

آفات و بیماری‌های گیاهی
جلد ۶۹، شماره ۲، اسفند ۱۳۸۰

بررسی تاثیر جدایه‌های ایرانی (*Beauveria bassiana* (Balsamo)

Locusta migratoria (Orthoptera: Acrididae) روی *Vuillemin*

Efficacy of Iranian Isolates of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin against
Locusta migratoria (Orthoptera: Acrididae)

مهران غزوی^۱، عزیز خرازی پاکدل^۲، جعفر ارشاد^۱ و ابراهیم باقری زنوز^۲
مؤسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، کرج
(تاریخ دریافت: دی‌ماه ۱۳۸۰، تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۸۰)

چکیده

در این بررسی سه جدایه قارچ *Beauveria bassiana* از خاک مناطق فشنند و آتسگاه و سفیره سوسک سرخرطومی حنایی خرما *Rhynchophorus ferrugineus* جدا شد که در آزمایشات مقدماتی برای ملخ *Locusta migratoria* و چند گونه دیگر از ملخ‌های شاخک کوتاه و شاخک بلند بیمارگر بودند.

پس از تعیین دزهای حداقسل و حداکثر، این سه جدایه با دزهای 10^3 ؛ 10^4 ؛ $3/2 \times 10^4$ ؛ 10^5 و 10^6 هاگ برای هر حشره روی حشرات نر و ماده ملخ *L. migratoria* مورد آزمایش قرار گرفت و دز کشنده ۵۰٪ و ۹۹٪ با تفکیک و بدون تفکیک جنس محاسبه گردید. از نفت بی‌بو به عنوان ماده حامل هاگ استفاده شد. پائین‌ترین دز کشنده ۵۰٪، $10^3 \times 1/32$ هاگ بر حشره و مربوط به جدایه فشنند در حشرات نر و بالاترین آن $10^4 \times 3/59$ هاگ بر حشره و مربوط به جدایه آتسگاه روی حشرات ماده بود. کمترین زمان مرگ و میر محاسبه شده مربوط به جدایه فشنند در دز 10^5 هاگ بر حشره، ۳/۴۷ روز بود.

نتایج نشان داد کاربرد روغن معدنی (نفت بی بو) به عنوان ماده حامل از جوانه زدن هاگ و بیمار گری جلوگیری ننموده و اثر بازدارنده رطوبت نسبی پائین در جلوگیری از جوانه زدن اسپورها را نیز خنثی می نماید.

واژه‌های کلیدی : *Locusta migratoria*, *Beauveria bassiana*، ایزوله ایرانی، دز کشنده، کنترل بیولوژیک

مقدمه

یکی از روش‌های امید بخشی که در چند دهه اخیر برای کنترل ملخ‌های شاخک کوتاه و شاخک بلند مورد مطالعه قرار گرفته است کنترل میکروبی آن‌ها یا به عبارتی استفاده از عوامل بیماری‌زای حشرات است. با توجه به اثرات ناخواسته و منفی کنترل شیمیایی که سالانه سطوح وسیعی از عرصه‌های غیر زراعی و زراعی را تحت تاثیر خود قرار می دهد جایگزینی عوامل کنترل بیولوژیک یا استفاده همزمان از این عوامل به همراه دزهای پائین تر حشره‌کش‌های شیمیایی دور نمای امید بخشی را در کنترل این گروه از آفات ترسیم می نماید. در میان عوامل بیماری‌زای ملخ‌ها گروه‌های مختلفی مورد مطالعه قرار گرفته است که از با اهمیت ترین آن‌ها می توان پرو تیست‌ها (میکروسپورییدی‌ها و آمیب‌ها) و قارچ‌ها را نام برد، گرچه همه گیری‌هایی از ویروس‌ها (entomopoxviruses) و باکتری‌ها (*Serratia marcescens*) نیز در جمعیت‌های این حشرات مشاهده شده است (Lockwood and Ewen, 1997). *Nosema locustae* Canning (Microspora: Nosematidae) قادر است تا ۷۵٪ جمعیت میزبان خود (گونه‌های مختلف ملخ‌های Acridoidea) را آلوده ساخته و با جلوگیری از تغذیه میزبان تا حد زیادی از خسارت آن بکاهد (Henry, 1972). *Malamoeba locustae* King & Taylor. (1972) مهمترین آمیب بیماری‌زای ملخ‌ها می‌باشد و طیف میزبانی نسبتاً وسیعی دارد (Ernst and Baker, 1982). بیماری حاصل از این آمیب مزمن بوده که تدریجاً جمعیت میزبان را کاهش می دهد (Kleespies . et al., 2000).

تاکنون بیش از ۷۰۰ گونه قارچ بیماری‌زای حشرات شناخته شده است که فقط تعدادی از آن‌ها ملخ‌ها را بیمار می‌سازند (Goettel, 1992). از معروفترین این گونه‌ها می‌توان

بر نام *Entomophaga grylli* و *Sorospora sp.*; *Beauveria bassiana*; *Metarhizium anisopliae*

از قارچ‌هایی که در کنترل ملخ‌ها توان بالایی دارند قارچ عامل بیماری موسکاردین سبزی یا *Metarhizium anisopliae* است. فرمولاسیون تجارتي این قارچ تحت برنامه LUBILOSA و با نام Green Muscle® تولید و با موفقیت در نیجریه بر علیه ملخ صحرايي *Schistocerca gregaria* اخیراً در سطح ۲۰۰۰ هکتار به کار گرفته شده است (Anonymous, 2000).

