

## اثر کشندگی و زیر کشندگی قارچ *Metarhizium anisopliae* روی فراسنجه‌های جدول زیستی باروری شته مومی کلم *Brevicoryne brassicae* در شرایط آزمایشگاهی

۱. ساناز امامی؛ ۲. سیدعلی صفوی\*؛ ۳. یوبرت قوستا

۱. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد حشره‌شناسی کشاورزی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۲. دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۱۸ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۴/۱۳)

### چکیده

شته مومی کلم یکی از آفات مهم گیاهان تیره کلم می‌باشد که با تغذیه مستقیم از شیره گیاهی و انتقال ویروس‌های گیاهی خسارت می‌زند. روش رایج در کنترل آفت مذکور استفاده از حشره‌کش‌های شیمیایی است. اما آثار سوء استفاده از آنها موجب افزایش توجه به استفاده از ترکیبات و عوامل سازگار با محیط شده است. لذا در این تحقیق قدرت بیمارگری جدایه‌های DEMI001 و V245 از قارچ *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin روی حشرات کامل شته مومی کلم در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. حشرات کامل آفت با غلظت‌های  $10^3$  تا  $10^7$  کنیدی بر میلی‌لیتر تیمار شدند. همچنین فراسنجه‌های جدول زیستی باروری در شته‌هایی که با غلظت  $LC_{30}$  ( $10^3/1 \times 10^6$ ) کنیدی بر میلی‌لیتر (جدایه DEMI001 تیمار شدند، مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاکی از حساسیت حشرات کامل شته مومی کلم به دو جدایه قارچی مورد استفاده بود. مقادیر  $LC_{50}$  برای جدایه‌های DEMI001 و V245 به ترتیب برابر با  $10^5/1$  و  $10^6/3 \times 10^6$  کنیدی بر میلی‌لیتر بود. کمترین زمان لازم برای مرگ ۵۰ درصد افراد جمعیت مربوط به جدایه DEMI001 در غلظت  $10^7$  کنیدی بر میلی‌لیتر،  $6.67$  روز محاسبه شد. همچنین، نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت زیر کشندگی ۳۰ درصد از جدایه DEMI001 قارچ *M. anisopliae* اثر معنی‌داری در کاهش قدرت تولیدمثل شته داشت. مقادیر  $r_m$  و  $\lambda$  در تیمار با جدایه DEMI001 به ترتیب برابر  $0.28$  ماده/روز و  $1.32$  ماده/روز بود. نتایج به‌دست آمده نشان می‌دهد که قارچ *M. anisopliae* می‌تواند به عنوان عامل مؤثر در کنترل شته مومی کلم استفاده شود.

کلیدواژگان: شته، قارچ بیمارگر حشرات، کنترل بیولوژیک.

## Lethal and sublethal effects of *Metarhizium anisopliae* on fertility life table parameters of *Brevicoryne brassicae* in laboratory conditions

Sanaz Emami<sup>1</sup>, Seyed Ali Safavi<sup>2\*</sup> and Youbert Gusta<sup>2</sup>

1. Former M. Sc. student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Urmia University, Iran

2. Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Urmia University, Iran

(Received: Mar. 8, 2016 - Accepted: Jul. 3, 2016)

### ABSTRACT

The cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* (L.), is a major pest of cruciferous crops all over the world that causes a considerable damage on different products by direct sap feeding and transmission of pathogenic viruses. Use of chemical pesticides is the most common control method of this pest but the adverse effects of these pesticides have shifted considerations to other environmental-friendly agents. In this study, the virulence of two isolates (DEMI001 and V245) of the fungus, *Metarhizium anisopliae* (Metch.) Sorokin was investigated against the adults of cabbage aphid in laboratory conditions. Adult aphids were treated with ( $10^3$ - $10^7$  conidia/ml) concentrations of fungus. Moreover, life table parameters of aphid were evaluated when treated with sub-lethal ( $LC_{30}$ ) concentration of the effective isolate, DEMI001. Results showed that the adults of cabbage aphid were completely sensitive to the isolates of fungus.  $LC_{50}$  values was scored  $1.5 \times 10^5$  and  $2.3 \times 10^6$  conidia/ml respectively for DEMI001 and V245 isolates. The shortest time needed for the mortality of 50% of the population was 6.67 days belonging to DEMI001 isolate at  $10^7$  conidia/ml concentration. Moreover, results showed that a sub-lethal ( $LC_{30}$ ) concentration of DEMI001 isolate, had significant effect on fertility of treated aphids. The values of  $r_m$  and  $\lambda$  parameters were 0.28 female/female/day and 1.32 female/day, respectively. Our results showed that *M. anisopliae* can be used as an effective biocontrol agent in cabbage aphid control.

