

تأثیر دو جدایه ایرانی قارچ (*Metarhizium anisopliae* (Metschnikof.) Sorokin (Fungi: Ascomycota) در شرایط آزمایشگاهی

علی محمدی پور^{۱*}، مهران غزوی^۲، احمد بغدادی^۳ و عزیز شیخی گرجان^۴
۱، ۲، ۴، محقق و استادیاران، پخت تحقيقيات حشره‌شناسی کشاورزی، مؤسسه تحقيقيات گیاه‌پزشکی کشور
تهران، ۳، استادیار، دانشکده کشاورزی دانشگاه پیام نور - ماهدشت کرج
(تاریخ دریافت: ۸۹/۷/۲۶ - تاریخ تصویب: ۸۹/۱۲/۴)

چکیده

تأثیر دو جدایه *Sorokin Metarhizium anisopliae* (Metschnikof.) جدا شده از روی حشره کامل سر خرطومی حنایی خرما (*Rhynchophorus ferrugineus* (Oliv.) DEMI001) و سخت بالپوش (*Parandra caspica* (Men.) DEMI002)، روی حشره کامل شته رویی گندم در شرایط آزمایشگاهی مورد آزمون قرار گرفت. پس از تعیین غلظت‌های حداقل و حداکثر این دو جدایه با غلظت‌های 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 کنیدی در میلی لیتر، با شش تکرار مورد آزمایش قرار گرفت و غلظت کشته 50% و 90% محاسبه گردید. پایین‌ترین غلظت کشته 50% ، $10^4 \times 10^6$ کنیدی در میلی لیتر و مربوط به جدایه DEMI001 و بالاترین آن $10^6 \times 10^5$ کنیدی در میلی لیتر و مربوط به جدایه DEMI002 بود. کمترین زمان لازم برای مرگ و میر 50% درصد جمعیت مربوط به جدایه DEMI001 در غلظت 10^5 کنیدی در میلی لیتر، $1/75 \pm 0/64$ روز بود. نتایج تجزیه واریانس میزان مرگ و میر ایجاد شده توسط دو جدایه روی شته رویی گندم در سطح 5% در روز ششم و دهم به صورت زیر بود: در غلظت 10^6 کنیدی در میلی لیتر و در روز ششم، جدایه DEMI001 ($22 \pm 6/92\%$), جدایه DEMI002 ($32 \pm 6/22\%$) و در روز دهم در غلظت 10^6 کنیدی در میلی لیتر، جدایه DEMI001 ($22 \pm 4/39\%$) و جدایه DEMI002 ($28 \pm 4/78\%$) اختلاف معنی‌دار بود.

واژه‌های کلیدی: شته رویی گندم، قارچ بیمارگر، LT₅₀, کنیدی، *Metarhizium anisopliae*

هکتار بوده است که به طور عمده این سمپاشی‌ها برای کنترل شته رویی گندم صورت گرفته است (Sajadi Naeen, 2003).

شته رویی گندم *Diuraphis noxia* در سراسر ایران به غیر از حاشیه شمالی کشور و منطقه مغان پراکنش داشته و در سال‌های اخیر خسارت اقتصادی آن از استان‌های فارس، همدان، اصفهان، کرمان، مرکزی،

مقدمه

شته‌های غلات از آفات درجه دوم مزارع غلات به شمار می‌آیند. در بعضی سال‌ها جمعیت و خسارت برجی از گونه‌ها (به ویژه شته رویی گندم) افزایش یافته و خسارت قابل توجهی به مزارع گندم و جو وارد می‌کنند. طبق گزارش سازمان حفظ نباتات سطح کنترل شیمیایی شته‌های غلات در سال ۱۳۷۹ حدود ۱۷۰۰۰

