

اثر برخی عصاره‌های گیاهی و آفت‌کش‌ها روی رشد میسلیوم و تندش قارچ بیمارگر حشرات *Beauveria bassiana* در شرایط آزمایشگاهی

محمد امین سمیع^{۱*}، علی علیزاده^۲ و حمزه ایزدی^۳
۱، ۲، ۳، استادیار، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه ولیعصر رفسنجان
(تاریخ دریافت: ۸۹/۶/۱۸ - تاریخ تصویب: ۸۹/۱۲/۴)

چکیده

قارچ *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill یکی از بیمارگرهای حشرات است. زنده‌مانی کندی‌ها ممکن است در اثر عوامل محیطی و آفت‌کش‌های شیمیایی که برای حفاظت گیاهان استفاده می‌شوند، تغییر کند. در این پژوهش اثر آفت‌کش‌های ایمیداکلوپرید، فلوونکسرون، آمیتراز و عصاره‌های گیاهی چریش (*Azadirachta indica*) از خانواده *Meliaceae*، آنغوزه (*Ferula assa-foetida* L.) از خانواده *Apiaceae*، خرزهره (*Nerium oleander*) از خانواده *Apocynaceae* و فرم تجاری عصاره چریش نیم‌آزال-تی/اس روی رشد میسلیوم و جوانه‌زنی اسپور این قارچ بررسی شد. فرمولاسیون مورد استفاده برای این آفت‌کش‌ها و عصاره‌های گیاهی شامل غلظت‌های $250 \mu\text{g/l}$ (0.5MC) $500 \mu\text{g/l}$ (MC) و $1000 \mu\text{g/l}$ (2MC) بودند. نتایج نشان داد که اثر چهار عصاره گیاهی خرزهره، انگوزه، چریش و نیم‌آزال-تی/اس روی پارامترهای میزان رشد میسلیوم و درصد جوانه‌زنی قارچ بیمارگر حشرات *B. bassiana* در مقایسه با شاهد در سطح ۱ درصد ($p < 0/01$) معنی‌دار بود. عصاره نیم‌آزال-تی/اس و آفت‌کش فلوونکسرون دارای بیش از ۷۰ درصد بازدارندگی در رشد میسلیوم و جوانه‌زنی اسپور قارچ بودند و عصاره آنغوزه و خرزهره و آفت‌کش ایمیداکلوپرید دارای کمتر از ۳۰ درصد بازدارندگی در رشد میسلیوم و جوانه‌زنی اسپور قارچ بودند.

واژه‌های کلیدی: آفت‌کش، بیمارگر حشرات، سازگاری، عصاره گیاهی،

Beauveria bassiana

مقدمه

حشره‌کش‌ها، تأثیر سوء این ترکیبات روی جانوران غیرهدف به‌ویژه حشرات مفید است (Casida & Quistad, 1998). کاهش تراکم جمعیت دشمنان طبیعی (شکارگرها و پارازیتوئیدها)، بر اثر مرگ‌ومیر و جابه‌جایی یا مهاجرت از کشتزارهای تحت سمپاشی به کشتزارهای همجوار و یا دور دست یکی از نمودهای زیان بار حشره‌کش‌ها روی دشمنان طبیعی می‌باشد که نتیجه

هر محصولی دارای تنوعی از آفات و بیماری‌ها است که از دیدگاه کشاورز، همه آن‌ها بایستی کنترل شوند. برای مهار خسارت آفات، گاهی گیاهان را تا چندین بار در سال سمپاشی می‌کنند این کار، سبب افزایش میزان مصرف آفت‌کش‌ها و آلودگی محیط زیست می‌شود (Samih et al., 2005). از پیامدهای اساسی کاربرد

بویرفزین علیه پوره‌های سفیدبالک برگ نقره‌ای (Bleicher *et al.*, 2007)، تأثیر عصاره میوه *Melia azedarach* روی بقای پوره‌های سفیدبالک برگ نقره‌ای *B. argentifolii* و پارازیتوئید *Eretmocerus rui* (Abou-Fakhr *et al.*, 2006)، تلفات تأثیر زیستی کاربرد محصول تجاری (NeemAzal-u17%) neem علیه سفیدبالک پنبه (Kumar *et al.*, 2008)، انجام شده است نشان می‌دهد که گیاهان خانواده Meliaceae به ویژه درخت چریش دارای مواد شیمیایی گوناگونی بوده و دارای اثر آفت‌کشی بالایی است. حشره کش نیم آزال - تی/اس (NeemAzal-T/S) از عصاره مغز میوه گیاه چریش به دست آمده و برای کنترل آفات مکنده و جونده و کنه‌های تارتن (برای اولین بار در کشور) تولید شده است. این محصول برای درختان میوه، گیاهان گلخانه‌یی، گیاهان زینتی، مزارع و جنگل‌ها، خزانه‌های تولید نهال، فضای سبز شهرها و گیاهان آپارتمانی مؤثر است. عصاره صمغ آنگوزه^۱ با نام علمی *Ferula assa-foetida* L. نام تجاری Wight Hing از تیره چتریان (Apiaceae) یکی دیگر از گیاهان دارای خاصیت حشره کشی است. عصاره صمغ آنگوزه برای حشرات ماده جفت گیری کرده و جفت گیری نکرده و کرم گلوگاه انار (*Ectomyeloid ceratoniae*) خاصیت دور کنندگی دارد (نگارنده). به هر حال کاربرد قارچ‌ها به تنهایی اغلب در کنترل آفات ناکافی بوده و وارد کردن مواد شیمیایی سازگار در فرمولاسیون‌های قارچی ممکن است اثرات قارچ را روی حشرات آفت افزایش دهد (Kaakeh *et al.*, 1997; Quintela & McCoy, 1998; Lacey *et al.*, 1999; Ramakrishnan *et al.*, 1999; Furlong & Groden, 2001; Ying *et al.*, 2003). با در نظر گرفتن اهمیت عصاره‌های گیاهی (که امروزه تلاش می‌شود جایگزین آفت‌کش شیمیایی شوند) در کنترل جمعیت آفات و ناشناخته بودن چگونگی تأثیر و برهم کنش این مواد با عوامل بیولوژیک مانند قارچها، انجام بررسی‌هایی در این زمینه، ضروری به نظر می‌رسد. باید اطمینان داشت که هر ترکیب طبیعی جدید مانند: یک عامل میکروبی، یک ترکیب ثانویه، یک ترکیب گیاهی و یا