**Keywords:** Aphid, biological control, entomopathogenic fungus.

## مقدمه

شته مومی کلم، *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae) طی ۷۰ سال اخیر اثرات مخربی روی گیاهان تیره کلمیان و کلزا داشته و به عنوان آفت کلیدی این گیاهان مطرح شده است (Ellis and Farrell 1995). این آفت به برگ، ساقه و گل حمله می‌کند و با ایجاد پوشش مومی سفید رنگ روی بوته‌ها باعث کاهش محصول و یا انهدام کامل بوته می‌گردد (Khanjani 2009). پوره‌ها و شته‌های بالغ با مکیدن شیره گیاهی باعث پیچیدگی، زرد شدگی، پژمردگی و انتقال ویروس‌ها در گیاهان میزبان می‌شوند و در آلودگی‌های شدید ممکن است میزان محصول تا ۸۰ درصد کاهش پیدا کند. این شته ناقل ۲۰ ویروس بیمارگر در گیاهان مختلف است و تعدادی از ویروس‌های محصولات کلم مانند ویروس موزاییک کلم گل و شلغم را انتقال می‌دهد (Aslam and Ahmad 2002). عسلک تولیدشده توسط این شته باعث رشد کپک‌های سیاه می‌شود که فتوسنتز گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Ahmad and Aslam 2005). در حال حاضر روش رایج کنترل این آفت، استفاده از سموم شیمیایی می‌باشد که می‌تواند خسارت را به‌طور قابل توجهی کاهش دهد. با توجه به آثار سوء استفاده از حشره‌کش‌های شیمیایی، در سال‌های اخیر اقدامات زیادی جهت شناخت و توسعه آفت‌کش‌های بیولوژیک به عنوان جایگزین در مدیریت کنترل آفات صورت گرفته است.

در بین عوامل کنترل بیولوژیک، قارچ‌ها یکی از امیدبخش‌ترین بیمارگرها بوده و از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند. این عوامل با نفوذ مستقیم از کوتیکول میزبان موجب آلودگی در آفت هدف می‌شوند. بنابراین در مورد حشراتی که از شیره گیاهان تغذیه می‌کنند، تنها راه عملی کنترل میکروبی محسوب می‌شوند (St. Leger et al. 1991). قارچ موسکاردین سبز *Metarhizium anisopliae* (Metch.) به عنوان یک قارچ بیمارگر مهم علیه حشرات راسته‌های مختلف از جمله آفات خاکزی و گلخانه‌ای نظیر سفیدبالک‌ها، تریپس‌ها و حتی کنه‌ها استفاده می‌شود. یک جدایه برزیلی (IBCB) از قارچ *M. anisopliae* در غلظت‌های  $1 \times 10^6$  و

$1 \times 10^8$  کنیدی بر میلی لیتر پس از ۱۰ روز موجب  $100\%$  درصد مرگ در جمعیت شته پنبه و شته سبز هلو شد (Loureiro and Moino 2006). در آزمایشی تأثیر ۱۶ جدایه از قارچ *M. anisopliae* روی شته سبز هلو (*Myzus persicae* Sulzer) بررسی شد. نتایج نشان داد که ۱۰ جدایه موجب ۶۷ تا ۱۰۰ درصد مرگ در جمعیت آفت شدند. همچنین دو جدایه 456 و 3332 توانایی بیمارگری زیادی روی شته‌ها داشتند (Shan and Feng 2006). در تحقیقی دیگر، تأثیر ۲۳ جدایه از قارچ‌های *M. anisopliae* و *M. acridum* روی شته سبز هلو مورد بررسی قرار گرفت (Shan and Feng 2010). همچنین بیمارگری جدایه‌هایی از قارچ‌های *Beauveria bassiana* و *M. anisopliae* روی شته پنبه بررسی شده است (Herlinda 2010). در تحقیق دیگری، بیمارگری قارچ‌های *Lecanicillium* sp. و *B. bassiana* روی شش گونه شته غلات بررسی گردید (Feng et al. 1990). در مطالعه دیگری بیمارگری ۴ جدایه از قارچ *B. bassiana* و یک جدایه از قارچ *M. anisopliae* به روش غوطه‌وری روی حشرات کامل سن گندم مورد بررسی قرار گرفته است (Kivan 2006). آزمون‌های زیست‌سنجی که تنها یک عامل مرگ را بررسی می‌کنند به تنهایی برای ارزیابی در سطح مزرعه کافی نیستند (Brattsten et al. 1986). در مدیریت مبارزه و تصمیم‌گیری صحیح در کنترل آفات، لازم است تا شاخص‌های رشد جمعیت، عوامل مؤثر بر افزایش آن و آماره‌های تولیدمثلی مشخص شوند. امروزه جدول زندگی به عنوان یک روش قابل اطمینان برای تعیین بهترین زمان مبارزه با آفات (Chi 1990) و از ابزار مهم در مطالعه جمعیت آن‌ها (Sakai et al. 2001) پیشنهاد شده است. جداول زندگی باروری با برآورد آماره‌های نرخ ذاتی افزایش جمعیت ( $r_m$ )، نرخ خالص تولیدمثل ( $R_0$ )، میانگین طول مدت یک نسل ( $T$ )، زمان دو برابر شدن جمعیت ( $DT$ )، و نرخ افزایش متناهی جمعیت ( $\lambda$ ) برای توصیف زمان رشد و نمو و نرخ بقای هر مرحله رشدی، پیش‌بینی اندازه جمعیت یک آفت و ساختار سنی آن در یک زمان مشخص به‌کار می‌روند (Ansari et al. 2014). از مطالعات انجام شده در این زمینه می‌توان به بررسی تأثیر قارچ *Lecanicillium attenuatun* روی

### تهیه سوسپانسیون کنیدی

توده قارچی از سطح محیط‌های کشت با کنیدی‌زایی کامل توسط تیغ آزمایشگاهی سترون برداشت شد و به داخل لوله‌های آزمایش حاوی آب مقطر سترون به همراه ۰/۰۵ درصد توئین-۸۰ منتقل و به‌صورت سوسپانسیون درآمدند. درب لوله‌ها توسط پارافیلیم بسته شده و لوله‌ها به مدت ۵ دقیقه بخوبی تکان داده شدند و سپس از پارچه ملامل چند لایه عبور داده شدند تا ریشه‌ها و قطعات محیط کشت حذف شوند. برای تعیین تراکم کنیدی از لام گلبول‌شمار نئوبار استفاده شد و غلظت مورد نظر کنیدی با افزودن مقدار مشخص آب مقطر سترون به داخل سوسپانسیون اصلی تهیه شد. در شاهد از آب مقطر سترون حاوی ۰/۰۵ درصد توئین-۸۰ استفاده شد. درصد تندش کنیدی‌ها قبل از زیست‌سنجی حشرات تعیین گردید.

