تحقیقات آفات گیاهی
۱۴-۱ :(۱) ۸- ۱۳۹۷

بررسی میزان سازگاری برخی از اسانس‌های گیاهی با قارچ بیمارگر حشرات *Beauveria bassiana* علیه سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات *Callosobruchus maculatus* (Col.: Bruchidae)

رحیمه حسین‌زاده[۱]، علی مهرور[۱*]، ناصر عیوضیان‌کاری[۱] و حسن ولی‌زاده[۲]

۱- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ۲- گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز

(تاریخ دریافت: ۹۶/۱۰/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱/۱۸)

چکیده

به‌منظور ارزیابی میزان سازگاری چند اسانس گیاهی با قارچ بیمارگر حشرات *Beauveria bassiana* در کاربرد توأم علیه سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات، این پژوهش طراحی و اجرا شد. تاثیر کشندگی سه اسانس شامل جعفری *Petroselinum sativum*، مرزه سهندی *Satureja sahendica* و گلپر ایرانی *Heracleum persicum* روی حشرات کامل *Callosobruchus maculatus* ارزیابی شد. هم‌چنین میزان فعالیت زیستی دو جدایه IS-1 و IS-75 از قارچ *B. bassiana* در کنترل آفت به‌صورت جدا و نیز در درتلفیق با اسانس‌های فوق مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد در بین اسانس‌های گیاهی، اسانس مرزه سهندی سمی‌ترین ترکیب روی حشرات کامل بوده و جدایه IS-75 قارچ در کاربرد به‌صورت تنها، زهرآگینی بیش‌تری نسبت به جدایه IS-1 دارد. نتایج مربوط به درصد بازدارندگی از اسپورزایی و رشد میسلیومی قارچ نشان داد اسانس جعفری با ۱۰۰ درصد بازدارندگی به‌طور کامل مانع از رشد رویشی و اسپورزایی این قارچ شد و اسانس مرزه سهندی با ۲۴ درصد بازدارندگی سازگاری بیش‌تری نسبت به دو اسانس دیگر با قارچ عامل بیمارگر داشت. کاربرد توأم هر سه اسانس گیاهی و قارچ IS-75 در غلظت‌های کشنده و زیرکشنده نشان داد که اسانس گلپر ایرانی کم‌ترین مقدار LT_{50} در اختلاط با این قارچ را دارد. برهمکنش اسانس- بیمارگر در اختلاط غلظت‌های زیرکشنده هر یک از اسانس‌های گیاهی با جدایه IS-75 قارچ نشان داد که فقط اختلاط مقادیر LC_{25} هر یک از عوامل دارای اثر هم‌افزایی در افزایش درصد مرگ و میر در جمعیت حشرات کامل بوده و سایر اختلاط‌های زیرکشنده، دارای اثرات تجمعی و یا آنتاگونیستی بودند.

واژه‌های کلیدی: اسانس‌های گیاهی، قارچ بیمارگر حشرات، نسبت هم‌افزایی، سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات

* نویسنده مسئول: ac.mehrvar@azaruniv.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات *Callosobruchus maculates* F. یکی از آفات انباری است که در بیش‌تر نقاط دنیا دیده می‌شود. این حشره آفتی چندخوار است که از دانه‌های لوبیا، نخود، ماش، عدس، باقلا و سایر حبوبات تغذیه می‌کند. خسارت این آفت در ایران روی دانه‌های لوبیا چشم‌بلبلی گاهی به اندازه‌ای شدید است که در مدت کوتاهی تمام محصول را از بین می‌برد. لارو این آفت با سوراخ کردن بذرها باعث کاهش بازارپسندی و قدرت جوانه‌زنی دانه‌های آسیب دیده می‌شود. بیش از ۹۰ درصد خسارت وارده به لوبیا چشم بلبلی از طریق تغذیه سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات ایجاد می‌شود (Pascual-Villalobos and Ballesta-Acosta, 2003).