این امر، افزایش تراکم جمعیت آفات و زیان‌های آن‌ها می‌باشد (Brust *et al.*, 1985). گسترش و طغیان آفات، ضرورت بازنگری در کنترل شیمیایی برای کاهش میزان مصرف آفت‌کش‌ها و تشخیص و بکارگیری روش‌های غیرشیمیایی به ویژه کنترل بیولوژیک را ایجاب می‌کند. در میان عوامل بیولوژیک، بیمارگرهای قارچی حشرات از موفقیت ویژه‌ای برخوردار است. از بین این عوامل، قارچ‌های جنس *Beauveria* و گونه *B. bassiana* اولین قارچ بیماریزای شناخته شده در حشرات می‌باشد و به نام بیماری موسکاردین سفید معرفی شده است (Leathers & Subhash, 1993; Mugnia *et al.*, 1989). این قارچ دارای دامنه میزبانی گسترده بوده و روی بیش از ۷۰۰ گونه از راسته‌های گوناگون حشرات، کنه‌ها و بندپایان دیگر، بیماری ایجاد می‌کند (Inglis *et al.*, 2001; Goettel *et al.*, 2001). قارچ‌های بیمارگر حشرات نمی‌توانند به عنوان یک عامل همه جانبه در مورد آفات به کار روند و به تنهایی در کنترل جمعیت حشرات، مفید واقع شوند. یکی از ویژگی‌های مثبت قارچ‌های بیمارگر حشرات بویژه *B. bassiana* سازگاری آن با آفت‌کش‌ها می‌باشد (Anderson & Roberts, 1986; Alizadeh *et al.*, 2007; DeOliveira & Neves, 2004). این عوامل کنترل بیولوژیک را می‌توان همراه با آفت‌کش‌های مصنوعی و گیاهی و یا به تنهایی برای مبارزه با آفات کلیدی از قبیل پسیل معمولی پسته (Alizadeh *Aganiscena Pistaciae* Burck. & Laut. *et al.*, 2006 & 2007)، سفیدبالک برگ نقره‌ای *Bemisia argentifolii* (James & Elzen, 2001) به خوبی به کار برد و با کمک آنها می‌توان استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی را به میزان قابل توجهی کاهش داد (Lacey & Goettel, 1995). آفت‌کش‌های با منشأ گیاهی حامل طیف وسیعی از متابولیت‌های ثانویه فرار هستند که در روابط متقابل گیاه و حشره نقش مهمی دارند (Panda & Khush, 1995). بررسی‌هایی که روی اثر متقابل عصاره بذرهای *Azadirachta indica* روی کنترل سفیدبالک پنبه بیوتیپ B. (Baldin *et al.*, 2007; De Souza *et al.*, 2005; Nascimento *et al.*, 2008)، تأثیر عصاره آبی برگ و بذر چریش *A. indica* و یک فرمولاسیون شامل ترکیب آزادیراکتین با آفت‌کش

عصاره‌گیری از گیاهان

نمونه‌های گیاهی در این پژوهش، با توجه به بررسی منابع مختلف مبنی بر داشتن اثر حشره‌کشی انتخاب شدند. گیاهانی که در این پژوهش مورد ارزیابی قرار گرفتند شامل آنغوزه، چریش و خرزهره بودند همچنین از فرمولاسیون تجاری نیم آزال-تی/اس که از گیاه چریش گرفته می‌شود استفاده شد (جدول ۱). گیاهان را پس از جمع‌آوری با آب مقطر شست‌وشو داده در اتاق با دمای حدود 28 ± 1 درجه سلسیوس دور از تابش نور خورشید خشک و سپس در کیسه‌های نایلونی تیره (برای عصاره‌گیری) نگهداری شدند. برای تسریع در خشک شدن بافت‌های گیاهی، از پنکه استفاده شد. معمولاً گل‌ها بعد از سه تا پنج روز، برگ‌ها بعد از دو تا چهار روز و ساقه‌ها بعد از چهار تا پنج روز خشک می‌شوند که این بستگی به میزان آب بافت مورد نظر دارد. به منظور عصاره‌گیری، ۲۰ گرم از پودر خیس شده گیاه را داخل کارتوش ریخته و درون دستگاه سوکسله^۳ قرار داده شد و در بالن دستگاه ۱۲۰ میلی‌لیتر استون+۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته‌شد. عصاره‌ای که در مدت ۲ ساعت کار دستگاه جمع‌آوری شد در آزمایش‌ها استفاده گردید. عصاره استخراج‌شده توسط دستگاه تقطیر در خلا دوار^۴ در دمای ۴۰ درجه سلسیوس و سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه تغلیظ شد، به طوری که در پایان استخراج حجم عصاره نهایی تغلیظ شده به ۳۰ میلی‌لیتر می‌رسد. عصاره تهیه‌شده درون ظروف شیشه‌ای تیره ریخته شده و درب آن با پوشش آلومینیوم پوشانده شده و درون یخچال در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد (Mahdavi Arab et al., 2008).

حیوانی برای محیط و مصرف‌کننده هیچ‌گونه زبانی نداشته باشد. اگرچه بیشتر پادآفت‌های زیستی دارای خطر بسیار کمی برای موجودات غیرهدف هستند، ولی مهم این است که طبیعی بودن یک ترکیب دلیلی بر بی‌خطر بودن آن نیست (Izadi & Samih, 2006). در این پژوهش سعی شده با کمک گرفتن از عصاره‌های گیاهی و آفت‌کش‌های رایج، میزان سازگاری قارچ بیماری‌گر حشرات *B. bassiana* و این ترکیبات مشخص شود. در صورت سازگار بودن استفاده از این عصاره‌های گیاهی در کنترل آفات، با توجه به بی‌خطر بودن آنها نسبت به آفت‌کش‌های شیمیایی، می‌توان از خطرات زیست محیطی مواد شیمیایی که وارد محیط می‌شوند کم کرد. پرسش‌هایی که با این پژوهش پاسخ داده می‌شود این است که آیا این عصاره‌ها روی قارچ تأثیر دارند؟ برهمکنش بین قارچ و عصاره‌ها به صورت سینرژیستی یا آنتاگونیستی است؟ مقایسه اثر عصاره گیاه چریش که ما در آزمایشگاه تهیه می‌کنیم نسبت به فرم تجاری آن روی این قارچ به چه صورت است؟

مواد و روش‌ها

تهیه جدایه قارچ و کشت آن در محیط کشت

در این پژوهش جدایه‌ی از قارچ *B. bassiana* با کد DEBI008 در تهران و از روی ملخ *Chorthippus brunneus* (Ort: Acrididae) جدا شده‌است، استفاده شد. برای اثبات بیماری‌زایی قارچ، پس از آلوده کردن حشره پسپل پسته به بیماری‌گر، از کنیدی‌هایی که در سطح لاشه‌ی پسپل پسته ظاهر شده بود برای کشت در محیط‌های PDA^۱ و SDAY^۲ استفاده شد.