دارای زهر آگینی بیشتری نسبت به *Metarhizium spp.* بودند. همچنین دامنه بیمارگری از ۹۹/۶-۹۲/۵ درصد در مقابل ۴۲/۳-۵۴/۷ درصد در غلظت 10^7 اسپور بر میلی لیتر در طی ۷ روز متغیر بود. در مورد LC_{50} در بین جدایه قارچها جز در قارچ *Metarhizium spp.* اختلاف معنی دار وجود نداشت و دامنه تغییرات بین $10^2 \times 1/4$ تا $10^4 \times 2$ اسپور بر میلی لیتر و در مورد قارچ *Metarhizium spp.* $2/3 \times 10^7$ تا $11/7 \times 10^{11}$ اسپور بر میلی لیتر در طی ۷ روز به دست آمد. کوتاهترین زمان کشندگی در غلظت 10^7 اسپور بر میلی لیتر مربوط به جدایه ARSEF#2638 Hemmati et al. (*P. fumosoroseus* با $1/8$ روز بود) (2002) با بررسی تأثیر قارچ *M. anisopliae* روی شته مومی کلزا *Brevicoryne brassicae* در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه به این نتیجه رسیدند که درصد تلفات در اثر قارچ به طور معنی داری بیش از درصد تلفات طبیعی می باشد. بررسی تأثیر ۱۲ جدایه از قارچهای *M. anisopliae*, *P. fumosoroseus*, *L. L. Lecanii*, *P. farinosus*, *B. bassiana* و *Cordyceps scarabaeicola fusisporum* و *Aphis gossypii* روی دو شته *Nomuraea rileyi* در شرایط دمایی و رطوبت های نسبی مختلف نشان داد که کمترین LT_{50} برای شته $1/58$ *M. persicae*, $1/40$ *A. gossypii* روز و در شته *L. lecanii-41185* روز مربوط به 10^7 اسپور بر میلی لیتر بود. همچنین درصد مرگ و میر *M. persicae* در دو جدایه *L. lecanii-41185* و *L. lecanii-6541* در طی چهار روز 100% در حالی که در شته *A. gossypii* در جدایه *L. lecanii-41185* در طی ۲ روز میزان مرگ و میر 100% مشاهده شد (Van Hanh et al. 2007).

هدف تحقیق

هدف از انجام این تحقیق تعیین کارآیی جدایه های *M. anisopliae* برای کنترل شته روسی گندم و معرفی جدایه برتر بود.

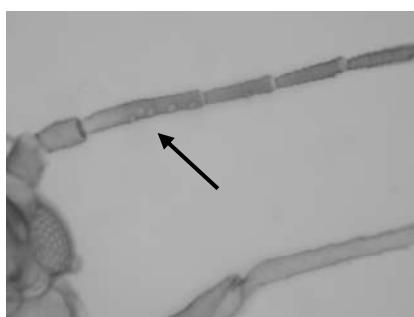
مواد و روش ها

پرورش گیاه

به منظور تأمین گیاهان مورد نیاز جهت پرورش شته

خراسان، تهران، یزد، سیستان و بلوچستان، کرمانشاه و لرستان گزارش شده است. در سال های ۱۳۷۲-۷۳ به طور غیرمنتظره ای جمعیت آن در استان فارس و در سال های ۱۳۸۲-۱۳۸۳ در استان خراسان افزایش یافته و خسارت زیادی به وجود آورد (Sajadi Naeen, 2003) با توجه به اهمیتی که این شته در اغلب نقاط دنیا پیدا کرده بررسی هایی در زمینه کنترل زیستی این آفت با استفاده از قارچ های بیمارگر حشرات صورت گرفته است. در تحقیقی از فرمولاسیون ES Mycotrol® به میزان $2/4$ لیتر در هکتار Conidia (5×10^{13}) همراه با ماده همراه $1/1$ درصد organosilicone در طی دو سال زراعی استفاده شد. نتایج نشان داد که جمعیت شته ها در کرت های تیمار شده 65% کمتر از کرت های شاهد بود (Hatting et al., 2004). قارچ موسکاردین سبز *M. anisopliae* به عنوان یک قارچ بیمارگر مهم علیه موریانه ها، ملخ ها، زنجرک ها، سوسک ها، شب پره ها، آفات خاکزی، آفات گلخانه مانند سفید بالک ها و تریپس ها و حتی کنه ها مورد استفاده قرار گرفته است (Veen, 1968) است ولی طیف میزبانی آن بسیار محدودتر از (Vuillemin Beauveria bassiana) می باشد.