برای کنترل آفات انباری، بیش‌تر از سموم شیمیایی تدخینی و گاهی مواد رادیواکتیو استفاده می‌شود که هر دو تاثیر جبران‌ناپذیری بر انسان و محیط زیست دارند (Lee *et al.*, 2001). امروزه کنترل بیولوژیک به‌عنوان راه‌کاری برای حل مسئله کاربرد وسیع آفت‌کش‌های شیمیایی محسوب می‌شود (Tajick Ghanbalani *et al.*, 2009). قارچ‌های بیمارگر حشرات میزبان‌های خود را از طریق جلد بدنشان مورد هجوم قرار می‌دهند و از طریق کاهش متابولیت‌های میزبان، تولید مواد سمی، تخریب بافت‌ها و یا هر سه این موارد، باعث مرگ میزبان می‌شوند (Tanada and Kaya, 1993).

از طرف دیگر یکی از منابع بالقوه برای تولید آفت‌کش‌های جدید، ترکیبات تولید شده به‌وسیله گیاهان می‌باشند. اسانس‌های استخراج شده از گیاهان به طور معمول در طبیعت زودتر تجزیه می‌شوند، بنابراین برای انسان و سایر پستانداران سمیت کم‌تری دارند و اثرهای مخرب کمی در محیط زیست بر جای می‌گذارند (Park *et al.*, 2003; Isman, 2000, 2006). با توجه به این‌که کاربرد ترکیبات شیمیایی مستخرج از گیاهان در کنترل آفات گیاهی امری اجتناب‌ناپذیر بوده و تاثیر مناسب این گروه از مواد شیمیایی روی آفات انگیزه پژوهشگران را برای تحقیق و مطالعه در این زمینه بیش‌تر می‌نماید، از این رو، بررسی‌های بسیار وسیعی در جهان توسط پژوهشگران مختلف روی میزان و نحوه اثر اسانس‌های گیاهی علیه آفات مختلف صورت گرفته است (Huixing *et al.*, 1998; Tong, 2010; Abbasipour *et al.*, 2011; Ajayi *et al.*, 2011; Khani and Asghari, 2011; Jibrin *et al.*, 2013).

در خصوص قابلیت اختلاط اسانس‌ها با عوامل کنترل میکروبی در کاربرد توأم علیه آفات هنوز بررسی‌های زیادی بایستی انجام بگیرد. با توجه به ضرورت استفاده از جایگزین‌های مناسب برای سموم شیمیایی و نیز اهمیت کنترل تلفیقی آفات، در این پژوهش اثر سمیت تنفسی و بازدارندگی اسانس بذر جعفری *Petroselinum sativum* (Hoffmann)، شاخسار مرزه سهندی *Satureja sahendica* (Bornm.) و بذر گلپر ایرانی *Heracleum persicum* (Desf.) در کاربرد توأم با قارچ بیمارگر حشرات *Beauveria bassiana* روی سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات مورد بررسی قرار گرفت تا میزان سازگاری و تعامل این دو عامل کنترل‌گر حشرات در مدیریت تلفیقی آفات مورد ارزیابی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

پرورش سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات

برای پرورش سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات در آزمایشگاه، به انبارهای آلوده در شهر تبریز مراجعه شد و لوبیاهای آلوده به این آفت جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. پس از شناسایی گونه سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات بر اساس منابع موجود و در دسترس اقدام به پرورش انبوه آن‌ها روی دانه‌های لوبیا چشم‌بلبلی شد. تمام مراحل پرورش این حشره در انسکتاریوم با دمای ۲±۲۸ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۵۰ ٪ و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شد.