### زیست‌سنجی

پس از انجام آزمایش‌های مقدماتی و تعیین محدوده غلظت‌های آزمایشی (۱۰<sup>۳</sup> و ۱۰<sup>۷</sup> کنیدی بر میلی‌لیتر)، زیست‌سنجی اصلی انجام گردید. آزمایش‌ها به روش غوطه‌وری در ۱۰ تکرار برای هر تیمار (غلظت‌های ۱۰<sup>۳</sup>، ۱۰<sup>۴</sup>، ۱۰<sup>۵</sup>، ۱۰<sup>۶</sup> و ۱۰<sup>۷</sup> کنیدی بر میلی‌لیتر) برای هر جدایه از قارچ به همراه شاهد (آب مقطر حاوی ۰/۰۵ درصد توئین-۸۰) روی حشرات کامل شته مومی کلم انجام شد و در هر تکرار ۱۰ شته بالغ تیمار گردیدند.

بعد از تهیه غلظت‌های مورد نظر قارچ، شته‌ها به‌طور همزمان به مدت ۱۰ ثانیه در سوسپانسیون‌های مربوطه غوطه‌ور شده و بعد از آن روی برگ‌های کلمی که درون تشتک‌های پتری سترون قرار گرفته بودند، منتقل شدند. درون تشتک‌های پتری یک قطعه پنبه خیس جهت تامین رطوبت مورد نیاز کنیدی‌ها قرار داده شد. شته‌های تیمار شده در شرایط دمایی ۲۵±۲ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۶۵±۵ درصد و دوره روشنایی ۱۶:۸ (تاریکی: روشنایی) قرار گرفتند. ارزیابی مرگ شته‌ها بعد از گذشت ۲۴ ساعت تا ۱۰ روز به صورت روزانه ادامه یافت. شته‌های مرده برای اثبات مرگ در اثر قارچ به تشتک‌های پتری حاوی کاغذ صافی سترون

فراسنجه‌های زیستی شته جالیز اشاره کرد (Kim 2007). هدف از انجام این تحقیق تخمین مقادیر LC<sub>50</sub> و LT<sub>50</sub> دو جدایه از قارچ *M. anisopliae* روی شته مومی کلم، و تعیین اثر غلظت زیرکشنده (LC<sub>30</sub>) جدایه مؤثرتر قارچ روی فراسنجه‌های جدول زیستی باروری این شته بود.

### مواد و روش‌ها

#### پرورش گیاه میزبان و آفت

به منظور تأمین گیاه مورد نظر برای پرورش شته مومی کلم به‌طور دائم حدود ۵۰ گلدان کلم پیچ سفید (*Brassica oleracea* var. *capitata*) رقم branswick در شرایط گلخانه با دمای ۲۵±۲ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۶۰±۱۰ درصد و دوره روشنایی ۸:۱۶ (تاریکی: روشنایی) کشت شد. بعد از گذشت دو هفته روی آن‌ها استوانه‌هایی از جنس طلق شفاف که در یک طرف آن پارچه توری جهت تهویه تعبیه شده بود، قرار داده شد. حشرات طی بازدیدهای دوره‌ای و مداوم از مزارع کلم منطقه نازلوی ارومیه جمع‌آوری شده و به آزمایشگاه منتقل شدند و بعد از شناسایی آنها در سطح گونه، روی گیاهان رهاسازی شده و تکثیر یافتند.

#### کشت و تکثیر قارچ *M. anisopliae*

دو جدایه مورد استفاده در این پژوهش DEMI001 و V245 بودند که به ترتیب از سرخرطومی حنایی خرما (اسراوان) و خاک (فنلاند) جداسازی شده‌اند. برای کشت جدایه‌ها و به‌دست آوردن کنیدی به منظور آلوده‌سازی شته‌ها از محیط کشت سابورد دکستروز آگار<sup>۱</sup> استفاده شد. کشت قارچ در تشتک‌های پتری ۶ سانتی‌متری حاوی محیط کشت و در شرایط سترون در زیر هود آزمایشگاهی صورت گرفت. پس از انتقال قارچ به محیط کشت جدید درب تشتک‌های پتری سریعاً مسدود گردید. برای جلوگیری از آلودگی‌های احتمالی، اطراف تشتک‌های پتری بوسیله پارافیلیم پوشانده شدند و در انکوباتور با دمای ۲۵±۲ درجه سلسیوس و دوره روشنایی: تاریکی ۱۶:۸ ساعت به مدت دو هفته نگهداری شدند تا به‌طور کامل کنیدی‌زایی نمایند.

انجام گرفت. میانگین‌های حاصل از روش جک‌نایف هم با استفاده از آزمون توکی مقایسه و گروه‌بندی شد.