(Gustafsson 1971) بحثی بر روی کنترل میکروبی شته ها و شپشک ها انجام داد. Feng et al. (1990) آنودگی طبیعی شته های غلات به قارچ های بیمارگر حشرات را مورد بررسی قرار دادند که در این تحقیق یک جدایه به نام SGBB8601 از قارچ *B. bassiana* جدا گردید که دارای زهر آگینی نسبتاً بالایی بر روی شته های غلات از جمله شته روسی گندم بود که به همین دلیل این جدایه دارای پتانسیل لازم جهت استفاده در کنترل میکروبی شته ها تشخیص داده شد. Puterka et al. (1994) یک بررسی اجمالی بر روی اثر، *B. bassiana*, *M. flavoviridae*, *Paecilomyces M. anisopliae* و *P. fumosoroseus*, *V. Lecanii* را روی پسیل گلابی Cacopsylla pyricola انجام دادند. نتایج به دست آمده نشان داد که همه جدایه های قارچ های مورد آزمایش دارای قدرت بیمارگری روی پسیل گلابی می باشند، اما قارچ های *B. bassiana* و *V. Lecanii* به طور معنی داری



شکل ۲- اندام‌های حسی ثانوی در افراد بالدار
با بزرگنمایی ۲۰

جدازی و کشت جدایه‌ها

دو جدایه از قارچ بیمارگر حشرات *M. anisopliae* در خارج از حشره کامل سر خرطومی حنایی خرما (Rhynchophorus ferrugineus) با کد DEMI001 و سخت بالپوش *P. caspica* با کد DEMI002 برای آزمایش‌ها انتخاب شد. برای تهیه کنیدی‌های زنده و بیمارگر جهت استفاده در آزمایش‌ها از لاروهای سینه ۴، ۵ کلنی *Galleria mellonella* موجود در بخش تحقیقات مبارزه بیولوژیک مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور استفاده گردید. به این ترتیب که تعداد ۱۰ عدد لارو در سوسپانسیونی با غلظت بالا و نامشخص از هر جدایه *M. anisopliae* به مدت ۱۵-۲۰ ثانیه غوطه‌ور گردید، سپس لاروها در ظروف استوانه بی‌وی‌سی شفاف در دار استریل حاوی پنبه مرطوب قرار داده شد. بعد از ۲۴ ساعت لاروهای مرده حذف گردید و غذای مصنوعی در اختیار لاروها گذاشته و ظرف‌ها با در توری دار پوشانده شدند. در طی ۷-۱۴ روز لاروهای آلوده شده در شرایط استریل جدا گردید. بعد از ظهور بار قارچی روی بدن حشره، کنیدی‌های هوایی از سطح بدن لاروها جدا شده و کشت شد.

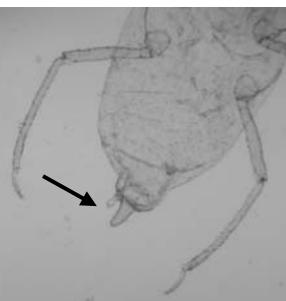
برای کشت جدایه‌ها و به دست آوردن کنیدی به منظور آلوده‌سازی شته‌ها از محیط SDA (Sabouraud Dextrose Agar) استفاده شد و برای نگهداری طولانی مدت جدایه‌ها از محیط ۱/۱۰ SDA در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد استفاده شد. بعد از ۲۰ الی ۳۰ روز کنیدی‌ها توسط لوب از سطح محیط کشت برداشته و در محلول Tween80٪، ۰/۰۵٪ به صورت سوسپانسیون در آمد و برای آلوده‌سازی حشرات مورد نظر استفاده گردید.

روسی گندم، به طور دائم حدود ۵۰-۶۰ گلدان حاوی ۱۰-۱۵ گیاه گندم رقم فلات کشت شد و در شرایط اتاق حرارت ثابت با دمای 23 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی 60 ± 10 درصد و دوره روشنایی ۱۶:۸ (تاریکی: روشنایی) قرار داده شد. بعد از یک هفته روی آنها استوانه‌هایی از جنس پی‌وی‌سی شفاف به قطر ۷ سانتی‌متر و به ارتفاع ۴ سانتی‌متر، که در دو طرف دارای پنجره توری بودند، قرار داده شد. بعد از گذشت یک هفته، این گیاهان جهت انتقال شته‌ها مورد استفاده قرار گرفتند.