Archive of SID

www.SID.ir

تهیه اسانس

شاخسار گیاه مرزه سهندی از دامنه‌های کوه سهند واقع در شهرستان مراغه (عرض شمالی °۳۷/۳۸۹۱۹۷، طول شرقی °۴۶/۲۵۳۳۸۸، ارتفاع از سطح دریا ۱۴۷۴/۰۱ متر) و بذرهای گیاه گلپر ایرانی از شهرستان رامسر (عرض شمالی °۳۶/۹۲۶۸۲۷، طول شرقی °۵۰/۶۴۳۰۶۶، ارتفاع از سطح دریا ۱۲/۴۹ متر) جمع‌آوری شدند. بذرهای جعفری از سال دوم گیاه و از منطقه حکم‌آباد تبریز (عرض شمالی °۳۸/۰۹۱۷۳۶، طول شرقی °۴۶/۲۵۱۲۸۳، ارتفاع از سطح دریا ۱۳۵۶/۶۶ متر) جمع‌آوری شدند. گل‌ها و اندام‌های گل‌دهی خشک شده گیاه مرزه سهندی و بذرهای گلپر ایرانی و جعفری توسط یک آسیاب برقی پودر شده و مخلوطی یکنواخت و همگن از هر گیاه به دست آمد. مقدار ۱۰۰ گرم از هر یک از پودرهای گیاهی به طور مجزا همراه با یک لیتر آب داخل بالن شیشه‌ای دستگاه کلونجر ریخته شد و عمل تقطیر در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۳ ساعت انجام گرفت. روغن اسانس هر یک از گیاهان توسط ۱ میلی‌لیتر هگزان به عنوان حلال استخراج شد. روغن اسانس به دست آمده با کمک سولفات‌سدیم آب‌گیری شده و تا زمان استفاده در ظروف شیشه‌ای با روپوش آلومینیومی در دمای یخچال نگهداری شد (Hassanpouraghdam *et al.*, 2009).

ارزیابی اثر اسانس روی حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات

برای تعیین تاثیر تدخینی اسانس‌های گیاهان جعفری، گلپر و مرزه سهندی به‌ترتیب غلظت‌های ۱۵۱/۵، ۳۰۳، ۴۵۴/۵، ۶۰۶ و ۷۵۷/۵ میکرولیتر بر لیتر هوا، ۶۰/۶، ۱۲۱/۲، ۱۸۱/۸، ۲۴۲/۴ و ۳۶۳/۶ میکرولیتر بر لیتر هوا و ۶/۰۶، ۱۲/۱۲، ۱۸/۱۸، ۲۴/۲۴ و ۳۰/۳۰ میکرولیتر بر لیتر هوا استفاده شد. کاغذ صافی به قطر سه سانتی‌متر را داخل درپوش ظرف شیشه‌ای به حجم ۳۰ میلی‌لیتر تعبیه کرده و روی هر قطعه کاغذ، غلظت مورد نظر توسط سرنگ همیلتون ریخته شد. برای نمونه شاهد از هیچ ماده‌ای استفاده نشد. در هر ظرف تعداد ۱۰ سوسک کامل ماده با عمر یک تا سه روزه قرار داده شد و پس از بستن درپوش ظرف، اطراف آن با نوار پارافیلم جهت جلوگیری از خروج بخار اسانس به بیرون پوشانده شد. نمونه‌ها در انسکتاریوم با دمای ۲±۲۸ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۵۰ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند. پس از گذشت ۳، ۶، ۹ و ۲۴ ساعت از اسانس‌دهی، تعداد حشرات مرده شمارش و ثبت شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و در ۳ تکرار انجام گرفت.

تهیه جدایه‌های قارچ *B. bassiana* و سوسپانسیون قارچ

دو جدایه IS-1 و IS-75 از کلکسیون قارچ‌های بیمارگر حشرات گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان تهیه و در محیط کشت سابارود دکستروز آگار همراه با عصاره‌ی مخمر[1] تکثیر شد. برای تهیه سوسپانسیون قارچ از محیط‌های کشت ۲۰-۱۵ روزه استفاده شد و تعیین غلظت سوسپانسیون با شمارش اسپور توسط لام نئوبار صورت گرفت. پس از انجام آزمایش‌های مقدماتی تعداد شش غلظت اسپوری (1×10^{2}، 1×10^{3}، 1×10^{4}، 1×10^{5}، 1×10^{6} و 1×10^{7} اسپور در میلی‌لیتر) از هر جدایه انتخاب شد.