بیش از ۱۵۰ سال پیش مشخص گردید که *Beauveria bassiana* باعث بیماری مرگ‌آوری در حشرات می‌گردد (Steinhaus, 1963). *B. bassiana* در تمامی فاره‌ها به جز قطب شمال یافت می‌شود و صدها جدایه آن در مجموعه قارچ‌های بیماری‌زای حشرات متعلق به وزارت کشاورزی آمریکا نگهداری می‌شود که پنج جدایه از ملخ‌ها جدا شده است (Humber, 1992).

این قارچ تاکنون از ملخ‌ها در در آمریکای شمالی (Goettel, 1992; Moore and Jaronski, 1994; Shah et al. 1997); پاکستان؛ آفریقا (Schaefer 1936; Jaronski et al. 1994; Shah et al. 1997); آرلندسون (1988); برزیل و استرالیا (Goettel 1992) جدا شده است.

در سال ۱۹۸۷ شرکت Mycotech در Butte مونتانا به یک جدایه از قارچ *B. bassiana* برخورد نمود که در بررسی‌های آزمایشگاهی روی گونه‌های متعددی از ملخ‌ها ایجاد بیماری می‌کرد و از سال ۱۹۹۱ تلاش برای تهیه فرمولاسیون مناسب جهت پاشیدن این قارچ در محیط مزرعه آغاز گردید (Foster, et al. 1992). نتایجی که ظرف چند سال اخیر با استفاده از یک فرمولاسیون آنگون از جدایه مذکور به دست آمده نشان داده است که این قارچ دارای توان بالایی برای کنترل چندین گونه از ملخ‌ها است و می‌توان آن را با وسایل رایج سمپاشی هوایی به سهولت مورد استفاده قرار داد. حشره کش قارچی که از این راه حاصل شد در سال ۱۹۹۵ تحت نام Mycocide GH® برای کنترل ملخ‌های شاخک کوتاه انفرادی و گله‌ای و ملخ شاخک بلند مورمون (*Anabrus simplex*) در ایالات متحده آمریکا به ثبت رسید (Jaronski and Goettel, 1997).

با توجه به وجود فون غنی ملخ‌های شاخک بلند و شاخک کوتاه در ایران و شرایط محیطی مناسبی که در کشور ما برای افزایش جمعیت و طغیان این حشرات فراهم می‌باشد دستیابی به روش‌های کنترل کم‌خطر برای محیط زیست از الویت خاصی برخوردار است لذا بر این اساس تحقیق حاضر جهت بررسی و جداسازی قارچ‌های بیماری‌گر این حشرات در راستای تعیین توان جدایه‌های به دست آمده شکل گرفت..

روش بررسی

الف - جداسازی و کشت جدایه‌ها

برای جداسازی قارچ‌ها از روش طعمه‌گذاری (baiting) در خاک (Zimmerman, 1986) با تغییرات استفاده شد. بدین ترتیب که خاک‌های جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ابتدا الک شد و پس از قرار گرفتن درون لیوان‌های یک بار مصرف مرطوب گردید سپس به هر لیوان ۵ تا ۱۰ عدد لارو سن ۴ و ۵ *Galleria melonella* اضافه و در لیوان بسته شد. لیوان‌ها هر روز برگردانده می‌شدند تا تماس لاروها با ذرات خاک نقاط مختلف لیوان تضمین گردد. لیوان‌ها هر روز تا مدت ۲۰ روز و به صورت روزانه بازدید شدند و لاروهای مرده که در سطح بدن دارای پوشش قارچی بودند از لیوان خارج شده و بار قارچی سطح بدن آن‌ها کشت گردید.

برای کشت جدایه‌ها و استحصال اسپور برای آلوده سازی ملخ‌ها از محیط (Poinar and Thomas, 1978) SDA+Y (Sabouraud Dextrose Agar + Yeast Extract) و برای نگاهداری جدایه‌ها به مدت طولانی از محیط PCA (Potato Carrot Agar) در دمای ۱۰°C استفاده شد (Jenkins *et al.*, 1998). پس از ۱۵ روز، کنیدی‌ها توسط قاشقک از سطح محیط کشت خراشیده شد و با محلول ۰/۰۵ درصد Tween 80 به صورت سوسپانسیون در آمد و برای آلوده سازی ملخ‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

ب - آزمون بیماری‌گری

برای انجام آزمون بیماری‌گری از ملخ‌های نر و ماده کامل *Locusta migratoria* ; استفاده گردید برای آلوده‌سازی ملخ‌ها، آن‌ها به مدت ۱۰ ثانیه درون سوسپانسیون هاگ فرو برده شده و پس از خروج در انکوباتوری با درجه حرارت $28 \pm 1^{\circ}C$ و رطوبت ۸۰٪ برای دو روز اول و ۴۰٪ برای روزهای بعد و دوره روشنایی (12 L: 12 D) قرار گرفت. در بازدید روزانه، ملخ‌های مرده جمع آوری و پس از ضدعفونی سطحی بدن آن‌ها با محلول هیپوکلریست سدیم ۲/۵٪ درون اتاقک مرطوب قرار داده شد تا بار قارچ در سطح بدن آن‌ها ظاهر گردد. این بار قارچی مجدداً کشت داده شده و ملخ‌ها مجدداً به آن آلوده شدند تا پس از مرگ و ظهور مجدد اسپورها در سطح بدن حشره اصول کخ برای اثبات بیماری‌گری کامل گردد.