### نتایج و بحث

نتایج کشندگی دو جدایه قارچ *M. anisopliae* در کمترین ( $10^3$  کنیدی بر میلی‌لیتر) و بیشترین ( $10^7$  کنیدی بر میلی‌لیتر) غلظت‌ها حاکی از آن بود که جدایه DEMI001 به ترتیب ۸ و ۸۶ درصد و جدایه V245 به ترتیب ۳ و ۵۹ درصد تلفات درحشرات کامل شته مومی کلم ایجاد نمود. تجزیه واریانس داده‌های مربوط به بررسی زهرآگینی دو جدایه DEMI001 و V245 قارچ *M. anisopliae* در بالاترین غلظت روی حشرات کامل شته مومی کلم و همچنین مقایسه مقادیر  $LC_{50}$  (جدول ۱) و  $LT_{50}$  (جدول ۲) با توجه به حدود اطمینان آنها نشان داد که دو جدایه از نظر زهرآگینی تفاوت معنی‌دار دارند ( $P=0/001$ ). مقادیر  $LC_{50}$  حاصل از تجزیه پروبیت برای جدایه‌های DEMI001 و V245 به ترتیب  $1/5 \times 10^5$  و  $2/3 \times 10^6$  کنیدی بر میلی‌لیتر بود (جدول ۱). مدت زمان لازم برای تلفات ۵۰٪ از جمعیت مورد آزمایش در پنج غلظت نشان داد که زمان کشندگی مربوط به جدایه DEMI001 برابر با ۶/۶۷ روز در غلظت  $10^7$  و زمان کشندگی مربوط به جدایه V245، برابر با ۸/۵۱ روز در همان غلظت بود (جدول ۲). این نتایج حاکی از زهرآگینی بالای جدایه DEMI001 می‌باشد. نرخ مرگ رابطه مستقیمی با غلظت کنیدی داشت. همچنین سرعت مرگ نیز رابطه مستقیمی با شدت زهرآگینی هر جدایه داشت.

در تحقیقی که اثر بیماری‌گری ۳ قارچ *Paecilomyces Verticillium (= Lecanicillium) fumosoroseus* ( $n_{32}$ ) علیه *M. anisopliae* ( $L_6$ ) ( $M_{440}$ ) *Jecanii* ( $V_{16}$ ) حشرات کامل شته مومی کلم بررسی شد، مشاهده گردید که مرگ شته‌ها با افزایش غلظت اسپور و زمان تماس افزایش پیدا می‌کند (Asi et al. 2009). نتایج به‌دست آمده در تحقیق حاضر، حاکی از پتانسیل بالای این قارچ در کنترل شته مومی کلم می‌باشد. تحقیقات متعددی درباره اثربخشی قارچ‌های بیمارگر حشرات روی شته‌های مختلف وجود دارد. تأثیر دو جدایه ایرانی قارچ *M. anisopliae* روی حشره کامل شته روسی گندم در

خیس در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس منتقل شدند. بعد از آن تشک‌ها هر روز بررسی شده و در صورت رشد پوشش قارچی در سطح حشرات به عنوان آلوده‌شده توسط قارچ محسوب شدند. جدایه مؤثر از طریق مقایسه درصد کشندگی در بیشترین غلظت مورد استفاده، مقادیر  $LC_{50}$  و  $LT_{50}$  و حدود اطمینان آنها بین دو جدایه مشخص گردید.

**بررسی اثر غلظت  $LC_{30}$  قارچ *M. anisopliae* روی فراسنجه‌های جدول زندگی باروری شته مومی کلم**  
برای برآورد اثرات زیرکشندگی قارچ *M. anisopliae* روی فراسنجه‌های زیستی شته مومی کلم از غلظت  $LC_{30}$  جدایه DEMI001 ( $2/1 \times 10^4$  کنیدی بر میلی‌لیتر) به عنوان جدایه مؤثر استفاده شد. در این آزمایش تعداد ۲۰ عدد حشره تازه بالغ شده شته مومی کلم به روش غوطه‌وری در سوسپانسیون تیمار شدند. در شاهد از آب مقطر سترون حاوی ۰/۰۵ درصد توئین-۸۰ استفاده شد. پس از خشک شدن بدن حشرات تیمار شده، هر حشره به‌طور جداگانه به‌وسیله قلم‌مو بر روی برگ‌های کلم درون ظروف مجزا قرار گرفت. مرگ احتمالی حشرات کامل تیمار شده به‌طور روزانه ثبت شد و پوره‌های متولد شده شمارش و حذف گردیدند. این شمارش تا زمان مرگ آخرین حشره کامل ادامه داشت. آزمایش سه بار تکرار شد و ۶۰ حشره در تیمار و شاهد بررسی شدند. طول دوره پوره‌زایی، تولیدمثل روزانه، تعداد کل پوره‌ها به ازای هر فرد ماده و فراسنجه‌های نرخ خالص تولیدمثل ( $R_0$ )، نرخ ذاتی افزایش جمعیت ( $r_m$ )، نرخ منتهای افزایش جمعیت ( $\lambda$ ) و مدت زمان یک نسل ( $T$ ) محاسبه شدند.