3. Soxhlet
4. Rotary evaporator

1. Potato Dextrose Agar
2. Yeast Extract+Sabouraud, s Dextrose Agar

جدول ۱- گیاهان مورد استفاده در عصاره‌گیری

نام فارسی گیاه	نام علمی گیاه	مرحله رویشی	اندام مورد استفاده	نوع عصاره گیاهی
آنغوزه	<i>Ferula assa-foetida</i>	رویشی	شیره	استونی
چریش	<i>Azadirachta indica</i>	رویشی	برگ و میوه	استونی
خرزهره	<i>Nerium oleander</i>	رویشی	گل	استونی
نیم آزال - تی/اس	<i>Azadirachta indica</i>	رویشی	میوه	فرمولاسیون تجاری

بررسی برهمکنش قارچ و هر یک از تیمارها

تأثیر عصاره در رشد میسیلیومی: برای بررسی اثر سازگاری عصاره‌های استخراج شده از انگوزه، چریش و خرزهره همچنین فرم تجاری عصاره چریش با نام نیم‌آزال - تی‌اس و آفت‌کش‌های آمیتراز، ایمیداکلوپراید و فلوونکسرون روی رشد میسیلیومی قارچ *B. bassiana* به روش اختلاط عصاره با محیط کشت بررسی شد. برای این منظور با اندازه‌گیری رشد رویشی قارچ روی محیط کشت حاوی عصاره، ابتدا قارچ *B. bassiana* در چند پتری حاوی محیط کشت PDA کشت داده شد و به این صورت چند منبع تهیه گردید. فلاسک‌های حاوی محیط کشت PDA پس از اتوکلاو، در دمای اطاق قرار داده شد تا دمای آنها به ۴۵-۴۲ درجه سلسیوس تنزل یابد. محیط کشت PDA به همراه غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر عصاره و آفت‌کش در لیتر محیط کشت طبق روش De Oliveira & Neves (2004) به ترتیب به عنوان غلظت‌های 0.5MC، MC و 2MC در نظر گرفته شد و اثر آنها روی قارچ بررسی شد و مقادری از محیط کشت PDB نیز بدون عصاره به عنوان کنترل نگه داشته شد. جهت تهیه سوسپانسیون مشخصی از اسپورهای قارچ، ابتدا با استریل کردن مواد و وسایل به وسیله یک میله سطح محیط کشت را خراش داده در ارلن ریخته و مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از محلول Tween 80 ۰/۲ درصد به آن افزوده و به هم زده تا یک سوسپانسیون یکنواختی درست شود. سپس سوسپانسیون حاصله از پارچه لملل دولایه عبور داده شده تا قطعات میسلیموم از آن جدا شوند. برای شمارش اسپورها و تعیین غلظت سوسپانسیون از لام استفاده شد. غلظت سوسپانسیون به دست آمده $10^6 \times 2/5$ اسپور در میلی‌لیتر تعیین گردید. بعد از اضافه کردن سوسپانسیون قارچ به محیط PDB حاوی عصاره و محیط کنترل، و گذشت ۲۴ ساعت، نمونه‌ای از این محیط برداشته و روی لام گلبول شمار ریخته شد. درصد اسپورهای جوانه زده تعیین شد. با محاسبه میزان جوانه‌زنی اسپور قارچ در هر یک از تیمارها و مقایسه تیمارها با هم، میزان بازدارندگی عصاره در جوانه‌زنی قارچ مشخص شد. با به دست آمدن تأثیر عصاره‌ها در بازدارندگی این دو پارامتر سازگاری قارچ و عصاره مشخص شد.

تأثیر عصاره در جوانه‌زنی اسپور: درصد جوانه‌زنی روی محیط کشت PDB^۱ بررسی شد. برای تهیه این محیط کشت به صورت زیر عمل شد. ۲۰۰ گرم سیب‌زمینی را داخل حدود یک لیتر آب جوشانده تا سیب‌زمینی‌ها له شوند سپس مخلوط را چندین بار از پارچه لملل عبور داده تا عصاره سیب‌زمینی شفاف به دست آید سپس ۲۰ گرم دکستروز به آن اضافه کرده و به حجم یک لیتر رسانده شد و سر آن با پنبه و فویل آلومینیوم پوشانده شد و داخل اتوکلاو گذاشته شد. پس از سرد شدن محیط، به آن عصاره‌های انگوزه، چریش، خرزهره و عصاره طبیعی TS از گیاه چریش در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر در لیتر (طبق روش De Oliveira & Neves (2004)) اضافه شد و به ترتیب به عنوان غلظت‌های 0.5MC، MC و 2MC در نظر گرفته شد و اثر آنها روی قارچ بررسی شد و مقادری از محیط کشت PDB نیز بدون عصاره به عنوان کنترل نگه داشته شد. جهت تهیه سوسپانسیون مشخصی از اسپورهای قارچ، ابتدا با استریل کردن مواد و وسایل به وسیله یک میله سطح محیط کشت را خراش داده در ارلن ریخته و مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از محلول Tween 80 ۰/۲ درصد به آن افزوده و به هم زده تا یک سوسپانسیون یکنواختی درست شود. سپس سوسپانسیون حاصله از پارچه لملل دولایه عبور داده شده تا قطعات میسلیموم از آن جدا شوند. برای شمارش اسپورها و تعیین غلظت سوسپانسیون از لام استفاده شد. غلظت سوسپانسیون به دست آمده $10^6 \times 2/5$ اسپور در میلی‌لیتر تعیین گردید. بعد از اضافه کردن سوسپانسیون قارچ به محیط PDB حاوی عصاره و محیط کنترل، و گذشت ۲۴ ساعت، نمونه‌ای از این محیط برداشته و روی لام گلبول شمار ریخته شد. درصد اسپورهای جوانه زده تعیین شد. با محاسبه میزان جوانه‌زنی اسپور قارچ در هر یک از تیمارها و مقایسه تیمارها با هم، میزان بازدارندگی عصاره در جوانه‌زنی قارچ مشخص شد. با به دست آمدن تأثیر عصاره‌ها در بازدارندگی این دو پارامتر سازگاری قارچ و عصاره مشخص شد.

$$IP = C - T / C \times 100$$

IP درصد بازدارندگی، C میانگین قطر هاله قارچ در تیمار شاهد، T میانگین قطر هاله قارچ در تیمار مورد نظر.