ج - زیست‌سنجی

برای محاسبه دز کشنده جدایه‌های مختلف از نفت بی بو به عنوان ماده حامل استفاده شد به این ترتیب که ابتدا هاگ‌های جدایه‌های مورد آزمایش پس از خراشیده شدن از سطح محیط کشت درون نفت بی بو به حالت معلق در آمد سپس سوسپانسیون حاصله از پارچه ململ دو لایه عبور داده شد تا قطعات میسلیموم از آن جدا گردند. برای جدا شدن هاگ‌ها از هم و عدم تشکیل زنجیر در هنگام شمارش آن‌ها؛ سوسپانسیون درون لوله حاوی مهره‌های شیشه‌ای ریخته و برای چند دقیقه به شدت تکان داده شد. جهت شمارش اسپورها و تهیه تراکم‌های مختلف اسپور در واحد حجم از لام گلوبول شمار (Improved Neubauer) استفاده شد. جهت اندازه‌گیری میزان زنده مانده هاگ‌ها روز قبل از انجام آزمایش مقدار اندکی از اسپورهای مورد آزمایش به صورت استریل درون محلول Tween 80 ۰/۰۵٪ به حالت تعلیق در آمده و روی محیط SDA-Y کشت شد و روز بعد فقط از کشتی استفاده گردید که بیش از ۸۵٪ هاگ‌های آن جوانه زده بود (Jenkins et al. 1998).

پس از انجام آزمایشات مقدماتی و تعیین دزهای حد اقل (10^3) و حداکثر (10^6)؛ ۵ دز لگاریتمی شامل دزهای 10^2 ؛ $3/2 \times 10^3$ ؛ 10^4 ؛ $3/2 \times 10^4$ و 10^5 هاگ در میکرولیتر تهیه و آزمون‌های حیاتی با آنها انجام شد.

زیست‌سنجی‌ها با استفاده از حشرات کامل نر و ماده *L. migratoria* که از پوره‌های پرورش یافته در اطاق حرارت ثابت (درجه حرارت: 20°C به مدت ۱۲ ساعت (دوره روشنایی) و 25°C به مدت ۱۲ ساعت (دوره تاریکی))، دوره نوری: (12 L: 12 D)، رطوبت: $40 \pm 5\%$ حاصل شده بودند انجام شد. آزمایشات در ۵ تیمار (دزهای مختلف) و ۳ تکرار به همراه تیمار شاهد انجام گرفت. تیمار شاهد شامل نفت بسی سو بدون اضافه نمودن هاگ قارچ بود. برای هر تکرار ۱۰ حشره نر و ۱۰ حشره ماده منظور گردید. برای آلوده ساختن حشرات یک میکرولیتر از دز مورد نظر توسط میکرواپلیکاتور زیر پشش‌گرده ملخ‌ها قرار داده شد سپس حشرات هر تکرار به تفکیک نر و ماده درون قفس‌های $4/5$ لیتری پلی‌استیرنی قرار گرفتند (کف قفس‌ها برای جلوگیری از تماس حشرات با فضولات خود و پائین آوردن احتمال آلودگی به بیماری‌های باکتریایی با توری سیمی مسدود شد) و سپس درون انکوباتوری با شرایطی مشابه با شرایط اتاق حرارت ثابت قرار داده شدند. برای تغذیه ملخ‌ها در این مرحله از برگ کاهو استفاده گردید. مرگ و میر حشرات هر روز به مدت ۲۰ روز ثبت و جدول مرگ و میر تجمعی آنها تهیه شد.

دسه محاسبات آماری

برای تعیین دزهای کشنده از نرم افزار Probit (1998-2000) استفاده شد و برای رسم خط رگرسیون؛ داده‌هایی که توسط نرم افزار اخیر پردازش شده بود به نرم افزار Excel منتقل و منحنی‌های خطی و سیگموئید مربوطه رسم گردید. L_{T50} ایزوله‌های مختلف با کمک نرم افزار Curve Expert 1.3 محاسبه شد.

نتیجه و بحث

در بررسی‌های انجام شده جمعا ۵ جدایه از قارچ *B. bassiana* جمع‌آوری شد (دو جدایه با روش طعمه‌گذاری در خاک و ۳ جدایه از روی حشرات مختلف). از این پنج

جدایه سه جدایه فشند ؛ آتشگاه و سراوان که دو تای اولی از خاک جدا شده بودند و سومی از شفیره سوسک سرخرطومی حنایی خرما (*Rhynchophorus ferrugineus*) قادر به بیمار کردن ملخ *L. migratoria* و چندگونه ملخ دیگر بودند (شکل ۱).

پس از آلوده ساختن حشرات کامل ملخ *L. migratoria* به دزهای مورد نظر سه جدایه مورد آزمایش و سپری شدن زمان ۲۰ روز با استفاده از آمار مرگ و میر تجمعی ترکیبی از تابع پراکنش و مدل‌های رگرسیونی انتخاب گردید که کمترین AIC^* و به عبارتی بیشترین برازش را داشته باشد. سپس دز کشته ۵۰ و ۹۹ درصد به تفکیک برای حشرات نر و ماده محاسبه شد که در (جدول ۱) منعکس می باشد



شکل ۱- ملخ‌های آلوده شده به قارچ *Beauveria bassiana* پس از مرگ و ظهور پوشش قارچی در سطح بدن آن‌ها (سمت راست *Polysarcus elbursianus* و سمت چپ *Locusta migratoria*)

Fig. 1. Grasshoppers infected with *Beauveria bassiana* covered with fungal growth. *Locusta migratoria* (left) and *Polysarcus elbursianus* (right).