### تجزیه و تحلیل داده‌ها

زیست‌سنجی شته‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. تجزیه پروبیت داده‌های تلفات با استفاده از نرم‌افزار IBM SPSS Statistics 20 انجام شد. برای محاسبه  $LC_{50}$  از گزینه پروبیت در نرم‌افزار استفاده گردید. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی استفاده شد. برای محاسبه فراسنجه‌های جدول زندگی باروری از روش Carey (1993) استفاده گردید. محاسبه حدود اطمینان فراسنجه‌های رشد نیز بر اساس روش جک‌نایف

sp. بیشترین میزان بیماری‌گری را روی شته سبز هلو و شته پنبه ایجاد کرده است. میزان  $LT_{50}$  این جدایه با افزایش غلظت کنیدی کاهش یافت و میزان  $LC_{50}$  آن نیز  $۶/۵ \times 10^5$  کنیدی بر میلی‌لیتر برآورد شد (Vu et al. 2007) که تأثیر مطلوب آن با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت داشت. نتایج حاصل از بررسی بیماری‌گری دو قارچ *B. bassiana* و *Lecanicillium sp.* روی ۶ گونه شته غلات نشان‌دهنده اختلاف در حساسیت گونه‌های شته غلات به دو قارچ می‌باشد. مقدار  $LC_{50}$  قارچ *Lecanicillium sp.* روی شته روسی گندم  $۴/۱ \times 10^5$  کنیدی بر میلی‌لیتر گزارش شد (Feng et al. 1990). با توجه به نقش مؤثر زمان در بحث بیماری‌گری قارچ‌های بیمارگر، هرچه مقدار  $LT_{50}$  کمتر باشد، آن جدایه از نظر اقتصادی و مبارزه بیولوژیک اهمیت بیشتری دارد. در این مطالعه، جدایه DEMI001 با  $LC_{50}$  ( $۱/۵ \times 10^5$ ) کنیدی بر میلی‌لیتر و  $LT_{50}$  ( $۶/۶۷$ ) روز در غلظت  $10^7$  کنیدی بر میلی‌لیتر (جدول ۲) در شرایط آزمایشگاهی اثر بهتری نشان داد. بنابراین می‌توان پس از انجام بررسی‌های تکمیلی از این قارچ در برنامه‌های کنترل بیولوژیک شته مومی کلم استفاده کرد.

شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که پایین‌ترین غلظت کشنده برای مرگ نیمی از جمعیت،  $۱/۷ \times 10^4$  کنیدی بر میلی‌لیتر و مربوط به جدایه DEMI001 و بالاترین آن  $۲/۵ \times 10^6$  کنیدی بر میلی‌لیتر و مربوط به جدایه DEIM002 بود. کمترین زمان لازم برای مرگ ۵۰ درصد جمعیت مربوط به جدایه DEMI001 در غلظت  $10^5$  کنیدی بر میلی‌لیتر،  $۱/۷۵ \pm 0/۶۴$  روز بود (Mohammadipour et al. 2010). همچنین میزان مرگ پوره‌های سن دوم شته نخود فرنگی (*Acyrtosiphon pisum* Harris) به فراورده تجاری ورتالک قارچ *V. lecanii* در شاهد و غلظت‌های  $10^4$ ،  $10^5$ ،  $10^6$ ،  $10^7$  و  $10^8$  کنیدی در هر میلی‌لیتر به ترتیب  $۶/۶۷$ ،  $۴۵/۷$ ،  $۵۷/۸$ ،  $۶۸/۲$ ،  $۸۰$  و  $۹۵/۵$  درصد بوده و در بین غلظت‌های مورد استفاده اختلاف معنی‌دار وجود داشت که با افزایش غلظت قارچ، درصد مرگ شته نخود فرنگی افزایش پیدا کرده است (Safavi et al. 2002). در تحقیقی دیگر تأثیر ۱۲ جدایه از قارچ‌های بیمارگر *M. anisopliae*، *Beauveria bassiana* و *Lecanicillium sp.* روی شته‌های مختلف بررسی شد. نتایج نشان داد که جدایه 4111 قارچ *Lecanicillium*

جدول ۱. تجزیه پروبیت برای برآورد فراسنجه‌های خط رگرسیون تلفات حشرات کامل شته مومی کلم پس از تیمار با جدایه‌های قارچ *Metarhizium anisopliae*

Table 1. Probit analysis for estimation of regression line parameters for mortality of adult cabbage aphids after treatment with *Metarhizium anisopliae* isolates

| Isolate | $LC_{50}$ (conidia/ml) | Confidence intervals                | $\chi^2$ | Slope $\pm$ SE    | Intercept $\pm$ SE |
|---------|------------------------|-------------------------------------|----------|-------------------|--------------------|
| DEMI001 | $1.5 \times 10^5$      | $9.8 \times 10^4 - 2.5 \times 10^5$ | 1.419    | $0.606 \pm 0.05$  | $-3.149 \pm 0.263$ |
| V245    | $2.3 \times 10^6$      | $1.1 \times 10^6 - 5.8 \times 10^6$ | 2.073    | $0.461 \pm 0.049$ | $-2.937 \pm 0.275$ |

جدول ۲. مقادیر  $LT_{50}$  (بر حسب روز) جدایه‌های قارچ *Metarhizium anisopliae* علیه حشرات کامل شته مومی کلم

Table 2.  $LT_{50}$  values (days) of the fungus, *Metarhizium anisopliae* against adult cabbage aphid

| Concentration (conidia/ml) | DEMI001 (confidence intervals) | V245 (confidence intervals) |
|----------------------------|--------------------------------|-----------------------------|
| $10^3$                     | 11.41<br>(11.02 – 11.85)       | 13.03<br>(12.45 – 13.72)    |
| $10^4$                     | 10.23<br>(9.88 – 10.61)        | 12.15<br>(11.47 – 13.01)    |
| $10^5$                     | 8.42<br>(8.00 – 8.84)          | 11.34<br>(10.59 – 12.29)    |
| $10^6$                     | 7.58<br>(7.12 – 8.04)          | 9.38<br>(8.81 – 10.00)      |
| $10^7$                     | 6.67<br>(6.23 – 7.11)          | 8.51<br>(7.95 – 9.09)       |