1. Potato Dextrose Broth
2. Heamocytometer

محاسبه‌ها

تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS 13.0، رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد. قبل از تجزیه داده‌ها برقراری شرایط آنالیز واریانس از جهت نرمال بودن و تصادفی بودن خطاها، همگنی واریانس‌ها و همبستگی واریانس‌ها با میانگین با استفاده از نرم‌افزار Minitab 14.0 بررسی و تبدیل‌های لازم انجام شد. برای بررسی اثر آفت‌کش‌ها و عصاره‌های گیاهی در داده‌ها به $\log(x)$ تبدیل شدند. مقایسه و گروه‌بندی میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

اثر آفت‌کش و عصاره‌های استفاده شده روی قارچ به تفکیک غلظت

نتایج نشان داد که پارامترهای رشد میسلیم و درصد جوانه‌زنی قارچ در سطح ۱ درصد ($p < 0.01$) معنی دار بوده است. همه متغیرها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد گروه بندی شده و نتایج به دست آمده در جدول ۲ نشان داده شده است. حروف مشابه در هر ستون یا برای هر پارامتر این جدول بیانگر گروه مشابه یا نداشتن اختلاف بین عصاره‌ها و آفت‌کش‌ها در سطح ۵ درصد است برای پارامتر اثر عصاره و آفت‌کش روی رشد رویشی میسلیم قارچ بیمارگر، شاهد، خرزهره، انغوزه و ایمیداکلوپراید در سه

غلظت ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر عصاره و آفت‌کش در لیتر محیط کشت کمترین اثر را روی رشد رویشی قارچ داشت، آمیتراز در میانه و فلوفنکسرون، نیم آزال - تی/اس و عصاره چریش در هر سه غلظت بیشترین بازدارندگی را روی رشد میسلیم قارچ داشت. برای پارامتر اثر آفت‌کش و عصاره‌ها روی درصد جوانه‌زنی اسپور قارچ بیمارگر در غلظت ۲۵۰ شاهد، ایمیداکلوپراید، انغوزه و خرزهره در یک گروه، در غلظت ۵۰۰ شاهد، انغوزه، خرزهره و ایمیداکلوپراید در یک گروه و در غلظت ۱۰۰۰ شاهد، انغوزه، ایمیداکلوپراید و خرزهره در یک گروه و کمترین اثر را روی درصد جوانه‌زنی اسپور قارچ داشت. فلوفنکسرون، نیم آزال - تی/اس و عصاره چریش در هر سه غلظت بیشترین بازدارندگی را روی درصد جوانه‌زنی اسپور قارچ داشت. با نگرش کلی بر این نتایج این طور برداشت می‌شود که استفاده از عصاره خرزهره و انغوزه و آفت‌کش ایمیداکلوپراید همراه با قارچ بیمارگر حشرات در کنترل تلفیقی آفات می‌تواند موفقیت‌آمیز باشد و آفت‌کش فلوفنکسرون، عصاره چریش و نیم آزال - تی/اس دارای اثر بازدارندگی روی قارچ است.

اثر عصاره‌ها و آفت‌کش‌های استفاده شده روی قارچ

اثر چهار عصاره گیاهی خرزهره، انغوزه، چریش و نیم‌آزال-تی/اس و سه آفت‌کش ایمیداکلوپراید، فلوفنکسرون و آمیتراز در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر عصاره و آفت‌کش در لیتر محیط کشت به ترتیب به عنوان غلظت‌های 0.5MC، MC و 2MC

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های ($\pm SE$) مربوط به اثر چهار عصاره گیاهی و سه آفت‌کش به تفکیک غلظت روی رشد

میسلیم و درصد جوانه‌زنی اسپورهای قارچ بیمارگر حشرات *B. bassiana*

عصاره، آفت‌کش و شاهد	درصد جوانه‌زنی اسپور			رشد میسلیم (سانتی‌متر مربع)		
	غلظت (میکرولیتر عصاره و آفت‌کش در لیتر محیط کشت)			غلظت (میکرولیتر عصاره و آفت‌کش در لیتر محیط کشت)		
	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰	۲۵۰	۵۰۰	۱۰۰۰
خرزهره	۷۵/۶۲±۲/۱۸ ^a	۷۵/۷±۲/۵ ^a	۳۱/۳۵±۲/۴۲ ^c	۶۲/۱۹±۱/۳۹ ^a	۵۶/۰۰±۱/۳۴ ^b	۵۴/۹±۰/۷۴ ^b
انغوزه	۷۹/۶۲±۲/۴۸ ^c	۷۷/۱۹±۲/۹۳ ^a	۶۸/۱۱±۲/۶ ^{ab}	۵۰/۲۱±۱/۷۳ ^b	۴۶/۲±۱/۳۴ ^d	۴۲/۴±۱/۱۲ ^d
چریش	۲۶/۵۸±۲/۲۹ ^c	۲۳/۲۱±۲/۲۱ ^b	۹/۱۲±۱/۵۴ ^d	۴/۷۲±۰/۵۸ ^d	۳/۱۶±۰/۳۲ ^f	۱/۵±۰/۱۵ ^e
نیم آزال - تی/اس	۲۰/۱۶±۲/۰۸ ^c	۱۵/۲۴±۲/۲۶ ^{bc}	۸/۴۸±۱/۳۳ ^b	۳/۰۹±۰/۳۷ ^d	۲/۴۷±۰/۴۵ ^f	۱/۴۳±۰/۳۹ ^e
شاهد عصاره	۷۸/۸۹±۲/۶۲ ^a	۷۸/۸۹±۲/۶ ^a	۷۸/۸۹±۲/۶ ^a	۶۳/۵۹±۰/۱ ^a	۶۳/۵۹±۰/۱ ^a	۶۳/۵۹±۰/۱۰ ^a
ایمیداکلوپراید	۸۰/۰۴±۱/۱۵ ^a	۷۰/۱۵±۲/۶ ^a	۵۸/۹۶±۵/۵ ^b	۴۸/۶۹±۰/۸۹ ^b	۴۷/۹۲±۰/۷۷ ^{cd}	۳۷/۳۳±۳/۲۲ ^c
فلوفنکسرون	۲/۵۷±۰/۴۱ ^c	۲/۳۴±۰/۳۳ ^d	۰/۵۳±۰/۳۳ ^d	۲/۲۹±۰/۳۹ ^d	۰/۲۱±۰/۰۹ ^g	۰/۰±۰/۰۰ ^e
آمیتراز	۴۰/۱۴±۱/۲۲ ^b	۱۱/۲۸±۱/۳۵ ^{bc}	۱۰/۷۹±۰/۴ ^d	۱۴/۶۳±۰/۸ ^c	۹/۶۴±۰/۵۶ ^e	۲/۷±۰/۲۱ ^e
شاهد آفت‌کش	۸۱/۰۶±۲/۷۶ ^a	۸۱/۰۶±۲/۷۶ ^a	۸۱/۰۶±۲/۷۶ ^a	۴۸/۶۹±۰/۸۹ ^b	۴۸/۶۹±۰/۸۹ ^c	۴۸/۶۹±۰/۸۹ ^c