ای.آی.سی یا معیار اطلاعاتی Akaike معیاری است که با فرمول $AIC = -2 \ln L + 2M$ محاسبه می‌شود و هرچه مقدار آن کمتر باشد ترکیب مدل رگرسیونی و تابع پراکنش انتخاب شده رفتار داده‌ها را به نحو مطلوب تری توجیه می‌نمایند. در این فرمول $\ln L$ حداکثر لگاریتم درست‌نمایی (maximum log-likelihood) و m تعداد پارامترها می‌باشد.

جدول ۱، دز کشنده جدایه‌های مختلف *Beauveria bassiana* به تفکیک جنسیت ملخ‌ها.

Table 1. Lethal dose of different isolates of *Beauveria bassiana* regarding insects sexuality.

مدل	تابع	لگاریتم LD ₉₉	لگاریتم LD ₅₀ بالا و	χ^2	AIC	نام جدایه
رگرسیون	پراکنش	بالا و پایین در سطح ۹۵٪ spore/insect	پایین در سطح ۹۵٪ spore/insect	کمی		
		spore/insect		اسکویر		
2	CLL	5.27829 (5.08011,5.57019)	4.14192 (3.98707,4.026998)	0.05294	272.07	بدون در نظر گرفتن جنسیت
2	CLL	4.48746 (4.31667,4.9498)	4.04244 (3.54707,4.17634)	2.82841	106.16	نر
1	CLL	5.63891 (5.28097,6.315130)	4.32319 (4.10872,4.52236)	4.28933	144.1445	ماده
2	CLL	4.86936 (4.62506,5.27930)	3.46354 (3.09878,3.68844)	1.4855	315.4787	بدون در نظر گرفتن جنسیت
2	CLL	3.83063 (3.59948,4.96266)	3.12286 (2.25540,3.32742)	0.0199742	104.1107	نر
2	CLL	4.96233 (4.73477,5.37946)	4.96233 (4.73477,5.37946)	0.8903115	171.3343	ماده
2	Normal	6.21996 (5.75264,7.02780)	4.02234 (3.79049,4.21810)	0.8112994	382.4660	بدون در نظر گرفتن جنسیت
2	Normal	4.89602 (4.56208,5.69932)	3.60257 (3.18371,3.82366)	4.6721666	147.7997	نر
2	Normal	6.82356 (6.01387,9.14672)	4.55592 (4.2233,4.92564)	0.4320252	189.3971	ماده

۱- مدل همه یا هیچ بدون پاسخ و ایمنی ذاتی ۲- مدل همه یا هیچ با پاسخ ذاتی

1- All or nothing model without natural response or immunity rate

2- All or nothing model with natural response rate

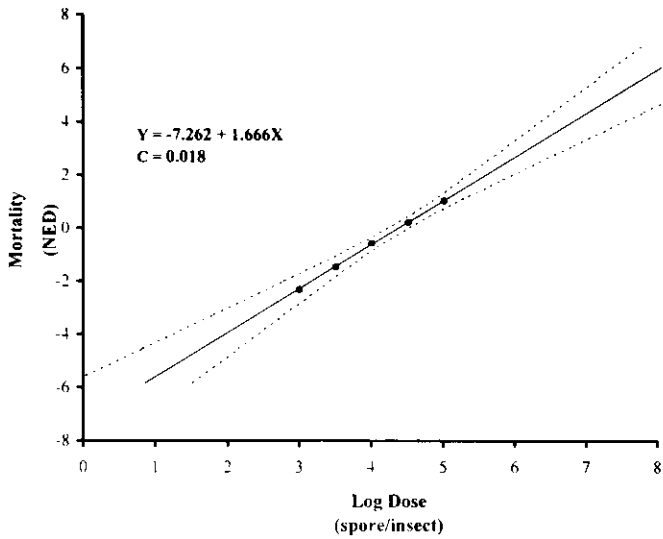
CLL= Complementary Log-Log

در مورد داده‌های حاصل از کاربرد سه جدایه ایرانی *B. bassiana* کمترین AIC ها از ترکیب تابع پراکنش (Complementary Log - Log) CLL و طبیعی (Normal) با مدل همه یا هیچ با پاسخ طبیعی (Natural response) حاصل گردید.

زمان کشندگی سه جدایه به تفکیک برای حشرات نر؛ ماده و مجموع برای سه دز 10^4 ؛ $3/2 \times 10^4$ و 10^5 هاگ بر حشره محاسبه شد (شکل‌های ۱۱؛ ۱۲ و ۱۳) و از محاسبه زمان کشندگی دو دز 10^2 ؛ $3/2 \times 10^3$ هاگ بر حشره صرف‌نظر گردید زیرا در برخی از گروه‌ها تا پایان آزمایش نیمی از حشرات تلف نشدند... بالاترین و پائین‌ترین زمان کشندگی به ترتیب مربوط به جدایه فشند در دز 10^5 هاگ بر حشره روی حشرات نر ($3/47$ روز) و جدایه آتشگاه در دز 10^4 هاگ بر حشره روی حشرات ماده (20 روز) بود.

