده از شاهد و پارازیته‌شده با زنبور *A. matricariae* در ۲۴ و ۷۲ ساعت پس از آلودگی شته‌ها با قارچ به‌ترتیب برابر با ۲/۸۶±۱۴/۳۳، ۲/۱۳±۱۰/۶۶و۱/۳۳±۶/۶۶ بود. این‌نتایج نشان‌داد که زمان‌بندی نسبی بین پدیدهٔ پارازیتیسم و آلودگی قارچی عامل تعیین‌کننده‌ای در نتیجهٔ نهایی رقابت است.

واژه های کلیدی: برهم‌کنش، دز زیر کشندگی، دشمنان طبیعی، کنترل بیولوژیک

مقدمه

بیمارگرها و بندپایان به‌عنوان دشمنان طبیعی ممکن است در کنترل جمعیت حشرات آفت به‌صورت گونه‌های انفرادی یا ترکیبی از گونه‌ها مشارکت داشته باشند. با این‌حال، چون دشمنان طبیعی حشرات در سطوح غذایی چندگانه درگیرند، ارزیابی برهم‌کنش‌های داخل ترکیبات دشمنان طبیعی به منظور بهره‌برداری مؤثر از آن‌ها در مدیریت آفات حائز اهمیت است (Roy and Pell 2000).

درمطالعات برهم‌کنش‌های میان بیمارگرهای حشرات و دشمنان طبیعی بندپا، عموماً به بیمارگر به‌عنوان شکارگر درون رسته توجه می‌شود که به‌طور مستقیم می‌تواند دشمنان طبیعی حشرات درون رسته را آلوده کند (Flexner *et al.* 1986).

اکثر برهم‌کنش‌ها میان پارازیتوییدها و قارچ‌های بیمارگر حشرات به‌صورت نامتقارن (یکطرفه) و به نفع بیمارگر است (Hochberg and Lawton 1990).

* نویسنده مسئول: مریم راشکی تلفن: ۰۳۴۲۶۲۲۶۶۱۱ E-mail: ma_rashkigh@yahoo.com

با این حال، زمان‌بندی نسبی بین پدیدهٔ پارازیتیسم و آلودگی قارچی در نتیجهٔ نهایی رقابت، تعیین‌کننده است. برهم‌کنش‌های تضعیف‌کنندهٔ میان دشمنان طبیعی ممکن است با جدایی زمانی یا مکانی کاهش یابد یا از آن اجتناب شود. بر این اساس، برهم‌کنش‌های مثبت میان دشمنان طبیعی حشرات آفت به وفور مشاهده شده است و می‌توان این پدیده را داخل اگرواکوسیستم‌ها دستکاری یا تقویت کرد (Roy and Pell 2000).

دو دسته‌بندی برای برهم‌کنش میان بیمارگرها و دشمنان طبیعی بیان شده است که اولین دسته شامل جنبه‌های زیان‌بار برهم‌کنش‌های میزبان ـ پارازیتویید ـ بیمارگر است: ۱. مرگ قبل از بلوغ میزبان، ۲. مرگ پارازیتویید به‌علت سموم تولیدشدهٔ بیمارگر، ۳. جذاب‌نبودن میزبان از نظر تخم‌ریزی پارازیتویید، ۴. تغییر میزبان از نظر تغذیه‌ای یا فیزیولوژیکی، ۵. آلودگی مستقیم پارازیتویید و ۶. جلوگیری از مقاومت پارازیتویید.

دومین دسته شامل جنبه‌های سودمند برهم‌کنش‌های میزبان ـ پارازیتویید ـ بیمارگر است: ۱. اثر پدیدهٔ پارازیتیسم بر حساسیت میزبان و ۲. نقش پارازیتوییدها به‌عنوان ناقلین مکانیکی و بیولوژیکی بیمارگرها (Brooks 1993).

مطالعات دربارهٔ برهم‌کنش میان عوامل کنترل بیولوژیک اغلب به آزمایش برهم‌کنش‌های غذایی، بدون توجه به سایر جنبه‌های روابط میان گونه‌ها محدود می‌شود (Roy and Pell 2000).

قارچ بیمارگر *Beauveria bassiana* (Ascomycota, Hypocreales) با دامنهٔ میزبانی وسیع بیش از ۲۰۰ گونه از ۹ راستهٔ حشرات را آلوده می‌کند (Feng *et al*. 1994). بنابراین، قارچ مذکور تهدیدی جدی برای موجودات غیرهدف است.

زنبور پارازیتویید *Aphidius matricariae* Haliday (Hym.:Braconidae) پارازیتویید مهم شتهٔ سبز هلو *Myzus persicae* (Sulzer) (Hem.: Aphididae) است و ۴۰ گونهٔ مختلف از شته‌ها متعلق به ۲۰ جنس را پارازیته می‌کند (Giri *et al*. 1982). لازم به ذکر است که اطلاعات بسیار کمی در مورد کاربرد تلفیقی سازگار بین قارچ بیمارگر *B. bassiana* و زنبور پارازیتویید *A. matricariae* در مدیریت تلفیتی آفات با بررسی واکنش تابعی و وضعیت تولیدمثلی زنبور پارازیتویید وجود دارد.

هدف از انجام این تحقیق، تعیین اثر قارچ بیمارگر *B. bassiana* بر واکنش تابعی (در شرایط آزمایشگاهی) و وضعیت تولیدمثلی (در شرایط نیمه‌طبیعی) زنبور پارازیتویید *A. matricariae* روی شتهٔ سبز هلو، *M. persicae* است.

مواد و روش‌ها

پرورش گیاه

آزمایش‌ها روی گیاه بادمجان واریتهٔ Black beauty انجام شد. ابتدا، بذرهای گیاه داخل گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۱۵ و ارتفاع ۱۲ سانتی‌متر کاشته شده و سپس، در مرحلهٔ دو برگی در لیوان‌های پلاستیکی به قطر ۷ و ارتفاع ۸ سانتی‌متر به‌طور جداگانه نشا شدند. از گیاهان ۶۰ روزه در تمامی آزمایش‌ها استفاده شد. پرورش گیاه بادمجان در گلخانهٔ گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه تهران در دمای ۲±۲۵ درجهٔ سلسیوس انجام شد.