پرورش حشرات

جهت پرورش حشرات در اوخر اسفند ماه طی بازدید از مزارع گندم گرمسار نمونه‌های مورد نظر از طریق نحوه خسارت شناسایی و با گیاه گندم جمع‌آوری گردید و به آزمایشگاه منتقل شد. شته‌ها ابتدا در زیر استریومیکروسکوپ قرار گرفته و با توجه به بارزترین مشخصه ظاهری شته روسی گندم یعنی وجود زایده دم مانند (Superacaudal process) از سایر شته جدازی صورت گرفت و شته مورد نظر به گیاه گندم محصور شده توسط پوشش استوانه‌ای که ۱۴ روز قبل کشت شده بود، منتقل و در اتاق حرارت ثابت در شرایط پرورش گیاه نگهداری شد. سپس از شته‌های پرورش یافته اسلاید تهیه گردید و با توجه به کلید شته‌های ایران (Rezvani, 2001) شته مورد نظر مورد شناسائی و تأیید قرار گرفت (شکل‌های ۱ و ۲).

به منظور همسن‌سازی تعداد ۱۰ حشره کامل بدون بال را به گلدان‌های از قبل آماده شده منتقل و بعد از ۲۴ ساعت حشرات کامل حذف و بر روی آنها تاریخ زده شد، گلدان‌ها در اتاق پرورش نگهداری گردید و پس از حدود ۵ روز جهت آزمایش استفاده شد.



شکل ۱- superacaudal process با بزرگنمایی ۲۰

به میزان ۷/۷٪ انجام گرفت. با توجه به اینکه دوره پورگی حشره در شرایط آزمایشگاهی ۹-۸ روز می‌باشد تعداد ۱۰ حشره بالغ در گلدان‌های آماده قرار داده شد و پس از ۴۸ ساعت این حشرات به گلدان دیگری منتقل گردید و گلدان‌های قبلی تاریخ زده شد. برای هر تکرار به طور متوسط از تعداد ۲۰-۲۵ عدد حشره کامل شته روسی گندم استفاده شد. به این منظور بوتهای گندم دارای شته را در سینی سفیدی ریخته شد و در زیر استریو میکروسکوپ حشرات متحرک بوسیله قلم مو جدا گردید. حشرات کامل به داخل ظرف پتری ۷ سانتی‌متری که درون آن یک برگ گندم قرار داده شده بود انتقال یافت. بعد از جداسازی شته روسی گندم، حشرات در دمای ۲۵°C در داخل قیف بوخرن قرار داده شد و با دستگاه اسپری ضدغونی شده با ۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون مورد نظر به مدت ۵ ثانیه اسپری شدند و در اطاکق رشد با شرایط دمایی $23 \pm 1^\circ\text{C}$ ، رطوبت نسبی $60 \pm 10\%$ و دوره روشنایی (AD:L:16) به مدت ۱۰ روز نگهداری شدند. مرگ و میر حشرات هر روز ثبت و جدول مرگ و میر تجمعی آنها تهیه شد.

محاسبات آماری

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

نتایج

پس از آلوده‌سازی حشرات کامل با غلظت‌های مورد نظر و سپری شدن ۱۰ روز غلظت کشندگی 50% در سطح 95% محاسبه شد (جدول ۱). تجزیه تحلیل داده‌ها توسط نرمافزار PriProbit با استفاده از حدود بالا و پایین و رابطه آن با مرگ و میر محاسبه شد که نتایج بیانگر ارتباط مستقیم غلظت و کشندگی بود. میزان مرگ و میر شته روسی گندم به تفکیک جدایه در غلظت‌های 10^3 ، 10^4 ، 10^5 و 10^6 در طی ۱۰ روز پس از آلودگی ثبت گردید و مقایسه میانگین تلفات بر اساس آزمون