حروف مشابه در ستون نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

برای پارامتر اثر عصاره‌ها روی درصد جوانه‌زنی اسپور قارچ بیمارگر شاهد، آنغوزه و ایمیداکلوپراید در سه غلظت و خرزهره در غلظت ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرولیتر بر لیتر، در یک گروه و کمترین اثر را روی رشد رویسی قارچ داشت، عصاره خرزهره در گروه دوم، نیم آزال - تی/اس و چریش در گروه سوم، آمیتراز در گروه چهارم، و فلوفنکسرون در سه غلظت، عصاره Ts و آفت‌کش آمیتراز در غلظت ۱۰۰ و ۵۰۰ و عصاره چریش در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر بیشترین بازدارندگی را روی رشد میسلیوم قارچ داشت.

با نگرش کلی بر نتیجه این جدول اینطور برداشت می‌شود که استفاده از عصاره آنغوزه، خرزهره و آفت‌کش ایمیداکلوپراید همراه با قارچ بیمارگر حشرات در کنترل تلفیقی آفات می‌تواند موفقیت‌آمیز باشد و عصاره چریش و نیم آزال - تی/اس و آفت‌کش فلوفنکسرون و آمیتراز دارای اثر بازدارندگی روی قارچ است.

روی میزان رشد میسلیوم و درصد جوانه‌زنی قارچ بیمارگر حشرات *B. bassiana* توسط نرم‌افزار SPSS10 تجزیه و تحلیل آماری شدند. بر این پایه پارامترهای رشد میسلیوم و درصد جوانه‌زنی قارچ در سطح ۱ درصد ($p < 0.01$) معنی دار بوده است. همه متغیرها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد گروه‌بندی شده و نتایج به دست آمده در جدول ۳ نشان داده شده است. حروف مشابه در هر ستون برای هر پارامتر این جدول بیانگر گروه مشابه یا نداشتن اختلاف بین عصاره‌ها در سطح ۵ درصد است برای پارامتر اثر عصاره‌ها روی رشد رویسی میسلیوم قارچ بیمارگر، شاهد و خرزهره در یک گروه و کمترین اثر را روی رشد رویسی قارچ داشت، آفت‌کش فلوفنکسرون و عصاره Ts در سه غلظت، عصاره چریش در غلظت ۱۰۰۰ و آمیتراز در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر بیشترین بازدارندگی را روی رشد میسلیوم قارچ داشت.

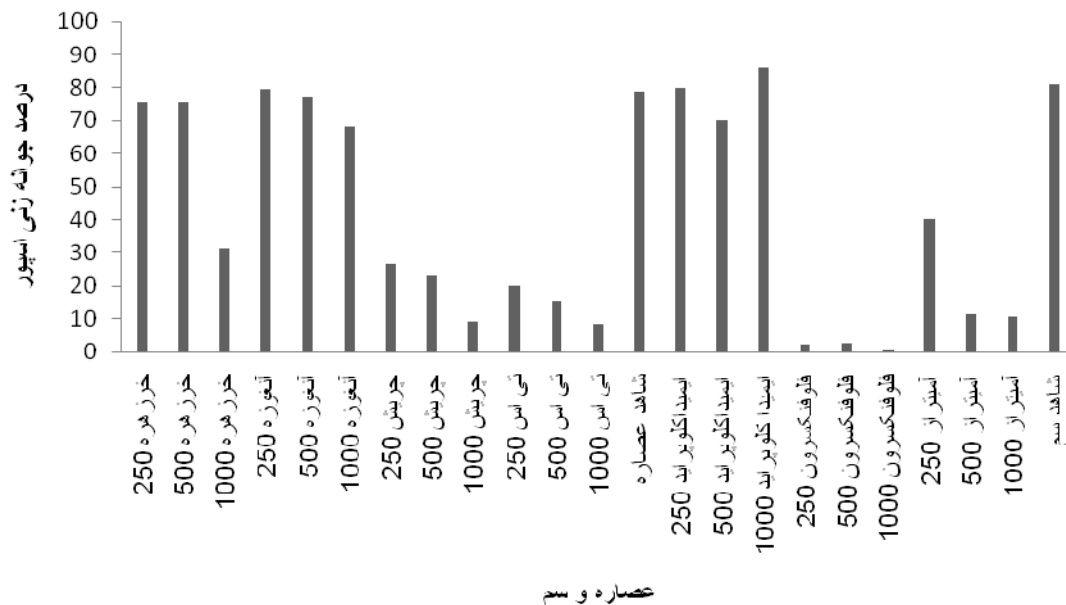
جدول ۳- مقایسه میانگین‌های ($\pm SE$) مربوط به به اثر چهار عصاره گیاهی و سه آفت‌کش در سه غلظت روی رشد میسلیوم و درصد