پرورش شتهٔ سبز هلو

در ابتدا، شتهٔ سبز هلو از مزرعهٔ بادمجان، در اواخر شهریور، از کرج جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. پس از اطمینان از انگلی‌نبودن شته‌ها با پارازیتوییدها، روی گیاهان بادمجان در اتاقک رشد با دمای ۱±۲۱ درجهٔ سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۰ درصد و دورهٔ نوری ۱۶:۸ (روشنایی:تاریکی) قرار گرفتند. شته‌ها شناسایی شدند و در همهٔ آزمایش‌ها از پوره‌های سن سوم شته استفاده شد. بدین ترتیب که تعدادی از افراد کامل ماده به مدت ۱۲ ساعت پوره‌زایی کردند؛ سپس، ماده‌ها حذف و پوره‌های سن سوم استفاده شدند.

پرورش زنبور پارازیتویید *A. matricariae*

تعدادی از شته‌های سبز هلو جمع‌آوری‌شده از مزرعهٔ بادمجان در کرج پس از نگه‌داری در آزمایشگاه تبدیل به مومیایی شدند. زنبورهای کامل پس از خروج از شته‌های مومیایی‌شده داخل قفسی از جنس پلکسی‌گلس به ابعاد ۶۰×۶۰×۵۰ سانتی‌متر در اتاقک رشد با شرایط دمایی ۱±۲۵ درجهٔ سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۷۰ درصد

و دورهٔ نوری ۱۶:۸ (روشنایی:تاریکی) پرورش یافتند. ابتدا، گروهی از پوره‌های سن سوم به مدت ۸ ساعت در معرض افراد مادهٔ جفتگیری‌کردهٔ زنبور پارازیتویید قرار گرفتند. پس از حذف افراد ماده، شته‌های مومیایی‌شده تا زمان خروج افراد کامل زنبورهای پارازیتویید نگه‌داری و از ماده‌های یک‌روزه در آزمایش‌ها استفاده شد.

تهیه و نگه‌داری کنیدی‌های قارچ جدایه *B. bassiana* EUT116

پس از عبوردادن قارچ از بدن شتهٔ سبز هلو و احیای قدرت جوانه‌زنی آن، قارچ روی محیط کشت حاوی Sabouraud dextrose agar (SDA) به علاوه مخمر به مدت ۲ هفته کشت شد. پس از تولید کنیدی، محیط‌های کشت طی شب در زیر هود خشک و در لوله‌های شیشه‌ای جمع‌آوری (Hansen and Steenbery 2007) و در داخل دسیکاتور حاوی سلیکاژل در دمای ۵ درجهٔ سلسیوس ذخیره شدند. بدین ترتیب کنیدی‌ها می‌توانند تا ۶ ماه قدرت جوانه‌زنی خود را حفظ کنند. برای اجرای آزمون زنده‌ماندن کنیدی‌ها، ۴ پتری‌دیش حاوی SDAY با سوسپانسیونی از کنیدی به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۲۵ درجهٔ سلسیوس تلقیح شد. سپس، تعداد کنیدی‌های جوانه‌زده در چهار منطقه از هر پتری شمارش و درصد آن محاسبه شد. در این حالت طول لولهٔ تندشی برابر با قطر کنیدی بود. درصد جوانه‌زنی کنیدی‌ها ۱۰۰ درصد تعیین شد.

تعیین غلظت‌های مختلف جدایه *B. bassiana* EUT116

برای تعیین غلظت‌های حداقل (زیرکشندگی) و حداکثر LC_{10} و LC_{95}، ابتدا، سوسپانسیونی از کنیدی قارچ در ۰/۰۲ درصد Tween 80 در آب مقطر استریل تهیه و سپس، به منظور جداکردن رشته‌های میسلیومی از کنیدی‌ها، از گلوله‌های شیشه‌ای و ورتکس (vortex) استفاده شد. بعد از عبوردادن سوسپانسیون از پارچهٔ ململ دولایهٔ استریل، تراکم کنیدی در واحد حجم با استفاده از گلبول‌شمار و فرمول $5x\times10^{4}$ محاسبه و با استفاده از معادلهٔ $C_1V_1=C_2V_2$ سایر غلظت‌های مورد نظر یعنی، 10^{4}، 10^{5}، 10^{6}، 10^{7} و 10^{8} کنیدی در میلی‌لیتر تهیه شد و از محلول ۰/۰۲ درصد Tween 80 نیز به‌عنوان شاهد استفاده شد. هر واحد آزمایشگاهی شامل دیسک برگی روی آب - آگار ۲ درصد حاوی ۲۰ شتهٔ سن سوم بود. آزمایش برای هر غلظت با ۳ تکرار انجام شد.

با استفاده از مه‌پاش دستی (Groszek, Kwazor, Jaktorow, Poland, http://www.kwazar.com.pl) یک‌بار روی شته‌های سن سوم پاشیده شد. دراین حالت، مه‌پاش در بالا و عمود بر شته‌هایی بود که روی دیسک برگی بادمجان داخل پتری‌دیش به قطر ۵/۸ سانتی‌متر روی آب - آگار ۲ درصد قرار داشتند. طی ۱۰ روز و به‌صورت روزانه پس از پاشش قارچ روی شته‌ها، مرگ آن‌ها بر اثر قارچ ثبت شد. داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار POLO-PC 2002 تجزیه شد و مقدار دز حداقل (زیرکشندگی) و حداکثر به ترتیب شامل LC_{10} و LC_{95} به‌دست آمد.