آزمون زنده‌مانی جدایه

جهت اندازه‌گیری میزان زنده‌مانی اسپورهای جدایه‌های مورد نظر از محیط کشت Water Agar آنتی‌بیوتیک دار استفاده شد. ۲۴ ساعت قبل از آزمون زیست‌سنگی، سوسپانسیون ریقی از جدایه‌ها در محلول Tween80٪، ۱۰۰ میلی‌لیتری تهیه و ۱۰۰ میلی‌لیتری Tween80٪ تهیه و ۱۰۰ میلی‌لیتری سوسپانسیون ریخته شد و در دمای 25°C نگهداری گردید. بعد از ۱۶-۱۸ ساعت با استفاده از محلول رنگ‌آمیزی لاكتوفل سه قسمت از پتری مشخص و به وسیله میکروسکوپ با بزرگنمایی ۴۰۰ تعداد ۱۰۰ اسپور به طور تصادفی در هر قسمت شمارش شد و اسپورهایی که طول لوله تندشی آنها از نصف قطر اسپور بیشتر بود به عنوان اسپورهای جوانه زده محسوب شد. درصد زنده‌مانی از طریق فرمول زیر محاسبه گردید. سپس از سه قسمت میانگین گرفته در صورتی که درصد جوانه‌زنی بیش از ۸۵٪ بود، آزمون زیست‌سنگی انجام گردید.

$$\left[\frac{a}{(a+b)} \right] \times 100$$

a: تعداد اسپور جوانه زده

b: تعداد اسپور جوانه نزدیک

زیست‌سنگی

برای محاسبه غلظت کشنده جدایه‌های مختلف از Tween80٪ به عنوان دترئانت استفاده شد. کنیدی‌های جدایه‌های مورد آزمایش درون محلول Tween80٪ به حالت معلق در آمده سپس سوسپانسیون حاصله از سرنگ استریل دارای پارچه ململ دو لایه عور داده شد. محلول حاصل را در شیشه‌های حاوی گلوله‌های شیشه‌ای ریخته و برای چند دقیقه به شدت تکان داده شد.

جهت شمارش اسپورها و تهیه تراکم‌های مختلف اسپور در واحد حجم از لام گلبلو شمار (Improved Neubar) استفاده شد. پس از انجام آزمایش‌های مقدماتی و تعیین غلظت‌های حداقل و حداکثر (10^3 ، 10^4 ، 10^5 ، 10^6 کنیدی در میکرولیتر) زیست‌سنگی انجام گردید.

آزمایش‌های زیست‌سنگی به روش اسپری در ۶ تکرار برای هر تیمار (غلظت‌های 10^3 ، 10^4 ، 10^5 ، 10^6 کنیدی در میکرو لیتر) به همراه تیمار شاهد (Tween80)

نتایج آزمایش بیانگر زهراگینی بالای جدایه سراوان (DEMI001) می‌باشد (جدول ۳).

در میان دو جدایه مورد آزمایش کمترین غلظت کشنده ۵۰٪ مربوط به جدایه سراوان ($10^4 \times 10^{1/7}$) کنیدی در میلی‌لیتر) بود و بیشترین مقدار LC₅₀ در جدایه نور ($10^6 \times 2/5$ کنیدی در میلی‌لیتر) مشاهده شد (جدول ۳).

زمان کشنده‌گی دو جدایه روی حشره در چهار غلظت مشخص گردید، به این ترتیب که کمترین زمان کشنده‌گی مربوط به جدایه سراوان ۱/۷۵ روز در غلظت ۱۰^{۵/۵} و بیشترین زمان کشنده‌گی مربوط به جدایه نور، ۱/۲۶ روز در غلظت ۱۰^۶ کنیدی در میلی‌لیتر بود (جدول ۴).

بحث

نتایج حاصل از زیستستنجی، بر بیمارگر بودن جدایه‌های قارچی به کار رفته علیه حشره کامل شته روسی گندم دلالت دارد. سطوح مختلف کشنده‌گی در بین جدایه‌های یک گونه دیده شد. تفاوت زهراگینی بین جدایه‌های یک گونه و گونه‌های مختلف نسبت به حشرات آفت به دفعات گزارش شده است (Ekesi *et al.*, 1998). در این مطالعه زهراگینی دو جدایه مختلف *M. anisopliae* روی حشره کامل شته روسی گندم بررسی شد.

T-test در سطح ۵٪ با نرمافزار SAS به شرح زیر انجام شد:

با توجه به نمودار غلظت - مرگ و میر برای تجزیه و تحلیل روزهای ۸، ۶ و ۱۰ انتخاب شد. در غلظت ۱۰^۶ و در روز ششم، دو جدایه DEMI001 و DEMI002 با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند ($T=3/68$, $P=0.248$, $df=3/65$). همچنین در روز دهم نیز اختلاف معنی‌دار بود ($T=2/81$, $P=0.485$, $df=3/95$) (جدول‌های ۱ و ۲).