جوانه‌زنی اسپورهای قارچ بیمارگر حشرات *B. bassiana*

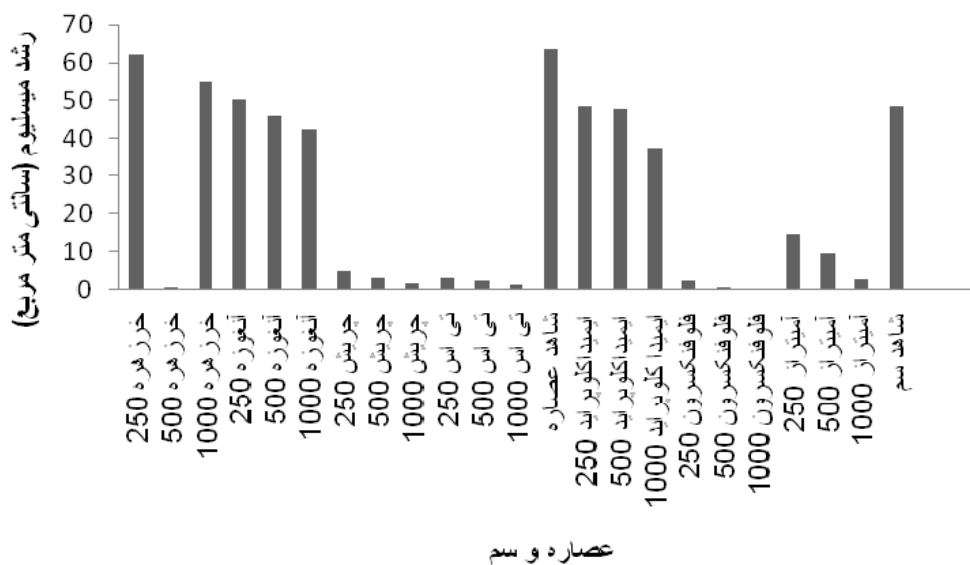
عصاره، آفت‌کش و شاهد	غلظت (میکرولیتر عصاره بر لیتر محیط کشت)	درصد جوانه‌زنی اسپور	رشد میسلیوم (سانتی‌متر مربع)
خرزهره	۲۵۰	۷۵/۶±۲/۱۸ ^a	۶۲/۱۹±۱/۳۹ ^a
	۵۰۰	۷۵/۷±۲/۵ ^a	۵۶/۰۰±۱/۳۴ ^b
	۱۰۰۰	۳۱/۳۵±۲/۴۲ ^{cd}	۵۴/۹±۰/۷۴ ^b
انغوزه	۲۵۰	۷۹/۶۲±۲/۴۸ ^a	۵۰/۲۱±۱/۷۳ ^c
	۵۰۰	۷۷/۱۹±۲/۹۳ ^a	۴۶/۲±۱/۳۴ ^d
	۱۰۰۰	۶۸/۱۱±۲/۶ ^{ab}	۴۲/۴±۱/۱۲ ^c
چریش	۲۵۰	۲۶/۵۸±۲/۲۹ ^{de}	۴/۷۲±۰/۵۸ ⁱ
	۵۰۰	۲۳/۲۱±۲/۲۱ ^{def}	۳/۱۶±۰/۳۲ ^{ji}
	۱۰۰۰	۹/۱۲±۱/۵۴ ^{fgh}	۱/۵±۰/۱۵ ^{ji}
چریش TS	۲۵۰	۲۰/۱۶±۲/۰۸ ^{defg}	۳/۰۹±۰/۳۷ ^{ji}
	۵۰۰	۱۵/۲۴±۲/۲۶ ^{efgh}	۲/۴۷±۰/۴۵ ^{ji}
	۱۰۰۰	۸/۴۸±۱/۳۳ ^{gh}	۱/۴۳±۰/۳۹ ^{ji}
شاهد عصاره	۰۰	۷۸/۸۹±۲/۶۲ ^a	۶۳/۵۹±۰/۱ ^a
	۲۵۰	۸۰/۰۴±۱/۱۵ ^a	۴۸/۶۹±۰/۸۹ ^{dc}
	۵۰۰	۷۰/۱۵±۲/۶ ^{ab}	۴۷/۹۲±۰/۷۷ ^{dc}
ایمیداکلوپراید	۱۰۰۰	۵۸/۹۶±۵/۵ ^b	۳۷/۳۳±۳/۲۲ ^f
	۲۵۰	۲/۳۴±۰/۴۱ ^h	۲/۲۹±۰/۳۹ ^{ji}
	۵۰۰	۲/۵۷±۰/۳۳ ^h	۰/۲۱±۰/۰۹ ^j
فلوفنکسرون	۱۰۰۰	۰/۵۳±۰/۳۳ ^h	۰/۰±۰/۰۰ ^j
	۲۵۰	۴۰/۱۴±۱/۲۲ ^c	۱۴/۶۳±۰/۸ ^g
	۵۰۰	۱۱/۲۸±۱/۳۵ ^{fgh}	۹/۶۴±۰/۵۶ ^h
آمیتراز	۱۰۰۰	۱۰/۷۹±۰/۴ ^{fgh}	۲/۷±۰/۲۱ ^{ji}
	۲۵۰	۴۰/۱۴±۱/۲۲ ^c	۱۴/۶۳±۰/۸ ^g
	۰۰	۸۱/۰۴±۲/۷۶ ^a	۴۸/۶۹±۰/۱ ^b
شاهد آفت‌کش	۰۰	۸۱/۰۴±۲/۷۶ ^a	۴۸/۶۹±۰/۱ ^b

درصد بازدارندگی در رشد میسلیم و جوانه‌زنی اسپور قارچ بود و سازگاری بیشتری نشان داده و عصاره نیم آزال-تی/اس و آفت‌کش فلوفاکسرون دارای بیش از ۷۰ درصد بازدارندگی در رشد میسلیم و جوانه‌زنی اسپور قارچ بود و سازگاری کمتری نشان دادند (شکل ۱ و ۲).

نتایج به دست آمده از بررسی سازگاری عصاره‌های مورد آزمایش و آفت‌کش‌ها روی رشد قارچ بیمارگر حشرات *B. bassiana* نشان می‌دهد که به طور کلی عصاره انغوزه و خرزهره و آفت‌کش ایمیداکلوپراید نسبت به دو عصاره و دو آفت‌کش دیگر دارای کمتر از ۳۰



شکل ۱- نمودار ستونی درصد اثر بازدارندگی چهار عصاره و ۳ آفت‌کش روی جوانه‌زنی اسپور قارچ *B. bassiana* به تفکیک سه غلظت ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر عصاره و آفت‌کش در لیتر محیط کشت



شکل ۲- نمودار ستونی درصد اثر بازدارندگی چهار عصاره و ۳ آفت‌کش روی رشد میسلیم قارچ *B. bassiana* به تفکیک سه غلظت ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر عصاره و آفت‌کش در لیتر محیط کشت

نتایج ما نشان می‌دهد که آفت‌کش فلوفنکسرون دارای اثر بازدارندگی بالایی بر قارچ بیمارگر است و سازگاری وجود ندارد.