اثر قارچ *B. bassiana* بر واکنش تابعی زنبور پارازیتویید *A. matricariae*

از دیسک‌های برگی روی آب ـ آگار ۲ درصد شرح داده‌شده در آزمایش‌های قبلی داخل پتری‌دیش (به قطر ۵/۸ سانتی‌متر) استفاده شد. تراکم‌های مختلف از پوره‌های سن سه شتهٔ سبز هلو شامل ۲، ۴، ۸، ۱۶، ۳۲ و ۶۴ شته روی هر دیسک برگی قرار گرفت. در هر پتری‌دیش یک زنبور مادهٔ یک‌روزه *A. matricariae* رها شد. پس از ۲۴ ساعت زنبورها از داخل پتری‌دیش‌ها حذف و شته‌ها در دمای ۱±۲۵ درجهٔ سلسیوس، رطوبت نسبی ۱۰±۷۰ درصد و دورهٔ نوری ۱۶:۸ ساعت (روشنایی:تاریکی) تا زمان تشکیل مومیایی‌ها نگه‌داری شدند. در تیمارهای حاوی زنبور آلوده به قارچ ابتدا، گروهی از شته‌های سن سه با غلظت 10^{2} کنیدی بر میلی‌لیتر (غلظت زیرکشندگی) تیمار شدند، پس از ۲۴ ساعت، در معرض زنبورهای ماده جفتگیری‌کردهٔ یکروزه قرار گرفتند. از افراد کامل ظاهرشده در نسل اول در این آزمایش استفاده شد. برای آماده‌کردن شته‌های آلوده نیز ابتدا گروهی از شته‌های سن سه با غلظت 10^{2} کنیدی (غلظت زیرکشندگی) آلوده و پس از ۲۴ ساعت، در آزمایش استفاده شدند به‌طوری که، تیمارهای زیر به‌دست آمد: ۱. زنبور پارازیتویید و شته‌های سالم، ۲. زنبور پارازیتویید سالم، شته‌های آلوده به قارچ، ۳. زنبور پارازیتویید آلوده، شته‌های سالم، ۴. زنبور پارازیتویید و شته‌های آلوده به قارچ. نوع واکنش تابعی

زنبور پارازیتویید و پارامترهای آن در هر کدام از حالت‌های فوق محاسبه شد.

اثر آلودگی قبلی شته با قارچ *B. bassiana* بر وضعیت تولیدمثلی زنبور پارازیتویید *A. matricariae*

گروه‌های ۱۶تایی از شتهٔ سن سه، ۲۴ و ۷۲ ساعت قبل از شروع آزمایش با قارچ (غلظت LC_{95} * ۲) تیمار شدند. در این آزمایش از جعبه‌های طلقی مکعب مستطیل به ابعاد ۵۰×۴۰×۴۰ سانتی‌متر استفاده شد. ۸ گیاه بادمجان ۶۰ روزه در اطراف و ۱ گیاه در مرکز جعبه قرار گرفت. سطح خاک گلدان‌ها با یک کاغذ صافی مرطوب پوشانده شد. در کف جعبه نیز یک لایه ابر به ضخامت ۱ سانتی‌متر گذاشته و با محلول کلرید پتاسیم مرطوب شد. در هر تیمار ۸ شتهٔ آلوده و ۸ شتهٔ سالم به ۸ گیاه محیطی اضافه شدند. سپس، ۳ زنبور ماده و۳ زنبور نر نزدیک گیاه مرکزی در هر قفس رها شدند. قفس‌ها در اتاقک‌های رشد با دمای۱±۲۵ درجهٔ سلسیوس، رطوبت نسبی ۱۰±۷۰ درصد و دورهٔ نوری ۸ :۱۶ ساعت (روشنایی:تاریکی) قرارگرفتند. پس از ۸ روز اجساد حاوی اسپور قارچ و مومیایی‌های موجود روی گیاهان شمارهٔ ۲ ،۴ ،۶ ،۸ شمارش و ثبت شدند. بقیهٔ گیاهان ۸ روز دیگر هم داخل اتاقک ماندند و سپس، تعداد اجساد حاوی اسپور و شته‌های مومیایی‌شده شمارش شدند. هر تیمار در ۳ تکرار انجام شد. سه قفس نیز شامل شتهٔ سبز هلو و زنبور پارازیتویید بدون آلودگی به قارچ به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شد.

تجزیهٔ داده‌ها

واکنش تابعی زنبور *A. matricariae* با استفاده از روش جولیانو و نرم‌افزار SAS بررسی و تجزیهٔ آماری شد (Juliano 2001). این روش در دو مرحله انجام شد: در مرحلهٔ اول نوع واکنش تابعی و در مرحلهٔ بعد داده‌های به‌دست‌آمده با مدل‌های مناسب برازش و پارامترهای قدرت جست و جو (a) و زمان دستیابی (Th) محاسبه شد. برای تعیین نوع واکنش تابعی رگرسیون لجستیک نسبت میزبان‌های انگلی‌شده (N_a) در مقابل تعداد میزبان اولیه (N_0) برقرار شد. محاسبهٔ ضرایب رگرسیون لجستیک با استفاده از رویهٔ CATMOD در نرم‌افزار SAS انجام شد (SAS Institute 1989).

برای تشخیص نوع واکنش تابعی از علامت ضریب بخش خطی منحنی (پارامتر$P1$) استفاده می‌شود. علامت منفی نشان‌دهندهٔ واکنش تابعی نوع II و علامت مثبت بخش خطی نشان‌دهندهٔ واکنش تابعی از نوع III است. با توجه به اینکه ضریب قسمت خطی مثبت است، برای تخمین پارامترها، داده‌ها با مدل راجرز برازش داده شد (Rogers 1972):

معادلهٔ ۱):

$$N_a = N_0\{1-\exp[-(bTN_0)/(1+bT_h N_0^2)]\}$$

که N_a تعداد میزبان پارازیته‌شده، N_0 تعداد اولیهٔ میزبان، T کل زمانی که پارازیتویید و میزبان در کنار هم قرار دارند (۲۴ ساعت)، a ضریب حمله، T_h زمان دستیابی و b مقداری ثابت است.

طرح مربع لاتین برای برآورد اثر آلودگی قبلی با قارچ بر وضعیت تولیدمثلی زنبور پارازیتویید استفاده شد. پس از تجزیهٔ واریانس، در صورت معنادارشدن آزمون، مقایسهٔ میانگین‌ها با استفاده از روش توکی در سطح ۵ درصد انجام شد. در صورت نیاز داده‌ها با استفاده از فرمول $log\ n+1$ تبدیل شدند.

نتایج و بحث

تعیین غلظت‌های مختلف جدایهٔ *B. bassiana* EUT116

غلظت‌های حداقل LC_{10} و حداکثر $2\times LC_{95}$ به‌ترتیب 1×10^{2} و 2×10^{8} کنیدی در میلی‌لیتر محاسبه شد.

اثر قارچ *B. bassiana* بر واکنش تابعی زنبور پارازیتویید *A. matricariae*

براساس نتایج رگرسیون لجستیک، واکنش تابعی زنبور پارازیتویید نسبت به شتهٔ سبز هلو در هر ۴ تیمار انجام‌شده از نوع سوم بود. در هر ۴ حالت، مشاهده شد ضریب قسمت خطی مثبت و ضریب بخش درجهٔ دوم منفی است (جدول ۱). برای تخمین پارامترهای واکنش تابعی زنبور پارازیتویید *A. matricariae* از مدل راجرز استفاده شد (Rogers 1972).