جدول ۱- مقایسه میانگین تلفات دو جدایه قارچ *M. anisopliae* روی حشره کامل در سطح ۵٪ در غلظت ۱۰^۶ اسپور بر میلی‌لیتر در روز ششم آزمایش

نام جدایه	تعداد مشاهدات	میانگین درصد تلفات	$\pm SE$
سراوان	۱۲	۳۲/۲۲	۶/۹۲
نور	۱۲	۲۲/۲۸	۴/۳۹

جدول ۲- مقایسه میانگین تلفات دو جدایه قارچ *M. anisopliae* روی حشره کامل در سطح ۵٪ در غلظت ۱۰^۶ اسپور بر میلی‌لیتر در روز دهم آزمایش

نام جدایه	تعداد مشاهدات	میانگین درصد تلفات	$\pm SE$
سراوان	۱۲	۴۱/۹	۶/۴۲
نور	۱۲	۲۸	۴/۷۸

جدول ۳- غلظت کشنده‌گی دو جدایه DEMI001, DEMI002 با استفاده از نرمافزار PriProbit (1998-2000) *M. anisopliae* قارچ روی شته روسی گندم *Diuraphis noxia*

نام جدایه	حدود بالا و پایین در سطح ۹۵٪	حدود بالا و پایین در سطح ۹۵٪	Log LC ₉₉ (spore/ml)	حدود بالا و پایین در سطح ۹۵٪	Intercept $\pm SE$	Slope $\pm SE$	P
(EMI001) سراوان	۴/۲۳ (۴-۴/۳۹)	۴/۲۳ (۴-۴/۳۹)	۵/۸۷ (۵/۶۵-۶/۲)	۵/۸۷ (۵/۶۵-۶/۲)	-۴/۹۷ $\pm 0/۳۳$	۱/۲۲ $\pm 0/۰۸$	<0.0001
(DEMI002) نور	۶/۴ (۵/۸۶-۷/۵)	۶/۴ (۵/۸۶-۷/۵)	۱۳/۰۸ (۱۰/۸۳-۱۷/۸۱)	۱۳/۰۸ (۱۰/۸۳-۱۷/۸۱)	-۲/۲۱ $\pm 0/۳۱$	۰/۳۴ $\pm 0/۰۴$	<0.0001

جدول ۴- زمان کشنده‌گی قارچ *M. anisopliae* جدایه‌های DEMI001, DEMI002 با استفاده از نرمافزار Curve Expert 1.3

نام جدایه	اسپور بر میلی‌لیتر	رگرسیونی	مدل	ضریب همبستگی	$\pm SE$	زمان کشنده‌گی (%)	LT ₅₀ (روز)
(DEMI001) سراوان	۱۰ ^{۴/۵}	لジستیک	۰/۹۹۹	۰/۹۱	۰/۹۱	۵۰٪	۲/۹
(DEMI001) سراوان	۱۰ ^۵	لジستیک	۰/۹۹۹	۱/۳	۱/۳	۵۰٪	۲/۳
(DEMI001) سراوان	۱۰ ^{۵/۵}	لジستیک	۰/۹۹۹	۰/۶۴	۰/۶۴	۵۰٪	۱/۷۵
(DEMI002) نور	۱۰ ^۶	لジستیک	۰/۹۸۹	۱/۲۴	۱/۲۴	۵۰٪	۱/۲۶