نیز در شناخت مکانیسم اثر و نحوه همه‌گیری بیماری در جمعیت حشره میزبان حائز اهمیت است (Latifian et al. 2010). از طرف دیگر، درصد قابل توجهی از جمعیت

در برنامه‌های کنترل میکروبی آفات تنها اثرات مستقیم کشنده بیمارگر نیست که موفقیت را کنترل می‌کند بلکه اثرات زیرکشنده آلودگی ناشی از بیمارگر

مقادیر مربوط به فراسنجه‌های رشد جمعیت شته مومی کلم تیمار شده با غلظت LC<sub>30</sub> جدایه DEMI001 در جدول ۴ درج شده است. نرخ خالص افزایش جمعیت ( $R_0$ ) و نرخ ذاتی افزایش جمعیت ( $r_m$ ) برای شته‌های تیمار شده با غلظت LC<sub>30</sub> جدایه مذکور به ترتیب ۲۶/۹۸ و ۰/۲۸ برآورد شد که اختلاف آماری معنی‌داری با شاهد نشان داد (جدول ۴).

در تیمارهای طبیعی تنها بخشی از غلظت مورد نظر را دریافت می‌کنند. بنابراین بررسی فراسنجه‌های زیستی افرادی که غلظت‌های پایینی از بیمارگر را دریافت کرده‌اند می‌تواند مفید باشد. طول دوره پوره‌زایی، متوسط تولیدمثل روزانه و تعداد کل پوره‌های تولیدشده توسط هر شته ماده بالغ نیز در شته‌های تیمار شده کاهش یافت (جدول ۳).

جدول ۳. میانگین (± خطای معیار) فراسنجه‌های زیستی شته مومی کلم در اثر تیمار با غلظت LC<sub>30</sub> جدایه DEMI001 قارچ *Metarhizium anisopliae*

Table 3. Mean (± SE) of biological parameters of cabbage aphid when treated with LC<sub>30</sub> concentration of the DEMI001 isolate of *Metarhizium anisopliae*

| Isolate | Total no. nymphs/adult (fertility) | Daily fertility (/adult/day) | Reproduction period (day) |
|---------|------------------------------------|------------------------------|---------------------------|
| DEMI001 | 38.60 ± 0.91 <sup>a*</sup>         | 55.78 ± 6.06 <sup>a</sup>    | 13.35 ± 0.22 <sup>a</sup> |
| control | 75.55 ± 1.73 <sup>b</sup>          | 75.00 ± 4.69 <sup>b</sup>    | 20.70 ± 0.34 <sup>b</sup> |

\* حروف غیر مشابه در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ است (آزمون توکی).  
\* Different letters within columns show statistically significant variations ( $\alpha = 0.05$ , Tuckey test).

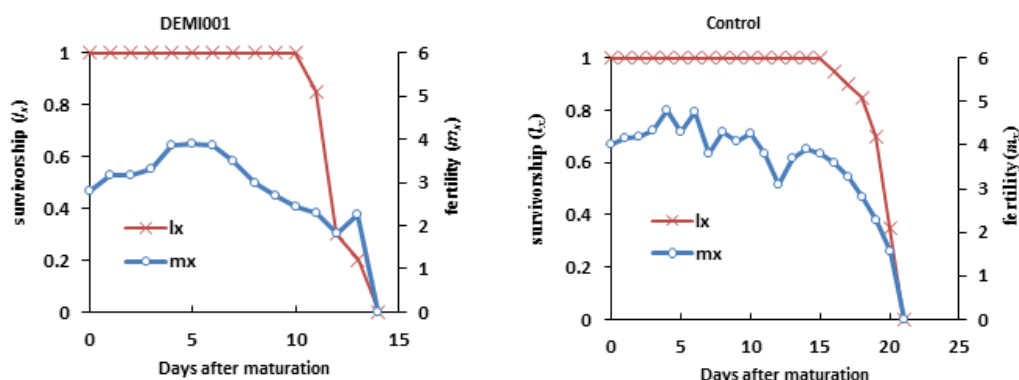
جدول ۴. میانگین و حدود اطمینان فراسنجه‌های رشد جمعیت شته مومی کلم در اثر تیمار با غلظت LC<sub>30</sub> جدایه DEMI001 قارچ *Metarhizium anisopliae*

Table 4. Mean and confidence intervals of population growth parameters of cabbage aphid after treatment with LC<sub>30</sub> concentration of DEMI001 isolate of the fungus, *Metarhizium anisopliae*

| Isolate | Net reproduction rate ( $R_0$ ) (female/female/generation) | Intrinsic rate of increase ( $r_m$ ) (female/female/day) | Finite rate of increase ( $\lambda$ ) (female/day) | Generation time (T) (days) |
|---------|--|--|--|----------------------------|
| DEMI001 | 26.98<br>(25.63 – 28.33)*                                  | 0.28<br>(0.28 – 0.28)                                    | 1.32<br>(1.32-1.33)                                | 11.58<br>(11.37 – 11.80)   |
| control | 64.21<br>(61.13 – 67.30)                                   | 0.33<br>(0.32 – 0.33)                                    | 1.39<br>(1.38-1.39)                                | 12.60<br>(12.39 – 12.81)   |

\* Data within parentheses show confidence intervals of each parameter.

\* اعداد داخل پرانتز حدود اطمینان هر فراسنجه را نشان می‌دهند.