ارزیابی اثر جدایه‌های قارچ روی حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات

به‌منظور برآورد میزان زهرآگینی دو جدایه از قارچ *B. bassiana* از روش چری و همکاران (Cherry *et al.*, 2005) استفاده شد. پس از تهیه غلظت‌های اسپوری مورد نظر محتوی ۰/۰۱ درصد توین-۸۰، برای هر تکرار تعداد ۱۰ حشره کامل ماده با عمر یک تا سه روزه به مدت ۴ ثانیه در سوسپانسیون قارچی غوطه‌ور شدند. حشرات شاهد فقط در آب مقطر محتوی ۰/۰۱ درصد توین-۸۰ غوطه‌ور شدند. جهت آب‌گیری و خشک شدن بدن حشرات، ابتدا حشرات تیمار شده به داخل ظروف پتری استریل حاوی کاغذ صافی منتقل شدند و

[1] Sabouraud Dextrose Agar with Yeast (SDAY)

Archive of SID

www.SID.ir

سپس به شیشه‌های ۳۰ میلی‌لیتری دارای ۵ گرم لوبیا چشم‌بلبلی انتقال یافته و در انکوباتور با دمای ۱±۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. مرگ و میر حشرات به طور روزانه و به مدت ۷ روز ثبت شد. به‌منظور تأیید علت مرگ، ابتدا حشرات مرده جداسازی شده و به‌طور سطحی با اتانول ۷۰ درصد استریل شدند. سپس خشک شده و داخل پتری‌های استریل انتقال یافتند که از قبل کف آن‌ها با کاغذ صافی استریل و مرطوب پوشیده شده بود. اطراف ظروف پتری توسط نوار پارافیلم پوشانیده شد و ظروف در داخل دسیکاتور به مدت ۷ روز نگهداری شدند. در مواردی که رشد قارچی روی حشرات مرده مشاهده می‌شد، قارچ مذکور زیر میکروسکوپ بررسی و آلودگی توسط *B. bassiana* تأیید می‌شد.

بررسی اثر اسانس‌ها روی رشد رویشی و تولید اسپور قارچ *B. bassiana*

جدایه IS-75 از قارچ *B. bassiana* که در آزمایش‌های زیست‌سنجی کم‌ترین مقدار LT_{50} از نظر عددی و نیز بالاترین درصد جوانه‌زنی (بیش از ۹۰٪) را داشت انتخاب شد. غلظت-های انتخابی معادل مقادیر LC_{25} و LC_{50} به ترتیب ۸×۱۰^{۲} و $۱/۳\times۱۰^{۴}$ اسپور در میلی‌لیتر زهرآگینی تماسی قارچ علیه حشرات کامل ماده بود. هم‌چنین، اسانس‌ها در بالاترین غلظت کشندگی برای سوسک چهارنقطه‌ای که به‌ترتیب برای جعفری، گلپر و مرزه سهندی برابر با ۷۵۷/۵، ۳۶۳/۶ و ۳۰/۳ میکرولیتر بر لیتر هوا بود، در نظر گرفته شدند.