ترسیم تعداد شتهٔ انگلی‌شده در مقابل تراکم‌های اولیهٔ شتهٔ سبز هلو نیز واکنش تابعی نوع سوم را نشان داد که در آن با افزایش تراکم میزبان، میزان انگلی‌شدن به‌طور وابسته به تراکم افزایش یافت و به شکل تابعی موجی به مجانب نزدیک شد. پس از آن، با افزایش تراکم، نسبت شته‌های انگلی‌شده کاهش یافت (شکل‌های ۱ تا ۴). درمیان بسیاری از عوامل تثبیت‌کننده پویایی جامعه، برهم‌کنش‌های بیولوژیکی غیرخطی مانند واکنش تابعی نوع ۳ از خصوصیات اصلی به حساب می‌آیند (Mitsunaga and Fugii 1999). در بررسی اثر دز زیر کشندگی حشره‌کش سایپرمترین بر واکنش تابعی، رفتار شکارگری و جفتگیری سن شکارگر *Acanthaspis pedestris* (Stål) شدت رفتارهای غیرطبیعی با افزایش غلظت سم، افزایش یافت و بر پارامترهای واکنش تابعی مانند نرخ حمله، زمان دستیابی تأثیر منفی داشت. همچنین، باعث کاهش کارایی شکارگر و طولانی‌شدن زمان جفتگیری شد. نوع واکنش تابعی تحت تأثیر سم حشره‌کش از نوع ۲ به ۴ تغییر یافت. هرچند سم سایپرمترین به مرگ سریع سن شکارگر در مزرعه منجر نمی‌شود؛ بر شکارگری و بیولوژی آن اثر می‌گذارد (Claver *et al.* 2003). در حالی که، پرخوری کفشدوزک شکارگر *Coccinella undecimpunctata* L. تحت تأثیر سم حشره‌کش انتخابی پری‌میکارب قرار نگرفت (Moura *et al.* 2006). همان‌طور که نتایج حاضر نشان می‌دهند، دز زیرکشندگی قارچ بیمارگر *B. bassiana* تأثیر منفی بر نوع واکنش تابعی زنبور پارازیتویید *A. matricariae* نداشته است.

جدول۱. نتایج تجزیهٔ رگرسیون لجستیک واکنش تابعی زنبور پارازیتویید *Aphidius matricariae* در وضعیت‌های مختلف آلودگی زنبور و شتهٔ سبز هلو *Myzus persicae* با قارچ بیمارگر *Beauveria bassiana*

وضعیت آلودگی	پارامتر	برآورد	خطای استاندارد	مربع کای	مقدار P
(*Am*)(*Mp*)	ثابت	-۱/۲۲۳۸	۰/۳۹۷۳	۹/۴۹	<۰/۰۱
	خطی	۰/۲۷۰۱	۰/۰۶۴۰	۱۷/۸۳	<۰/۰۰۰۱
	درجه دو	-۰/۰۰۸۱۱	۰/۰۰۲۴۶	۱۰/۸۶	<۰/۰۱
	درجه سه	۰/۰۰۰۰۶۹	۰/۰۰۰۰۲۴	۷/۹۶	<۰/۰۱
(*AmBb*)(*Mp*)	ثابت	-۱/۲۶۹۵	۰/۳۹۷۳	۱۰/۲۱	<۰/۰۱
	خطی	۰/۲۵۴۸	۰/۰۶۳۲	۱۶/۲۵	<۰/۰۰۰۱
	درجه دو	-۰/۰۰۷۳۳	۰/۰۰۲۴۳	۹/۱۲	<۰/۰۱
	درجه سه	-۰/۰۰۰۰۶	۰/۰۰۰۰۲۴	۶/۲۶	<۰/۰۵
(*Am*)(*MpBb*)	ثابت	-۰/۷۰۵۲	۰/۳۷۸۳	۳/۴۷	۰/۰۶۲۳
	خطی	۰/۱۲۲۴	۰/۰۵۷۶	۴/۵۲	<۰/۰۵
	درجه دو	-۰/۰۰۶۶۵	۰/۰۰۲۱۹	۹/۲۰	<۰/۰۵
	درجه سه	۰/۰۰۰۰۷۵	۰/۰۰۰۰۲۲	۱۲/۰۴	<۰/۰۱
(*AmBb*)(*MpBb*)	ثابت	-۰/۹۲۵۲	۰/۳۸۸۱	۵/۶۸	<۰/۰۵
	خطی	۰/۱۱۵۹	۰/۰۵۸۹	۳/۸۷	<۰/۰۵
	درجه دو	-۰/۰۰۶۱۳	۰/۰۰۲۲۴	۷/۴۸	<۰/۰۱
	درجه سه	۰/۰۰۰۰۶۹	۰/۰۰۰۰۲۲	۹/۶۰	<۰/۰۱

Am: زنبور پارازیتویید *Aphidius matricariae*، Mp: شتهٔ سبز هلو *Myzus persicae*، Bb: قارچ *Beauveria bassiana*

همچنین، نتایج نشان داد زنبور پارازیتویید *A. matricariae* بیشترین کارایی برای انگلی‌کردن شتهٔ سبز هلو زمانی را دارد که هم زنبور پارازیتویید و هم شتهٔ سبز هلو تحت تأثیر قارچ نباشند. ثابت حمله یا قدرت جست و جوگری پارازیتویید در این حالت بیشتر از مقادیر متناظر در سه حالت دیگر بود؛ البته حدود اطمینان ۹۵ درصد این پارامتر با حالتی هم‌پوشانی دارد که زنبور آلوده و شتهٔ سالم بود (جدول۲). هرچند ثابت حمله در تیماری که تنها زنبور پارازیتویید تحت تأثیر قارچ بوده است، نزدیک به حالتی است که زنبور و شته هر دو سالم بوده‌اند. کفشدوزک شکارگر *Serangium parcesetosum* Sicard تیمارشده با قارچ *Paecilomyces fumosoroseus* شکار را در نرخ مشابه با شاهد مصرف می‌کند که به‌طور معنادار بیشتر از نرخ

شکارگری (تعداد شکار به ازای هر شکارگر در هر روز) شکار تیمارشده با *B. bassiana* است. در این مورد نیز دز اثری بر نتایج نداشت. تغذیه روی شکار آلوده به قارچ *B. bassiana*، ۸۶ درصد مرگ در مراحل لاروی کفشدوزک ایجاد کرد (Poprawski *et al.* 1998).