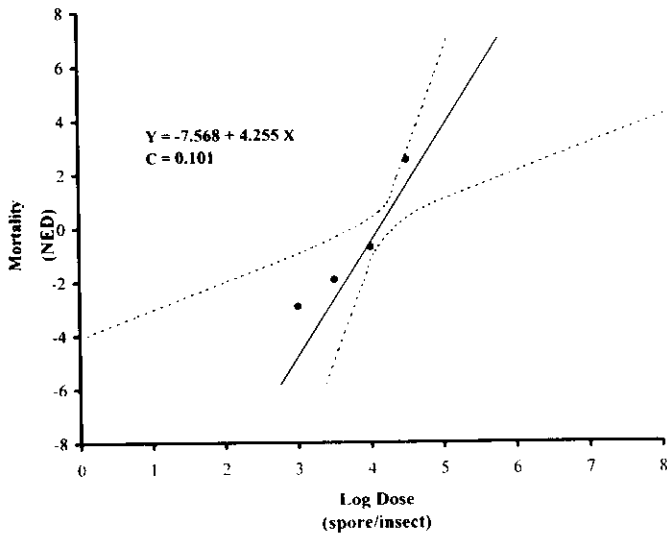
در میان سه جدایه مورد آزمایش کمترین دز کشنده 50% مربوط به جدایه فشند روی حشرات نر بود ($1/32 \times 10^3$ هاگ بر هر حشره) و بیشترین مقدار LD_{50} در آزمایش جدایه سراوان روی حشرات ماده مشاهده شد ($3/59 \times 10^4$ اسپور بر هر حشره). همانطور که از جدول ۱ و شکل‌های (۲ تا ۱۰) استفاده می‌شود، دز کشنده بسته به جنسیت ملخ‌ها و جدایه مورد آزمایش متفاوت بوده و این دز در ماده‌ها به طور قابل توجهی بیشتر از نرها می‌باشد. با توجه به تفاوت معنی‌دار وزن حشرات نر نسبت به حشرات ماده (وزن حشرات نر *L. migratoria* در سطح 1% به صورت معنی‌داری کمتر از حشرات ماده بود) بالاتر بودن دز کشنده برای گروه اخیر طبیعی به نظر می‌رسد. اما در آزمایشی که با باکتری *Serratia liquefaciens* توسط Gray روی سیرسیرک *Acheta domesticus* انجام گرفت مشخص شد که غلیظ‌تر بودن وزن حشرات ماده، حشرات نر به باکتری مورد بحث حساس‌تر بوده‌اند. مسئله اخیر نشان می‌دهد که حشرات نر غلیظ‌تر دریافت دز کمتر باکتری نسبت به هر گرم وزن بدن نسبت به عامل بیماری حساس‌تر بوده‌اند (Gray, 1998). وی علت این امر را به گزین شدن حشرات نر برای بسیاری از صفات نسبت به حشرات ماده می‌داند.

مقایسه نمودارهای دز - مرگ و میر حشرات نر، ماده و کل حشرات نشان می‌دهد که علاوه بر پائین‌تر بودن دز کشنده در حشرات نر شیب خط رگرسیون نیز در مورد آن‌ها تندتر می‌باشد و این مسئله نشان می‌دهد که حشرات نر در یک فاصله زمانی مشخص از حشرات ماده به دزهای فزاینده اسپور حساس‌تر هستند.



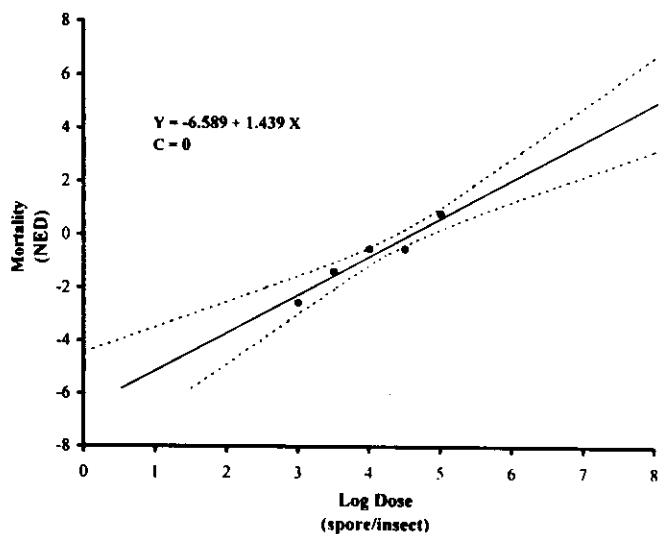
شکل ۲، نمودار دز- مرگ و میر جدایه آتاشگاه بدون در نظر گرفتن جنسیت.

Fig. 2, Dose-Mortality curve of isolate atashgah regardless of sex.



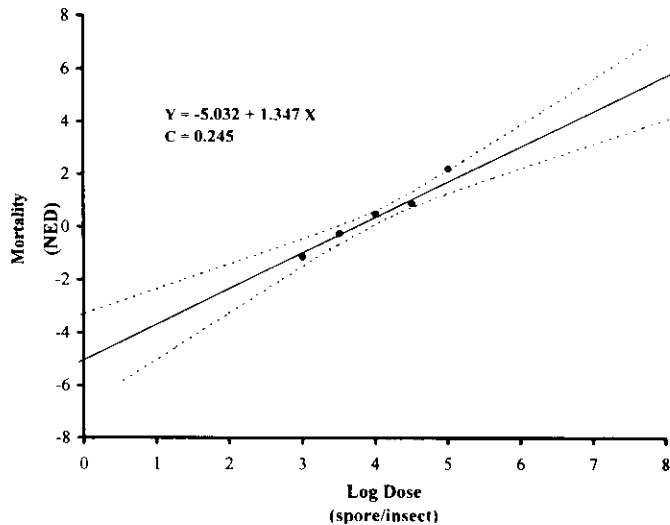
شکل ۳، نمودار دز- مرگ و میر جدایه آتاشگاه برای حشرات نر.