شکل ۱. نرخ بقا ( $l_x$ ) و باروری ( $m_x$ ) ویژه سنی شته مومی کلم شاهد و تیمار شده با غلظت LC<sub>30</sub> جدایه DEMI001 قارچ *Metarhizium anisopliae*

Figure 1. Age-specific survival ( $l_x$ ) and fertility ( $m_x$ ) of cabbage aphid in control and treated with LC<sub>30</sub> concentration of the fungus, *Metarhizium anisopliae* (DEMI001 isolate)

به صورت مشابه گزارش شده است که قارچ *B. bassiana* مقادیر  $R_0$  را به صورت معنی‌داری در سفیدبالک پنبه کاهش داده است (Torrado-Leon et al. 2006). در مورد مدت زمان یک نسل ( $T$ ) و نرخ متناهی افزایش جمعیت ( $\lambda$ ) نیز تفاوت معنی‌داری بین شاهد با شته‌های تیمار شده مشاهده شد. بقای ویژه

در تیمارهای طبیعی تنها بخشی از غلظت مورد نظر را دریافت می‌کنند. بنابراین بررسی فراسنجه‌های زیستی افرادی که غلظت‌های پایینی از بیمارگر را دریافت کرده‌اند می‌تواند مفید باشد. طول دوره پوره‌زایی، متوسط تولیدمثل روزانه و تعداد کل پوره‌های تولیدشده توسط هر شته ماده بالغ نیز در شته‌های تیمار شده کاهش یافت (جدول ۳).

سیتولوژیکی و هیستولوژیکی خاصی در ساختمان لوله‌های تخم سوسک کلرادو ایجاد نماید که در نتیجه آن کاهش چشم‌گیری در قدرت باروری و تخم‌گذاری آفت بروز می‌کند (Fargues et al. 1991). تحقیقات انجام‌شده روی سایر بندپایان نظیر کنه *Ixodes scapularis* Say آلوده به غلظت‌های زیرکشنده قارچ *M. anisopliae* نشان داد که این آلودگی‌های زیرکشنده در موفقیت کنترل میکروبی و کاهش سطح تراکم جمعیت آفت در نسل‌های بعدی مؤثر است (Stark and Banks 2003).

به‌طور کلی، بررسی آزمایشگاهی بقا و تولیدمثل حشرات کامل *B. brassicae* با جدایه DEMI001 قارچ *M. anisopliae* بیانگر حساسیت این آفت به قارچ مزبور می‌باشد و اعتقاد بر این است که این جدایه‌ها را می‌توان برای کنترل شته مومی کلم استفاده نمود. هرچند که پایین بودن رطوبت نسبی در مزارع و شرایط محیطی ممکن است کاربرد آن را در مزرعه محدود نموده و باعث کاهش زهراگینی قارچ شود. لذا مطالعات بیشتر جهت بررسی استفاده از فرمولاسیون‌های مختلف و مواد همراه به منظور تامین رطوبت و افزایش شدت بیماری‌گری قارچ ضروری به نظر می‌رسد. بدیهی است انجام زیست‌سنجی در شرایط مزرعه‌ای برای تعیین غلظت‌های مناسب ضروری است.

### سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه ارومیه در قالب پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد انجام شده است که بدینوسیله تشکر و قدردانی می‌گردد.

### REFERENCES

- Ahmad M, Aslam M (2005) Resistance of cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus) to endosulfan, organophosphates and synthetic pyrethroids. Pakistan Journal of Zoology 37(4): 293-295.
- Ansari A, Gheibi M, Hesami Sh (2014) Effects of Azadirachtin on reproductive parameters of aphid rose, *Macrosiphum rosae* (Hemiptera: Aphididae) in the laboratory conditions. Plant Protection Journal 6(3): 225-240. (In Persian)
- Asi MR, Bashir MH, Afzal M, Imran S (2009) Effect of conidial concentration of entomopathogenic fungi on mortality of cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* L. Pakistan Journal of Life and Social Sciences 2: 175-180.
- Aslam M, Ahmad M (2002) Effectiveness of some insecticides against cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus) (Homoptera: Aphididae). Journal of Research Science 13(2): 145-150.
- Brattsten LB, Holyoke CW, Leeper JR, Raffa KF (1986) Insecticide resistance: Challenge to pest management and basic research. Science 231: 1255-1260.
- Carvalho SM, Ferreira DT (1990) Santa-Barbara contra vaquinha. Ciencia Hoja 11: 65-67.
- Chi H (1990) Timing of control based on the stage structure of pest populations: stimulation approach. Journal of Economic Entomology 83: 1143-1150.

سنی ( $I_x$ ) و باروری ویژه سنی ( $m_x$ ) شته مومی کلم تیمار شده با غلظت LC<sub>30</sub> جدایه DEMI001 همراه با افزایش سن کاهش یافت (شکل ۱).