جدول ۲. برآورد پارامترهای واکنش تابعی زنبور پارازیتویید *Aphidius matricariae* در وضعیت‌های مختلف آلودگی زنبور و شتهٔ سبز هلو *Myzus persicae* با قارچ بیمارگر *Beauveria bassiana* با استفاده از مدل راجرز

وضعیت‌های مختلف آلودگی	پارامتر	برآورد	خطای استاندارد	محدودهٔ اطمینان ۹۵ درصد	
				سطح بالا	سطح پایین
(*Am*)(*Mp*)	*b*	۰/۰۰۴۴	۰/۰۰۰۶	۰/۰۰۵۴	۰/۰۰۳۲
	T_h	۰/۴۳۰	۰/۰۲۱	۰/۴۷۱	۰/۳۸۹
(*AmBb*)(*Mp*)	*b*	۰/۰۰۴۳	۰/۰۰۰۹	۰/۰۰۶۱	۰/۰۰۲۴
	T_h	۰/۴۴۴	۰/۰۳۲	۰/۵۱۰	۰/۳۷۷
(*Am*)(*MpBb*)	*b*	۰/۰۰۰۶	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۹	۰/۰۰۰۳
	T_h	۰/۴۰۵	۰/۱۴۱	۰/۶۹۰	۰/۱۲۰
(*AmBb*)(*MpBb*)	*b*	۰/۰۰۰۷	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۹	۰/۰۰۰۲
	T_h	۰/۵۱۰	۰/۱۶	۰/۸۵۰	۰/۱۶۸

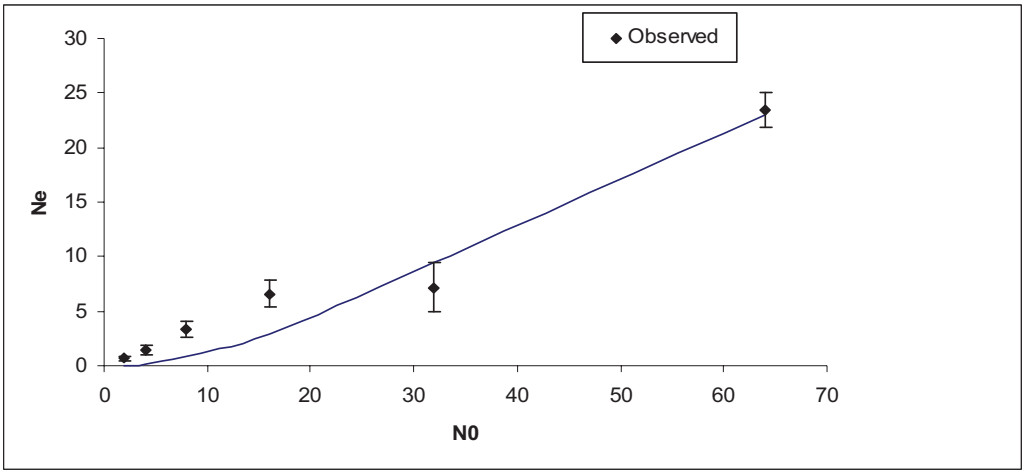
Am: زنبور پارازیتویید *Aphidius matricariae*، Mp: شتهٔ سبز هلو *Myzus persicae*، Bb: قارچ *Beauveria bassiana*

همچنین، برازش مدل راجرز به داده‌های و اکنش تابعی در تیمار زنبور پارازیتویید و شتهٔ سبز هلو هر دو سالم با مقدار بیشتر ضریب تبیین (R^2) (۹۸ درصد) نسبت به تیمار تنها زنبور پارازیتویید تحت تأثیر قارچ (۹۱درصد) بوده است. کمترین مقدار ثابت حمله با کمترین مقدار ضریب تبیین (۷۳درصد) در حالتی بود که زنبور پارازیتویید و شتهٔ سبز هلو، هر دو تحت تأثیر قارچ بودند. مقدار ثابت حمله در تیماری که تنها شتهٔ سبز هلو تحت تأثیر قارچ بود با ضریب تبیین بیشتر (۷۸درصد)، نزدیک به حالتی بود که هر دو تحت تأثیر قارچ بوده‌اند. در تحقیق دیگر ثابت شد که آلودگی تنها ملخ صحرایی به قارچ *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* باعث القای تغییرات رفتاری در آن قبل از مرگ بر اثر قارچ می‌شود؛ به‌طوری که، آلودگی ممکن است باعث افزایش حساسیت میزبان به شکارگر شود. افزایش حرکت ملخ‌ها (۳ روز پس از آلودگی) ممکن است آن‌ها را بیشتر در معرض دید شکارگرها قرار دهد. در مراحل انتهایی آلودگی، تمایل و قدرت ملخ‌ها برای فرار از حمله شکارگر کاهش می‌یابد که به‌طور عمده می‌تواند به دلیل تخریب بافت‌های میزبان در مراحل انتهایی آلودگی باشد (Arthurs and Thomas 2001). این امر می‌تواند بیشتربودن مقدار ثابت حمله، زمانی که شتهٔ سبز هلو تنها در معرض آلودگی قارچی بوده را توضیح دهد.