عدم تکامل مکانیزم‌های دفاعی میزان در مقابل انگل جدید می‌باشد (Ghazavi *et al.*, 2002). با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق، جدایه DEMI001 قارچ M. anisopliae از حشره غیر میزان بر روی حشره شته روسی گندم تأثیر قابل قبولی داشته از این رو با نظریه فوق مطابقت دارد. از طرفی جدایه‌هایی که با داشتن پایین‌ترین زمان تأثیر ۵۰٪ و کمترین غلظت کشنده دارای زهرآگینی بالاتری نسبت به جدایه دیگر می‌باشد. البته اخیراً Kim & Kim (2008) اعلام داشته که ایزوله‌های محلی (بومی) ممکن است بهتر به شرایط محیطی سازگاری پیدا کنند و به همین دلیل دارای زهرآگینی بالای نسبت به جدایه‌های غیر بومی می‌باشند. همچنین نتایج LT₅₀ بیانگر رابطه معکوس بین زمان آزمایش و افزایش غلظت می‌باشد که با نتایج به Feng *et al.* (1990) و Dorschner *et al.* (1991) منطبق می‌باشد. با توجه به اینکه در بحث زهرآگینی قارچ‌های بیمارگر زمان نقش مؤثری را بازی می‌کند و از طرف دیگر هر چه LT₅₀ و LC₅₀ کمتر باشد آن جدایه از نظر کنترل بیولوژیک و همچنین از نظر اقتصادی حائز اهمیت بیشتری می‌باشد. در بررسی‌های انجام شده در هیچ منبعی زهرآگینی بالایی برای قارچ M. anisopliae بر علیه شته‌ها مشاهده نشد و این اولین گزارشی است که قارچ M. anisopliae جدایه DEMI001 توانسته با کمترین LT₅₀ و LC₅₀ جمعیت شته روسی گندم را کنترل نماید. که این خود امید جدیدی در راه تولید انبوه و فرموله کردن این جدایه و گامی در رسیدن به اهداف کنترل بیولوژیک می‌باشد.

سپاسگزاری

نویسنده‌گان از مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور بخصوص بخش تحقیقات حشره‌شناسی کشاورزی به جهت حمایت‌های مالی و آزمایشگاهی در مراحل مختلف اجرای این تحقیق مرتب تشکر خود را ابراز می‌دارند.

جدایه سراوان (DEMI001) زهرآگینی بیشتری نسبت به دیگر جدایه‌ها نشان داد (LC₅₀) برابر با ۱۰×۱۷٪ کنیدی در میلی‌لیتر. در حالی که در جدایه DEMI002 (LC₅₀) برابر ۱۰×۲۵٪ کنیدی در میلی‌لیتر حاصل شد. Vestergaard (1995)، بیمارگری Lecanicillium lecanii (Zimm.) (V. lecanii) گل بررسی کرد. در میان جدایه‌های جنس L. lecanii جدایه‌ای از دو جنس (M. anisopliae) را روی تریپس غربی (Thripidae) به دست آمده بود، کمترین بیمارگری را در بین جدایه‌ها نشان داد، در حالی که بیشترین بیمارگری مربوط به جدایه‌ای جدا شده از Lepidoptera بود که LC₅₀ برابر با ۱۰×۳٪ اسپور در میلی‌لیتر را در روز پنجم آزمایش و LT₅₀ مساوی با ۴/۵ روز را در غلظت ۱۰٪ اسپور در میلی‌لیتر را نشان داد. Hemmati *et al.* (2002) تأثیر قارچ M. anisopliae روی شته مومی کلزا (Brevicoryne brassicae) در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه به این نتیجه رسیدند که غلظت ۱۰٪ اسپور بر میلی‌لیتر از قارچ مورد نظر بعد از سه روز باعث مرگ و میر بیش از ۹۰٪ از جمعیت شته‌ها می‌شود و LT₅₀ ۱۰×۳/۲٪ اسپور بر میلی‌لیتر و LT₅₀ برای غلظت ۱۰٪ اسپور بر میلی‌لیتر، ۵/۷۶-۵/۷۱ روز محاسبه گردید و نتایج مرگ و میر حاصله از آلوگی قارچ در گلخانه کمتر از نتایج آزمایشگاهی بود.

Humber & Poprawski (1994) در بررسی اثر M. flavoviridae M. anisopliae B. bassiana Paecilomyces (V. Lecanii) L. lecanii Cacopsylla fumosoroseus pyricola میزان مرگ و میر از ۴۲/۳-۵۴٪ تا ۹۶/۵٪ در طی هفت روز در غلظت ۱۰٪ اسپور بر میلی‌لیتر تعیین نمودند که Metarhizium SP. کمترین زهرآگینی نسبت به سایر جدایه‌های مورد آزمایش در این تحقیق بود. طبق فرضیه ارتباط جدید (Hokkanen & Pimentel, 1984, 1989) انگل‌ها روی میزان‌هایی که با آنها سابقه ارتباط طولانی و برهمنکش نداشته‌اند با قدرت بیشتری عمل می‌کنند و قادرند آنها را با سهولت بیشتری کنترل نمایند که این امر به دلیل