ارزیابی میزان رشد رویشی قارچ در اختلاط با اسانس‌ها

کشت دادن و تکثیر قارچ زیر دستگاه هود استریل و در کنار شعله چراغ گاز انجام گرفت. تمام وسایل از جمله سوزن کشت استریل شده و سپس ظروف پتری در کنار شعله قرار گرفته و کشت صورت گرفت. برای جلوگیری از آلودگی‌های احتمالی، اطراف ظروف پتری به‌وسیله نوار پارافیلم پوشانده شدند. تاریخ کشت و نیز مشخصات مربوط به جدایه قارچ روی آن ثبت شد. سپس اسانس‌ها در غلظت‌های ذکر شده توسط سرنگ همیلتون روی کاغذهای صافی به قطر ۶ سانتی‌متر تعبیه شده درون درپوش ظروف پتری ریخته شد. در ظروف پتری شاهد از هیچ ماده‌ای استفاده نشد. به‌منظور جلوگیری از آلودگی‌های احتمالی و نیز تبخیر اسانس، اطراف درپوش ظروف با نوار پارافیلم مسدود شد. ظروف در انکوباتور با دمای ۱±۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. پس از گذشت ۱۵ روز رشد رویشی قارچ در ظروف پتری با استفاده از خط‌کش در دو قطر عمود بر هم اندازه‌گیری شد (Neves *et al.*, 2001; Faraji *et al.*, 2016). تمام آزمایش‌ها در ۳ تکرار انجام شد. با استفاده از فرمول زیر، درصد بازدارندگی رشد رویشی قارچ محاسبه شد:

$$I = \frac{C - T}{C} \times 100$$

که در آن، I[۲] درصد بازدارندگی از رشد رویشی، C رشد رویشی کلنی در شاهد به سانتی‌متر و T رشد رویشی کلنی در تیمارها به سانتی‌متر است. طبق پیشنهاد نوس و همکاران (Neves *et al.*, 2001) مقادیر مختلف I به قرار زیر خواهند بود:

۰-۳۰: خیلی سمی، ۳۱-۴۵: سمی، ۴۶-۶۰: سمیت متوسط، ۶۰< سازگار و I: ناسازگار

ارزیابی میزان تولید اسپور

به منظور شمارش اسپور تولیدی در هر کدام از تیمارها، دایره‌ای به قطر ۱۰ میلی‌متر از هر کدام از ظروف پتری بریده شده و به طور جداگانه داخل شیشه‌های کوچک ریخته شدند. ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل حاوی توین-۸۰ به آن اضافه شده و به منظور جداسازی زنجیره اسپوری و نیز جدا شدن اسپورها از رشته‌های هیفی، لوله‌ها به مدت ۵ دقیقه توسط ورتکس به هم زده شدند. تعیین غلظت سوسپانسیون به‌وسیله لام نئوبار انجام گرفت. سپس با استفاده از فرمول زیر مقدار T (مقدار تصحیح شده رشد رویشی و زایشی قارچ) محاسبه شد (Faraji *et al.*, 2016):

[۲] Incompatible

Archive of SID

www.SID.ir

$$T=\frac{20(VG)+80(SP)}{100}$$

در این رابطه VG و SP به ترتیب برابر با درصد رشد رویشی و درصد اسپورزایی در مقایسه با شاهد می‌باشد. سپس با توجه به مقدار T درجه سازگاری اسانس‌ها تعیین شد.

ارزیابی کاربرد توأم اسانس‌های گیاهی و جدایه IS-75 قارچ *B. bassiana*

الف) ارزیابی اختلاط اسانس‌ها و قارچ بیمارگر از بدو آزمایش

به منظور انجام این آزمایش اختلاط‌هایی بین مقادیر LC_{25} و LC_{50} قارچ مورد استفاده و نیز مقادیر LC_{25} و LC_{50} اسانس‌های جعفری، گلپر و مرزه سهندی به منظور تعیین اثر متقابل قارچ و اسانس‌های گیاهی انجام گرفت. برای این منظور، زیست‌سنجی روی حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای با عمر ۱ تا ۳ روز به روش غوطه‌وری انجام گرفت. حشرات تیمار شده درون ظروف شیشه‌ای حاوی ۵ گرم لوبیا چشم‌بلبلی انتقال یافتند. سپس غلظت‌های مورد نظر از اسانس‌های گیاهی، روی کاغذ صافی تعبیه شده در درون درپوش ظروف شیشه‌ای ریخته شده و درپوش آن‌ها بسته شد. برای جلوگیری از خروج بخار اسانس، اطراف درپوش ظروف با نوار پارافیلم پوشانیده شد. آزمایش‌ها در ۳ تکرار و به همراه تیمار شاهد صورت گرفت. مرگ و میر حشرات ۳، ۶، ۹ و ۲۴ ساعت پس از تیمار و سپس به طور روزانه به مدت ۷ روز ثبت شد.