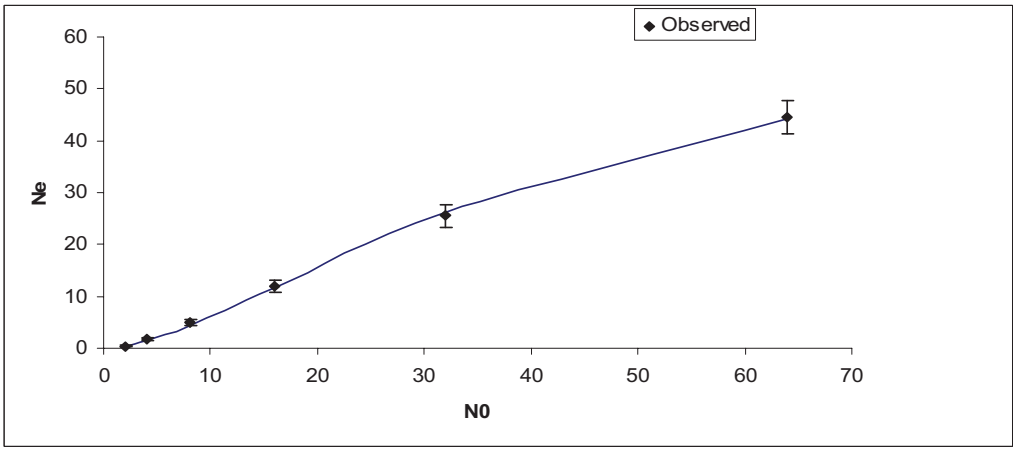
سمیت سموم دو جدایه قارچ *Lecanicillium lecanii* (Zimm.) نسبت به مراحل مختلف کفشدوزک شکارگر *Delphastus catalinae* (Horn) به‌طور معنادار متفاوت بود؛ به‌طوری که، سمیت آن‌ها نسبت به لاروها بیشتر از افراد کامل بود. کاربرد این سموم به‌شدت بر رفتار کاوشگری و تغذیه کفشدوزک شکارگر آفت (Gennadius) *Bemisia tabaci* تحت شرایط آزمایشگاهی تأثیر گذاشت و در شرایط مزرعه‌ای، ظرفیت تغذیه‌ای لاروها و افراد کامل را کاهش داد. همچنین، سموم با غلظت ۴۰۰ppm به‌طور معنادار باروری و طول عمر کفشدوزک شکارگر را کم کردند. سموم استخراج‌شده از *L. lecanii* با ایجاد اثر مخرب بر ظرفیت کاوشگری و واکنش تابعی کفشدوزک، باعث طولانی‌ترشدن زمان دستیابی شدند. پس از تیمار با سموم استخراج‌شده از *L. lecanii*، لارو سن دوم طولانی‌ترین زمان دستیابی را از خود نشان داد که نشان‌دهندهٔ حساسیت بیشتر لاروهای سن دوم به سموم است. بنابراین، باید از پاشش قارچ‌های بیمارگر یا سموم آن‌ها در زمان حضور مراحل لاروی کفشدوزک شکارگر *Delphastus catalinae* (Horn) در مزرعه خودداری کرد (Wang *et al.* 2005).

به‌طور مشابه در این تحقیق، بیشترین مقدار زمان دستیابی در تیماری بود که زنبور پارازیتویید و شتهٔ سبز هلو هر دو تحت تأثیر قارچ قرار گرفتند که این مقدار بیشتر از حالتی بود که تنها زنبور در معرض

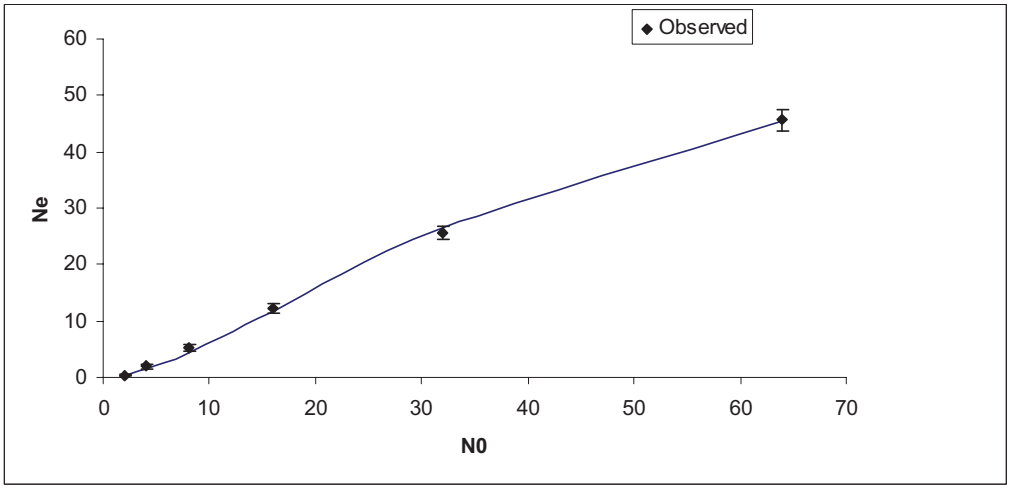
قــارچ *B. bassiana* بوده است. البته، حدود اطمینان ۹۵ درصد این پارامتر با سه حالت دیگر هم‌پوشانی دارد.



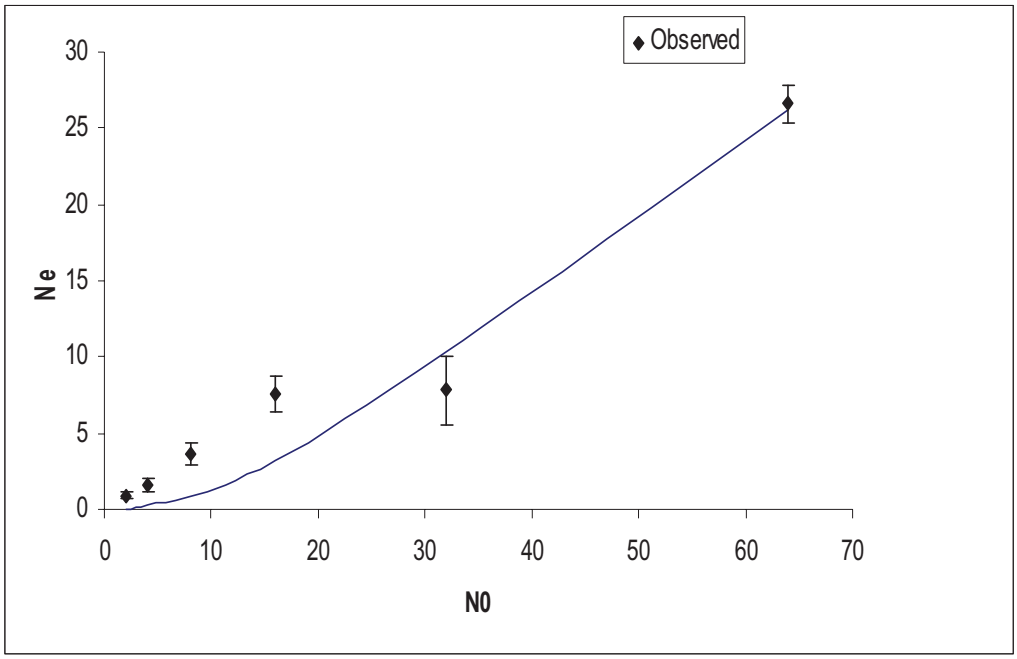
شکل ۱. واکنش تابعی زنبور پارازیتویید *Aphidius matricariae* نسبت به تراکم‌های مختلف شتهٔ *Myzus persicae* زمانی که زنبور و شته در معرض دوز زیرکشندگی (۲×۱۰۲ کنیدی در میلی‌لیتر) بودند.