REFERENCES

1. Dorschner, K. W., Feng, M. & Baird, C. R. (1991). Virulence of an aphid derived isolate of *Beauveria bassiana* (Fungi: Hyphomycetes) to the hop aphid, *Phorodon humuli* (Homoptera: Aphididae). *Environmental Entomology*, 20, 690–693.
2. Ekesi, S., Maniania, N. K., Onu, I. & Löhr, B. (1998). Pathogenicity of entomopathogenic fungi (Hyphomycetes) to the legume flower thrips, *Megalurothrips sjostedti* (Trybom) (Thys.: Thripidae). *Journal of Applied Entomology*, 122, 629-634.
3. Feng, M. G., Johnson, J. B. & Kish, L. P. (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.
4. Feng, M. G., Johnson, J. B. & Kish, L. P. (1990). Survey of entomopathogenic fungi naturally infecting cereal aphids (Hom.: Aphididae) of irrigated grain crops in southwestern Idaho. *Environmental Entomology*, 19, 1534-1542.
5. Feng, M. G. & Johnson, J. B. (1990). Relative virulence of six isolates of *Beauveria bassiana* on *Diuraphis noxia* (Homop: Aphididae). *Environmental Entomology*, 19, 785-790.
6. Ghazavi, M., Kharazi pakdel, A., Ershad, J. & Bagheri, E. (2002). Efficacy of Iranian isolates of *Beauveria bassiana* against *Locusta migratoria* (Orthoptera: Acrididae). *Applied Entomology Phtopathology*, 69(2), 143-125. (In Farsi)
7. Goettel, M. S., Poprawski, T. J., Vandenberg, J. D., Li, Z. & Roberts, D. W. (1990). Safety of microbial insecticides. In: M. Laird, L. Lacey, & E. W. Davidson (Ed.), *Safety to nontarget invertebrates of fungal biocontrol agents*. (pp 209-231). CRC Press. Boca Raton.
8. Gustafsson, M. (1971). Microbial control of insects and mites. In M. D. Burges, N. W. Hussey (Ed.), *Microbial control of aphids and scale insects*. (pp. 861). Academic Press: London.
9. Hatting, J. L., Wraight, S. P. & Miller, R. M. (2004). Efficacy of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes) for control of Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) on resistant wheat under field conditions. *Biocontrol Science and Technology*, 14(5), 459 - 473.
10. Hemmati, F., Farrokhi, S. & Mehrabi, A. (2002). Efficacy of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* on *Brevicoryne brassicae* on rapeseed in the laboratory and greenhouse conditions. In: Proceedings of the 15th Iranian Plant Protection Congress. Kermanshah, Iran. P. 59. (In Farsi).
11. Hokkanen, H. & Pimentel, D. (1989). New associations in biological control: theory and practice. *Journal of Canadian Entomologist*, 121, 829-839.
12. Kim, J. J. & Kim, K. C. (2008). Selection of a highly virulent isolate of *Lecanicillium attenuatum* against cotton aphid. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 11, 1-4.
13. Majani, T. D. & Rezwani, A. (1995). Surveys on the wheat aphids and their proportional densities in Gorgan region. In: Proceedings of the 12th Iranian Plant Protection Congress. Karaj, Iran. P. 9. (In Farsi).
14. Puterka, G. J., Humber, R. A. & Poprawski, T. J. (1994). Virulence of Fungal Pathogens (Imperfect Fungi: Hyphomycetes) to pear psylla (Homoptera: Psyllidae). *Environmental Entomology*, 23(2), 514-520.
15. Rezwani, A. (2001). *Key to the aphids (Homoptera; Aphidines) in Iran*. Ministry of Jihad-e- Agriculture Agricultural Research, Education and Extension Organization. 169. (In Farsi).
16. Sajadi Naeeni, M. (2003). *Brief pathogenic factors and pest control in wheat in farm years 2001-2002 & 2002-2003*. Plant Protection Organization. (In Farsi).
17. Vuu, Hanh., Hong, S. I. & Kim, K. (2007). Selection of entomopathogenic fungi for aphid control. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 104(6), 498-505.
18. Vestergaard, S. (1995). Pathogenicity of the Hyphomycete fungi *Verticillium lecanii* and *Metarhizium anisopliae* to the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Biocontrol Science and Technology*, 5(2), 185-192.