Fig. 3, Dose-Mortality curve of isolate Atashgah in male insects.



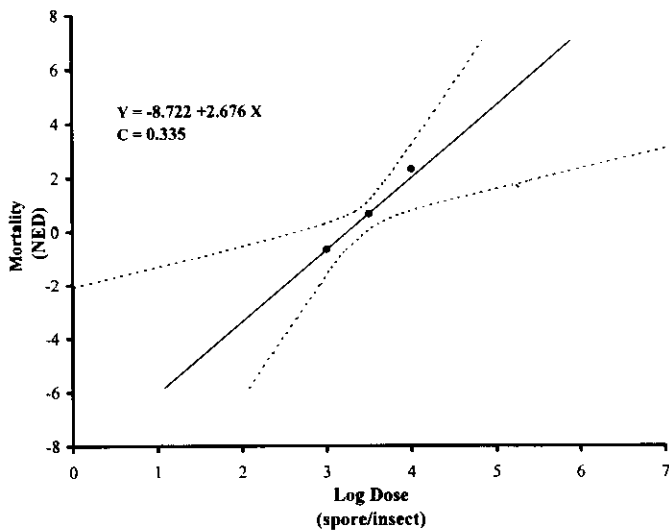
شکل ۴، نمودار دز- مرگ و میر جدایه آتاشگاه برای حشرات ماده.

Fig. 4, Dose-Mortality curve of isolate Atashgah in female insects.



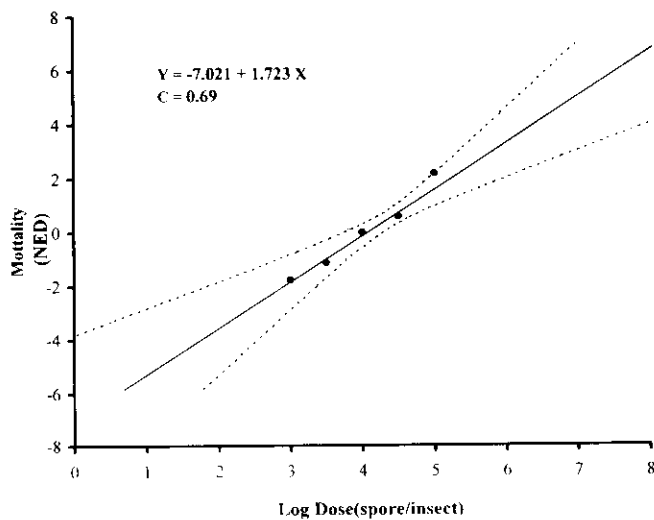
شکل ۵، نمودار دز- مرگ و میر جدایه فشند بدون در نظر گرفتن جنسیت.

Fig. 5, Dose-Mortality curve of isolate Fashand regardless of sex.



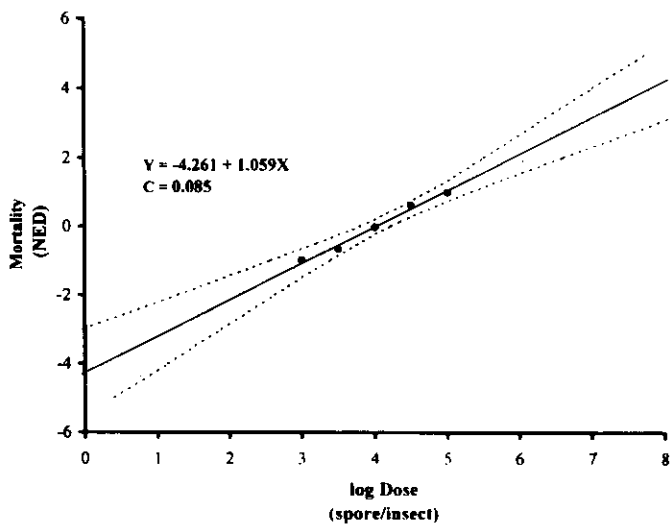
شکل ۶. نمودار دز- مرگ و میر جدایه فشنده برای حشرات نر.

Fig. 6. Dose-mortality curve of isolate Fashand in male insects.



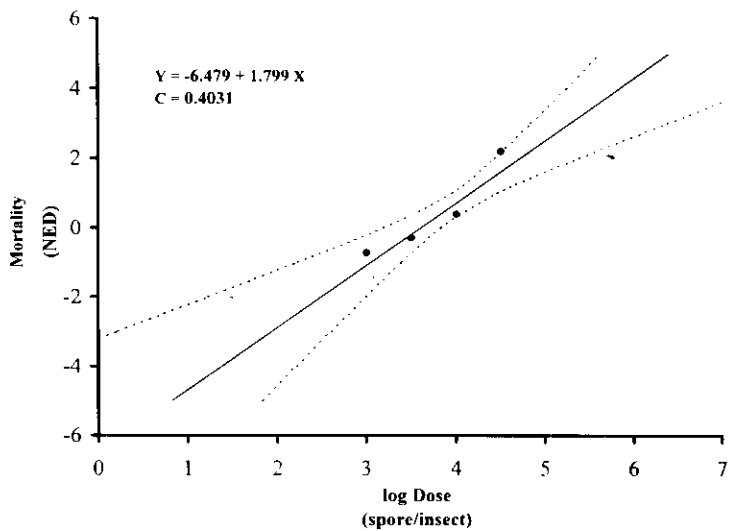
شکل ۷. نمودار دز- مرگ و میر جدایه فشنده برای حشرات ماده.