شکل ۲. واکنش تابعی زنبور پارازیتویید *Aphidius matricariae* نسبت به تراکم‌های مختلف شتهٔ *Myzus persicae* زمانی که زنبور در معرض دوز زیرکشندگی (۲×۱۰^{۲} کنیدی در میلی‌لیتر) ولی شته‌ها سالم بودند.



شکل ۳. واکنش تابعی زنبور پارازیتویید *Aphidius matricariae* نسبت به تراکم‌های مختلف شتهٔ *Myzus persicae* زمانی که زنبور و شته‌ها سالم بودند.



شکل ۴. واکنش تابعی زنبور پارازیتویید *Aphidius matricariae* نسبت به تراکم‌های مختلف شتهٔ *Myzus persicae* زمانی که زنبور سالم ولی شته‌ها در معرض دوز زیرکشندگی (۲×۱۰۲ کنیدی در میلی‌لیتر) بودند.

برآورد اثر آلودگی قبلی شته با قارچ *B. bassiana* بر وضعیت تولیدمثلی زنبور پاراز یتوئید *A. matricariae*

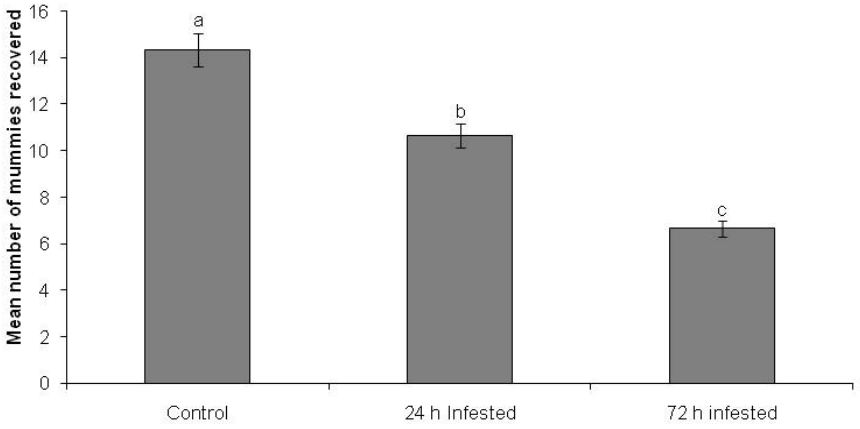
مرحلهٔ آلودگی شتهٔ سبز هلو، بر تعداد مومیایی تولیدشده پس از ۱۶ روز اثر معنادار داشت ($P<۰/۰۵$ و $F_{۲و۲}$ =۶۳/۵۲) (شکل۵). میانگین تعداد مومیایی‌های به‌دست‌آمده از شاهد (شتهٔ سبز هلو و زنبور پارازیتویید)، انگلی‌شده با پارازیتویید، ۲۴ و ۷۲ ساعت پس از آلودگی شته‌ها با قارچ به ترتیب برابر با ۲/۸۶±۱۴/۳۳ و ۲/۱۳±۱۰/۶۶ و ۱/۳۳±۶/۶۶ بود.

این مسئله نشان می‌دهد که پیشرفت آلودگی سبب غلبهٔ قارچ بر پارازیتویید و کاهش تولیدمثل آن شده است. به‌طور مشابه، قارچ *Pandora neoaphidis* Remaudiere & Hennebert به‌طور معنادار تعداد مومیایی‌های زنبور پارازیتویید *Aphidius ervi* Haliday را کاهش می‌دهد که این مسئله نتیجهٔ رقابت این دو دشمن طبیعی و غلبهٔ قارچ بیمارگر بر زنبور پارازیتویید بر سر منبع غذایی، یعنی شتهٔ میزبان است. موفقیت قارچ بیمارگر در تیمار حاوی شته‌های آلوده ۷۲ ساعت قبل از ورود پارازیتویید نسبت به زمان ۲۴ ساعت بیشتر بود. نتیجهٔ رقابت درون‌رسته‌ای میان زنبور پارازیتویید و قارچ بیمارگر به‌شدت تحت تأثیر زمان آلودگی با قارچ یا تخم‌ریزی زنبور پارازیتویید است (Baverstock 2004).

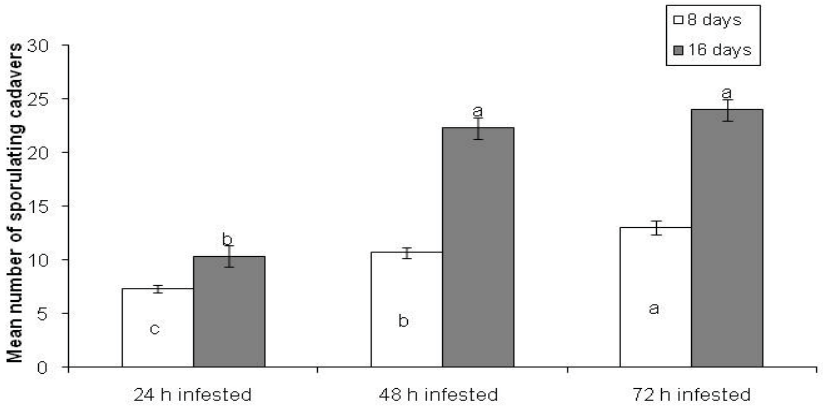
پس از گذشت ۸ روز از شروع آزمایش، تعداد اجساد شتهٔ حاوی اسپور قارچ در مراحل آلودگی مختلف دارای تفاوت معنادار بود ($P<۰/۰۱$ و $F_{۲و۲}$ =۷۳/۰۰) (شکل ۶). میانگین‌های تعداد اجساد شتهٔ حاوی اسپور قارچ عبارت از ۱±۱۳، ۱/۴۵±۱۰/۶۶ و ۰/۸۸±۷/۳۳ به ترتیب در فواصل زمانی ۷۲، ۴۸ و۲۴ ساعت بود. همچنین، ۱۶ روز پس از شروع آزمایش، در تعداد اجساد شتهٔ حاوی اسپور قارچ تفاوت معناداری در مراحل آلودگی مختلف شته وجود داشت ($P<۰/۰۱$ و $F_{۲و۲}$ =۱۵۰۱/۰۰) (شکل ۶). میانگین‌های تعداد اجساد حاوی اسپور قارچ در فواصل زمانی ۷۲، ۴۸ و ۲۴ ساعت به ترتیب ۲/۰۸±۲۴، ۱/۸۵±۲۲/۳۳ و ۲/۰۲±۱۰/۳۳ بود.