همچنین عصاره نیم آزال - تی/اس و آفت‌کش فلوفنکسرون دارای بیشتر از ۷۰ درصد بازدارندگی در رشد میسلیم و جوانه‌زنی اسپور قارچ بود و سازگاری کمتری نشان دادند بنابراین در برنامه کنترل تلفیقی استفاده از قارچ ایزوله DEBI008 از *B. bassiana* و آفت‌کش یا عصاره بایستی به این عدم سازگاری توجه شود و تنها عصاره انغوزه و خرزهره و آفت‌کش ایمیداکلوپراید است که قابلیت استفاده تلفیقی با قارچ را دارد با این وجود پژوهش‌های تکمیلی برای بررسی شمار بیشتری از عصاره‌ها و آفت‌کش‌ها و بررسی میزان سازگاری آنها با قارچ در آزمایشگاه و کشتزار لازم است تا اثر آنها روی دشمنان طبیعی و سایر عوامل کنترل بیولوژیک روشن شود. بررسی‌های *Alizadeh et al.* (2006) نشان داد که ایمیداکلوپراید، امیتراز، فلوفنوکسرون، ایمیداکلوپراید + ایزوله DEBI008 از *B. bassiana* بیشترین مرگ و میر را در پوره‌های پسیل پسته داشته است. نکته جالب توجه در این پژوهش اینست که جدایه‌ی قارچ به همراه نصف دوز آفت‌کش ایمیداکلوپراید توانسته مرگ ومیری به اندازه استفاده تنهای آفت‌کش را ایجاد و این مساله در مدیریت کنترل آفات بسیار مهم است که ما بتوانیم با کم کردن دز مصرفی آفت‌کش آفت را کنترل کنیم. در استفاده توأم آفت‌کش با جدایه قارچ در بین آفت‌کش‌ها، آفت‌کش فلوفنوکسرون در زمانی که با جدایه قارچ مخلوط شد کمترین مرگ و میر را در پوره‌های سن ۵ پسیل پسته ایجاد کرد. این دستاورد با نتایج این پژوهش که آفت‌کش فلوفنوکسرون اثر بازدارندگی بالایی روی قارچ داشته است هم‌خوانی دارد.

سپاسگزاری

از حوزه پژوهشی دانشگاه ولیعصر (عج) رفسنجان که هزینه این پژوهش را تامین کرده‌اند و سرکار بانو الهام محمدی و مرجان بمانی به سبب همکاری در انجام این طرح پژوهشی قدردانی می‌گردد.

رشد کنیدی مرحله مهمی در به کارگیری قارچ به عنوان عامل کنترل بیولوژیکی است. زیرا در این مرحله امکان نفوذ کنیدی قارچ درون بافت میزبان فراهم می‌شود. و قدرت رویشی کنیدی بر میزان موفقیت قارچ در کنترل حشرات مؤثر است (*Batista Filho et al.*, 1998; *Oliveira & Neves*, 2004). پژوهش ما نشان داد که عصاره‌ها به جز خرزهره و انغوزه اثر معنی‌داری روی رشد کنیدی داشتند. اثر آفت‌کش امیتراز روی قارچ *B. bassiana* به وسیله *Oliveria & Neves* (2004) بررسی شد. نتایج این پژوهش نشان داد که این آفت‌کش دارای اثر بازدارندگی بالای ۳۰٪ روی قارچ بیمارگر حشرات دارد و تفاوت مختصری که در این پژوهش با آزمایشات ما دیده می‌شود به احتمال زیاد مربوط به تفاوت جدایه است. چرا که آزمایشات *Olmert & Kenneth* (1974) نشان داد جدایه‌های مختلف قارچ در برابر قارچ‌کش‌ها حساسیت متفاوت دارند.

براساس نتایج پژوهشگران ایمیداکلوپراید اثر منفی روی رشد قارچ بیمارگر ندارد که با نتایج به دست آمده از این پژوهش هم‌خوانی دارد (*James & Elzen*, 2001; *Alizadeh et al.*, 2007). همچنین اثر تشدیدکنندگی آفت‌کش ایمیداکلوپراید با قارچ‌های بیمارگر حشرات نیز بررسی شده است (*Ying et al.*, 2003; *Kaakeh et al.*, 1997; *Quintela & McCoy*, 1998; *Lacey et al.*, 1999; *Ramakrishnan et al.*, 1999; *Furlong & Groden*, 2001). در پژوهش ما نیز آفت‌کش ایمیداکلوپراید تأثیر چندانی روی جوانه‌زنی اسپور نداشت.

Alves et al. (1998) سرنوشت ترکیبات شیمیایی در شرایط مزرعه را مورد آزمایش قرار دادند. با وجودی که مضر بودن این ترکیبات در شرایط آزمایشگاهی به اثبات رسید بی‌شک اثر انتخابی آنها در مزرعه از بین خواهد رفت. به عبارت دیگر، سمیت بالای فرمولاسیون‌های خاص این ترکیبات در شرایط آزمایشگاهی می‌تواند دلیلی بر سمیت مشابه آنها در شرایط مزرعه باشد ولی آنچه در شرایط مزرعه مهم است ممانعت از جوانه‌زنی کنیدی‌ها است که نقش اصلی را ایفا می‌کند (*Neves et al.*, 2001; *Alves et al.*, 1998).