Fig. 7. Dose-mortality curve of isolate Fashand in female insects.



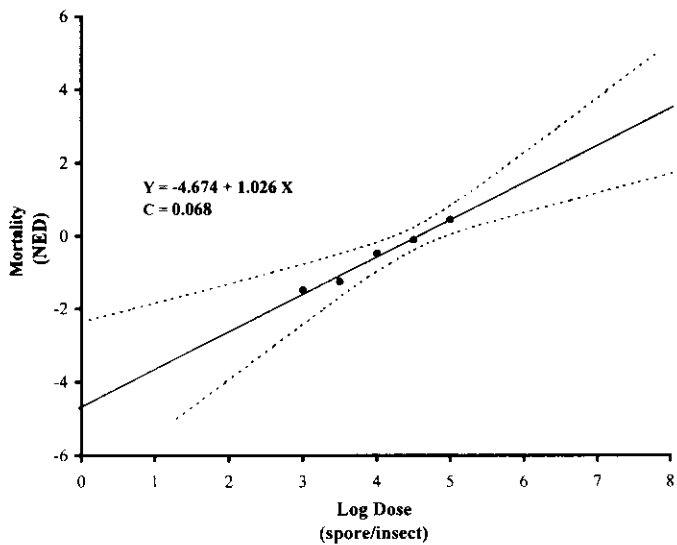
شکل ۸، نمودار دز-مرگ و میر جدایه سراوان بدون در نظر گرفتن جنسیت.

Fig. 8. Dose-mortality curve of isolate Saravan regardless of sex.



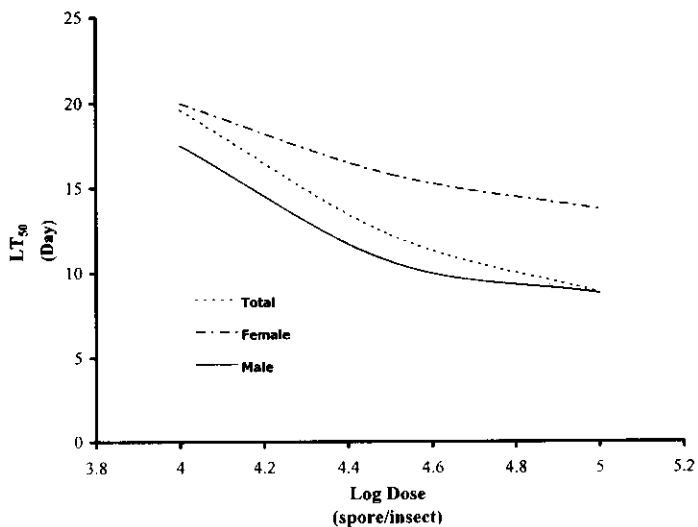
شکل ۹، نمودار دز-مرگ و میر جدایه سراوان برای حشرات نر.

Fig. 9. dose-mortality curve of isolate Saravan in male insects.



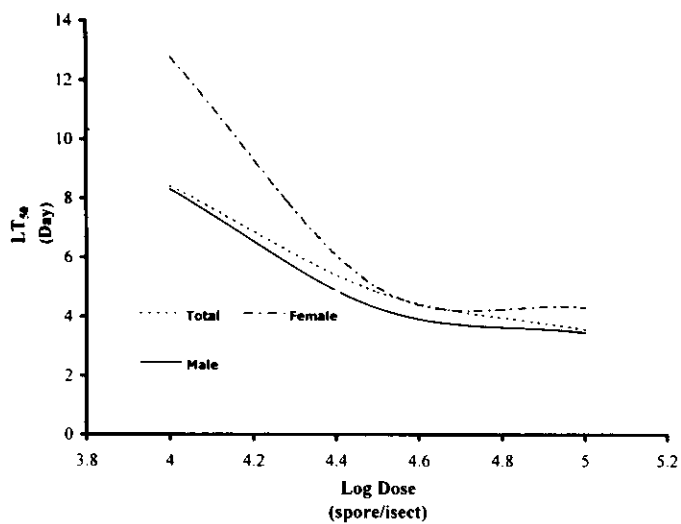
شکل ۱۰، نمودار دز-مرگ و میر جدایه سراوان برای حشرات ماده.

Fig. 10. Dose-mortality curve of isolate Saravan in female insects.