دلیلی که می‌توان برای کاهش تولیدمثل پارازیتویید *A. matricariae* ذکر کرد این است که پارازیتویید در حال تخم‌ریزی می‌تواند میزبان‌های آلوده را تشخیص دهد. تغییرات فیزیولوژیکی در میزبان آلوده به قارچ ممکن است موجب کاهش تولید کایرومون‌های تماسی شتهٔ میزبان در ارتباط با رفتار تخم‌ریزی پارازیتویید شود. به‌طوری که، زنبور پارازیتویید *Aphidius rhopalosiphi* نیز از تخم‌ریزی در مراحل

پایانی آلودگی شتهٔ میزبان *Metopolophium dirhodum* (Walker) به *Pandora neoaphidis* خودداری می‌کند (Brobyn *et al.* 1988).



شکل ۵. میانگین تعداد مومیایی‌های تولیدشدهٔ زنبور پارازیتویید *Aphidius matricariae* بعد از گذشت ۱۶ روز در قفس‌های حاوی شتهٔ سالم، شتهٔ آلوده با قارچ *Beauveria bassiana* ۲۴ و ۷۲ ساعت قبل از رهاکردن زنبور پارازیتویید. * میانگین با حروف مشابه از نظر آماری اختلاف معنادار ندارند (آزمون توکی P<۰/۰۵).



شکل ۶. میانگین تعداد اجساد شتهٔ حاوی اسپور قارچ به‌دست‌آمده پس از ۸ و ۱۶ روز در قفس‌های حاوی شتهٔ آلوده با قارچ *Beauveria bassiana* ۲۴ و ۷۲ ساعت قبل از رهاکردن زنبور پارازیتویید *Aphidius matricariae* * میانگین با حروف مشابه از نظر آماری اختلاف معنادار ندارند (آزمون توکی P<۰/۰۵).

سپاسگزاری

از آزمایشگاه کنترل بیولوژیک گروه گیاهپزشکی دانشگاه تهران ـ کرج به دلیل در اختیارگذاشتن جدایهٔ قارچ بیمارگر و سایر امکانات سپاسگزاری می‌شود.

REFERENCES

Arthurs E, Thomas MB (2001) Behavioural changes in *Schistocerca gregaria* following infection with a fungal pathogen: implications for susceptibility to predation. Ecological Entomology 26: 227-234.

Baverstock J (2004) Interactions between aphids, their insect and fungal natural enemies and the host plant. Ph.D., University of Nottingham, Leicestershire, UK.

Brobyn PJ, Clark SJ, Wilding N (1988) The effect of fungus infection of *Metopolophium dirhodum* (Hom.: Aphididae) on the oviposition behaviour of the aphid parasitoid *Aphidius rhopalosiphi* (Hym.: Aphidiidae). Entomophaga 33: 333-338.

Brooks WM (1993) Host-parasitoid-pathogen interactions. Parasites and Pathogens of Insects, *In*: Beckage, NE, Thompson SN, Federici BA, (ed.) Pathogens. Academic Press, San Diego. pp. 231-272.

Claver MA, Ravichandran B, Khan MM, Ambrose DP (2003) Impact of cypermethrin on the functional response, predatory and mating behaviour of a non-target potential biological control agent *Acanthaspis pedestris* (Stål) (Het., Reduviidae). Journal of Applied Entomology 127: 18-22.

Feng MG, Poprawski TJ, Khatchatourians GG (1994) Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus Beauveria bassiana for insect control: current status. Biocontrol Science and Technology 4: 3-34.

Flexner JL, Lighthart B, Croft BA (1986) The effects of microbial pesticides on non-target, beneficial arthropods. Agricultural Ecosystems and Environment 16: 203-254.

Giri MK, Pass BC, Yeargan KV, Parr JC (1982) Behavior, net reproduction, longevity, and mummy-stage survival of Aphidius matricariae (Hym. Aphididae). Entomophaga 27: 147-153.

Hochberg ME, Lawton JH (1990) Competition between kingdoms. Trends in Ecology and Evolution 5: 367-371.

Juliano SA (2001) Nonlinear curve fitting: predation and functional response curves. In: Cheiner SM, Gurven J, (ed.) Design and analysis of ecological experiments. Chapman & Hall, New York. pp. 159-182.

Mitsunaga T, Fujii K (1999) An experimental analysis of the relationship between species combination and community persistence. Researches on Population Ecology 41: 127-134.

Moura R, Garcia P., Cabral S, Soares AO (2006) Does pirimicarb affect the voracity of the euriphagous predator, *Coccinella undecimpunctata* L. (Coleoptera: Coccinellidae)? Biological Control 38: 363-368.

Poprawski TJ, Legaspi JC, Parker PE (1998) Influence of entomopathogenic fungi on *Serangium parcesetosum* (Coleoptera: occinellidae), an important predator of whiteflies (Homoptera: Aleyrodidae). Environmental Entomology 27: 785-795.

Rogers DJ (1972) Random search and insect population models. Journal of Animal Ecology 41: 369-383.

Roy HE, Pell JK (2000) Interactions between entomopathogenic fungi and other natural enemies: implications for biological control. Biocontrol Science and Technology 10: 737-752.

SAS (1989) SAS/STAT Users Guide, version 6, Vols. 1 and 2. SAS Institute Inc. Cary, NC.

Wang L, Huang J, You M, Guan X, Liu B (2005) Effects of toxins from two strains of *Verticillium lecanii* (Hyphomycetes) on bioattributes of a predatory ladybeetle, *Delphastus catalinae* (Col., Coccinellidae). Journal of Applied Entomology 129(1): 32-38.