مطالعات انجام شده در رابطه با سایر قارچ‌های بیمارگر حشرات نیز نتایج مشابهی را نشان داد. تأثیر قارچ *L. attenuatum* را در تولید مثل شته جالیز بررسی شده است (Kim 2007). نتایج نشان داد که نرخ خالص تولیدمثل از ۵۹ پوره در شاهد به ۲۱/۷، ۳۳/۴ و ۴۹/۳ پوره در غلظت‌های  $10^4$ ،  $10^6$  و  $10^8$  کاهش یافت که نشان‌دهنده کاهش باروری کل شته‌های آلوده نسبت به شاهد است. مطالعات انجام شده روی شته روسی گندم نشان داد که آلودگی به غلظت‌های زیرکشنده قارچ *B. bassiana* توانایی پوره‌زایی شته‌های بکرزا را کاهش می‌دهد (Wang and Knudsen 1993). همچنین بررسی‌های انجام شده در ارتباط با قارچ *Aspergillus parasiticus* نشان داد که این قارچ قادر است تخم‌گذاری و بقای تخم‌های مگس‌های خانواده Muscidae را کاهش دهد (Nnakumusana 1985). علاوه بر این تیمار حشرات کامل سوسک‌های *Diabrotica virgifera* روی ذرت با غلظت‌های زیرکشنده قارچ *B. bassiana* نشان داده که این قارچ می‌تواند نرخ باروری و توانایی تخم‌گذاری آفت را بین ۴۴ تا ۶۸ درصد کاهش دهد (Mullock and Chand 2001). مطالعات انجام شده در ارتباط با اثرات غلظت‌های زیرکشنده قارچ‌های بیمارگر بر توانایی تولیدمثل حشرات میزبان نشان بسیار اندک بوده است. تحقیقات دیگران نشان داده است که قارچ *B. bassiana* می‌تواند آسیب‌های مکانیکی،

- Ellis PR, Farrell JA** (1995) Resistance to cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae* L.) in six *Brassica* accessions in New Zeland. *Journal of Crop and Horticultural Science* 23: 25-29.
- Fargues J, Delmas JC, Auge J, Lebrun RA** (1991) Fecundity and egg fertility in the adult Colorado beetle (*Leptinotarsa decemlineata*) surviving larval infection by the fungus *Beauveria bassiana*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 61: 45-51.
- Feng M, Johnson JB, 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.
- Herlinda S** (2010) Spore density and viability of entomopathogenic fungal isolates from Indonesia, and their virulence against *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae). *Tropical Life Science Research* 21(1): 11-19.
- Isik M, Gorur G** (2009) Aphidicidal activity of seven essential oils against the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* L. (Homoptera: Aphididae). *Munis Entomology and Zoology* 4(2): 424-431.
- Khanjani M** (2009) Vegetable Pests in Iran. Bu-Ali Sina University Press Center, Hamedan. (In Persian)
- Kim JJ** (2007) Influence of *Lecanicillium attenuatum* on the development and reproduction of the cotton aphid, *Aphis gossypii*. *BioControl* 52(6): 789-799.
- Kivan M** (2006) Entomopathogenic Fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* var *anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against *Eurygaster integriceps* (Heteroptera: Scutelleridae). *Entomologia Generalis* 30(1): 63-69.
- Latifian M, Soleymannejadian E, Ghazavi M, Mosadegh MS, Hayati J** (2010) Effects of sublethal concentrations of fungus *Beauveria bassiana* on the reproductive potentials of saw-toothed beetle *Oryzaephilus surinamensis* on commercial date cultivars. *Plant Protection Journal* 2(4): 297-310. (In Persian)
- Loureiro ED, Moino A** (2006) Pathogenicity of hyphomycet fungi to aphids *Aphis gossypii* (Glover) and *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae). *Neotropical Entomology* 35: 660-665.
- Mohammadipour A, Ghazavi M, Baghdadi A, Sheikhi Garjan A** (2010) An investigation of the efficacy of two Iranian isolates of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikof.) Sorokin against Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Homoptera: Aphididae) under laboratory conditions. *Iranian Journal of Plant Protection Science* 41(2): 353-359. (In Persian)
- Mulock S, Chand LD** (2001) Effect of *Beauveria bassiana* on the fecundity of western corn Rootworm *Diabrotica vigrifera*. *Biological Control* 22:16-21.
- Nnakumusana ES** (1985) Laboratory infection of mosquito larvae by entomopathogenic fungi with particular reference to *Aspergillus parasiticus* and its effect on fecundity and longevity of mosquitoes exposed to conidial infections in larval stages. *Current Science* 54: 1221-1228.
- Safavi SA, Rassulian GR, Askary H, Kharrazi Pakdel A** (2002) Pathogenicity and virulence of entomogenous fungus, *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas on the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Harris). *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources* 6(1): 245-254. (In Persian)
- Sakai AK, Allendorf FW, Lodge DM, Molofsky KA, Baughman S, Cabin RJ, Cohen JE, Ellstrand NC** (2001) The population biology of invasive species. *Annual Review of Ecological System* 32: 305-332.
- Shan LT, Feng MG** (2006) Comparative susceptibility of *Myzus persicae* to 16 strains of *Metarhizium* spp. From different host insects and geographic regions (in chinese). *Acta Microbiologica Sinica* 46: 602-607.
- Shan LT, Feng MG** (2010) Evaluation of the biocontrol potential of various *Metarhizium* isolates against green peach aphid *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). *Pest Management Science* 66: 669-675.
- Stark JD, Banks JE** (2003) Population-level effects of pesticides and other toxicants on arthropods. *Annual Review of Entomology* 48: 505-519.
- St. Leger RJ, Goettel MS, Roberts DW, Staples RC** (1991) Prepenetration events during infection of host cuticle by *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology* 58: 168-179.
- Torrado-Leon E, Montoya-Lerma J, Valencia-Pizo E** (2006) Sublethal effects of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on the whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae) under laboratory conditions. *Mycopathologia* 162: 411-419.
- Vu VH, Hong SI, Kim K** (2007) Selection of entomopathogenic fungi for aphid control. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 104(6): 498-505.
- Wang ZG, Knudsen GR** (1993) Effect of *Beauveria bassiana* (Fungi: Hyphomycetes) on fecundity of the Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae). *Environmental Entomology* 22: 874-878.