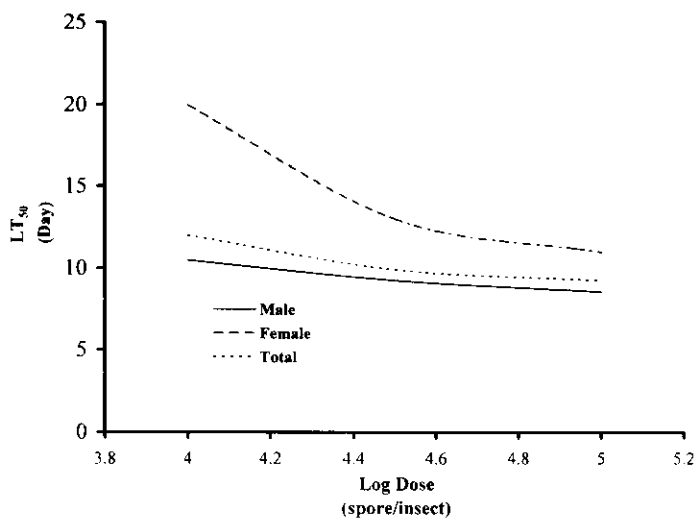
شکل ۱۱، زمان کشندگی ۵۰٪ جدایه آتاشگاه در دزهای مختلف.

Fig. 11. Lethal time of isolate Atashgah at different dosages.



شکل ۱۲، زمان کشندگی ۵۰٪ جدایه فتسد برای درهای مختلف.

Fig. 12, Lethal time of isolate Fashand at different dosages.



شکل ۱۳، زمان کشندگی ۵۰٪ جدایه سراوان برای دزهای مختلف.

Fig. 13, Lethal time of isolate Saravan at different dosages.

از مهمترین عواملی که استفاده از قارچ‌ها را در کنترل حشرات محدود می‌سازد رطوبت هوا می‌باشد. استفاده از فرمولاسیون‌های آب پایه برای پاشیدن propagule قارچ‌هایی که ویروالانس بالایی برای حشره هدف دارند در رطوبت‌های پائین معمولاً بی‌تاثیر است؛ لذا یافتن فرمولاسیون‌های جایگزین جهت کاربرد این عوامل کنترل بیولوژیک در طبیعت ضروری می‌باشد. استفاده از ماده روغنی نفت بی بو به عنوان حامل اسپورها در این آزمایش نشان می‌دهد که غلیظ‌تر رطوبت نسبی پائین حاکم بر محیط نگهداری حشرات پس از تیمار (RH=۴۰٪)؛ اسپورها قدرت حیاتی خود را حفظ نموده و توانستند به بدن میزبان نفوذ کرده و آن را آلوده سازند. از دیگر مواد حاملی که برای پاشیدن قارچ‌های بیماری‌زای حشرات مورد استفاده قرار می‌گیرد روغن‌های آلی هستند که به علت هزینه نسبتاً بالا استفاده از آنها به روش پاشیدن UV محدود می‌گردد. از سوی دیگر مشخص شد که روغن معدنی مورد استفاده تأثیر منفی قابل مشاهده‌ای روی قدرت حیاتی قارچ نداشته و مانع بیماری‌زایی آن نمی‌شود. با توجه به نیاز اسپورها به آب برای جوانه زدن به نظر می‌رسد که آب مورد نیاز برای این عمل از کوتیکول خود حشره تامین می‌شود زیرا با آزمایشاتی که توسط Bateman و همکاران وی صورت گرفته است مشخص شده اسپورهای قارچ *Metarhizium flavoviride* که ابتدا آب آنها با کمک سیلیکاژل گرفته شده و سپس از آنها فرمولاسیون روغنی تهیه شده بود توانستند جوانه زده و میزبان خود را آلوده سازند (Bateman et al. 1993). منبع دیگری که برای تامین آب مورد نیاز جهت جوانه زدن اسپورها ذکر می‌شود رطوبت موجود در لایه مرزی هوای اطراف کوتیکول حشره می‌باشد.

تأثیر مطلوب جدایه‌های جدا شده از خاک و یک سخت بالپوش روی ملخ *L. migratoria* بار دیگر فرضیه ارتباط جدید (new association) را قوت می‌بخشد (Hokkanen and Pimentel, 1984, 1989). بر طبق این فرضیه انگل‌ها روی میزبان‌هایی که با آنها سابقه ارتباط طولانی و برهم کنش نداشته‌اند با قدرت بیشتری عمل نموده و قادرند آنها را با سهولت بیشتری کنترل نمایند. دلیل این امر عدم تکامل مکانیزم‌های دفاعی میزبان در مقابل انگل جدید است. یکی از موثرترین جدایه‌های قارچی روی ملخ‌های *Melanoplus* جدایه‌ای بوده است که از میزبانی به جز ملخ جمع‌آوری شده است. در آزمایشاتی که با جدایه‌های مختلف *B. bassiana* روی ملخ *Melanoplus sanguinipes* صورت گرفت مؤثرترین جدایه‌ها

آن‌هایی بودند که از خاک کشور بورکینافاسو جدا شده بودند (Jaronski and Goettel 1997). بدین ترتیب توصیه می‌شود در کنار بررسی میزبان‌های اصلی و اولیه برای دستیابی به عوامل قارچی مناسب جهت کنترل میکروبی حشرات، جدایه‌های حاصل از خاک و حشرات دیگر نیز مدنظر قرار گیرند زیرا این گروه با تنوع زیاد خود می‌توانند عوامل بالقوه مناسبی برای کنترل حشرات آفت باشند.

نشانی نگارندگان: مهندس مهرا ن غزوی و دکتر جعفر ارشاد، بخش تحقیقات حشرات زیان‌آور به گیاهان، موسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی، صندوق پستی ۱۴۵۴، کد پستی ۱۹۳۹۵، تهران. عزیز خرازی پاکدل و ابراهیم باقری زنوز، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، کرج.