REFERENCES

1. Abou-Fakhr Hammad, E. & McAuslane, H. J. (2006) Effect of *Melia azedarach* L. extract on *Bemisia argentifolii* (Hemiptera: Aleyrodidae) and its biocontrol agent *Eretmocerus rui* (Hymenoptera: Aphelinidae). *Environmental Entomology*, 35, 740-745.
2. Alizadeh, A., Kharrazi- Pakdel, A., Talebi-Jahromi, Kh. & Samih, M. A. (2006). The effect of combination of some pesticides and *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill on common pistachio psylla, *Agonoscyta pistaciae* Burck. & Laut. In: Proceedings of the VIII European Congress of Entomology, 17-22 Sep. Kusadasi, Izmir, Turkey, p.132.
3. Alizadeh, A., Samih, M. A., Khezri, M. & Saberi Riseh, R. (2007). Compatibility of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. with several pesticides. *International Journal of Agriculture & Biology*, 9, 1, 31-34.
4. Anderson, T. E. & Roberts, D. W. (1989). Compatibility of *Beauveria bassiana* isolates with insecticide formulation used in Colorado beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) control. *Journal of Economic Entomology*, 76, 1437-1441.
5. Baldin, E. L. L., Vendramim, J. D. & Lourencao, A. L. (2007) Interaction between resistant tomato genotypes and plant extracts on *Bemisia tabaci* (Genn.) biotype B. *Scientia Agricola*, 64, 476-481.
6. Bleicher, E., Goncalves, M. E. D. C. & Da Silva, L. D. (2007) Effects of neem derivatives sprayed on melon crop to control silverleaf whitefly. *Horticultura Brasileira*, 25, 110-113.
7. Brust, G. E., Stinner, B. R. & McCartney, D. A. (1985). Tillage and soil insecticide effects on predator-black cutworm (Lepidoptera: Noctuidae) interactions in corn agroecosystems. *Journal of Economic Entomology*, 78, 1389-1392.
8. Casida, J. E. & Quistad, G. B. (1998). Golden age of insecticide research: past, present or future. *Annual Review of Entomology*, 43, 1-16.
9. Charnley, A. K. (2003). Fungal pathogens of insects: cuticle degrading enzymes and toxins. *Advance Botanical Research*, 40, 241-321.
10. De Souza, A. P. & Vendramim J. D. (2005) Translaminar, systemic and topical effect of aqueous extract of neem seed on *Bemisia tabaci* (Genn.) biotype B on tomato plants. *Neotropical Entomology*, 34, 83-87.
11. Furlong, M. J. & Groden, E. (2001). Evaluation of synergistic interactions between the Colorado potato beetle (Coleoptera Chrysomelidae) pathogen *Beauveria bassiana* and the insecticides, imidacloprid, and cyromazine. *Journal of Economic Entomology*, 94, 344-356.
12. Goettel, M. S., Hajek, A. E., Siegl, J. P. & Evans, H. C. (2001). Safety of fungal biocontrol agents. In: Butt T, Jakson MC and Magan N (Eds), *Fungi as biocontrol agents*. CAB International, Wallingford, UK., pp. 346-7.
13. Inglis, G. D., Goettel, M. S., Butt, T. M. & Strasser, H. (2001). Use of Hyphomycete fungi for managing pests. In T.M. Buut, C.W. Jackson, and N. Magan (Ed.), *Fungi as Biocontrol Agents Progress, Problems and Potential*. (pp. 23-96). CABI Publishing, Wallingford.
14. Izadi, H. & Samih, M. A. (2006). *Biopesticides compounds with novel mode of action*. Jahad-e-Daneshgahi, Tehran. (In Farsi).
15. James, R. R. & Elzen, G. W. (2001). Antagonism between *Beauveria bassiana* and imidacloprid when combined for *Bemisia argentifolii* (Homoptera: Aleyrodidae) control. *Journal of Economic Entomology*, 94, 357-361.
16. Kaakeh, W., Reid, B. L., Bohnert, T. J. & Bennett, G. W. (1997). Toxicity of imidacloprid in the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae), and the synergism between imidacloprid and *Metarhizium anisopliae* (Imperfect Fungi: Hyphomycetes). *Journal of Economic Entomology*, 90, 473-482.
17. Kumar, P. (2008). Studies on loss of bio-efficacy of two indirect neem applications over time (seed and soil) against *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) under semi-field conditions. *Journal of Asia-Pacific Entomology*. 11, 185-190.
18. Lacey, L. A. & Goettel, M. S. (1995). Current development in of microbial control of insect pests and prospects for the early 21 century. *Journal of Entomophaga*, 40, 1-25.
19. Lacey, L. A., Horton, D. R., Chauvin, R. L. & Stocker, J. M. (1999). Comparative efficacy of *Beauveria bassiana*, *Bacillus thuringiensis*, and aldicarb for control of Colorado potato beetle in an irrigated desert agroecosystem and their effects on biodiversity. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 93, 2, 189-200.
20. Leathers, T. D. & Subhash, C. G. (1993). Susceptibility of the Estern tent Caterpillar (*Malacosoma americanum*) to the entomogenous fungus *Beauveria bassiana*. *Journal Invertebrate Pathology*, 61, 217-219.
21. Mahdavi Arab, N., Ebadi, R., Hatami, B. & Talebi Jahromi, Kh. (2008). Insecticidal effects of some plant extracts on *Callosobrochus maculatus* F. under laboratory conditions and *Laphigma exigua* H. in greenhouse. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 11, 42, 221-235.
22. Nascimento, F. J. do, Diniz Filho, E. T., Mesquita, L. X. De, Oliveira, A. M. de & Pereira T. F. C.

- (2008). Extratos plant in control of pests. *Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentavel*, 3, 1-5.
23. Neves, P. M. O. J., Hirose, E., Tchujo, P. T. & Moino, A. R. J. (2001). Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoid insecticides. *Neotropical Entomology*, 30, 2, 263-268.
24. Oliveira, R. C. & Neves P. M. O. J (2004). Compatibility of *Beauveria bassiana* with acaricides. *Neotropical Entomology*, 33, 3, 353-358.
25. Olmert, I. & Kenneth, R. G. (1974). Sensitivity of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana*, and *Verticillum* sp. to fungicides and insecticides. *Environmental Entomology*, 3, 33-38.
26. Pathak, N., Mittal, P. K., Singh, O. P., Vidya Sagar, D. & Vasudevan, P. (2000). Larvicidal of essential oils from plants against the vector mosquitoes *Anopheles stephensi* (Liston), *Culex quinquefasciatus* (Say) and *Aedes aegypti* (L.). *International Pest Control*, 42, 2, 53-55.
27. Quintela, E. D. & McCoy, C. W. (1998). Synergistic effect of imidacloprid and two entomopathogenic fungi on the behavior and survival of larvae of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) in soil. *Journal of Economic Entomology*, 91, 110-122.
28. Ramakrishnan, R., Suiter, D. R., Nakatsu, C. H., Humber, R. A. & Bennett, G. W. (1999). Imidacloprid-enhanced *Reticulitermes flavipes* (Isoptera Rhinotermitidae) susceptibility to the entomopathogen *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Economic Entomology*, 92, 1125-1132.
29. Ying, S. H., Feng, M. G. & Xu, S. T. (2003). Field efficacy of emulsifiable suspensions of *Beauveria bassiana* conidia for control of *Mysus persicae* population on cabbage. *China Journal Applied Entomology*, 14, 545-548.