ب) ارزیابی اختلاط اسانس‌ها از زمان LT_{50} قارچ

به منظور فرصت‌دهی بیش‌تر برای رشد اولیه قارچ بیمارگر حشره قبل از مواجهه با اسانس و نیز امکان مقایسه با اختلاط هر دو عامل (اسانس و قارچ) از ابتدای آزمایش علیه آفت، آزمایش دیگری بر این اساس طرح‌ریزی شد. برای این منظور، زیست‌سنجی‌ها شبیه روش قبلی و با توجه به مقادیر LC_{25} و LC_{50} به دست آمده انجام گرفتند با این تفاوت که اسانس‌های گیاهی در غلظت‌های مورد نظر در زمان LT_{50} قارچ به شیشه‌های محتوی حشرات تیمار شده اضافه شدند. مرگ و میر حشرات تا قبل از زمان افزوده شدن اسانس‌ها به طور روزانه و پس از آن، بعد از گذشت ۳، ۶، ۹ و ۲۴ ساعت پس از تیمار با اسانس ثبت شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

پس از ثبت داده‌های مرگ و میر در تیمارها و تکرارهای صورت گرفته، ابتدا درصدهای مرگ و میر به وسیله فرمول ابوت (Abbott, 1925) تصحیح شد. سپس از داده‌های به دست آمده در مدل زیست‌سنجی استفاده شد. تجزیه واریانس‌ها و مقایسه میانگین‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شدند. مقادیر غلظت‌های کشنده و زیرکشنده (LC_{25} و LC_{50}) با تجزیه پروبیت در نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ به‌دست آمدند. مقادیر LT_{50} جدایه‌های بررسی شده در غلظت‌های مورد آزمایش نیز پس از محاسبه میزان مرگ و میر روزانه در نرم‌افزار SPSS 22 محاسبه شد.

برای تعیین نوع برهمکنش اسانس-بیمارگر برای هر یک از اسانس‌های گیاهی و قارچ بیمارگر حشره، طبق فرمول زیر نسبت هم‌افزایی (سینرژیستی)[۳] (SR) محاسبه شد (Ebadollahi *et al.*, 2017):

$$SR=\frac{Ex}{Ob}=\frac{A+B}{(A+B)}$$

در این رابطه، A و B درصدهای مرگ و میر اصلاح شده به ترتیب توسط اسانس و قارچ درغلظت‌های LC_{25} + LC_{25}، LC_{25} + LC_{50}، LC_{50} + LC_{25} و LC_{50} + LC_{50} هستند که در حشرات کامل ماده سوسک چهارنقطه‌ای ایجاد کرده‌اند. A+B و (A+B) هم به ترتیب درصد مرگ و میر موردانتظار[۴] (*Ex*) و مشاهده‌شده[۵] (*Ob*) می‌باشند. مقدار SR محاسبه شده اگر کم‌تر از ۰/۷ باشد برهمکنش از نوع هم‌افزایی، اگر در حدفاصل ۱/۸-۰/۷ باشد

[۳] Synergistic Ratio

[۴] Expected (*Ex*)

[۵] Observed (*Ob*)

Archive of SID

www.SID.ir

برهمکنش تجمعی و اگر بیش‌تر از ۱/۸ باشد برهمکنش متضاد (آنتاگونیستی) خواهد بود (Ebadollahi *et al.*, 2017).

نتایج

ارزیابی اسانس‌های گیاهی علیه حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات

نتایج بررسی حساسیت حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای نسبت به اسانس‌های جعفری، گلپرایرانی و مرزه سهندی در جدول ۱ نشان داده شده است. با توجه به عدم هم‌پوشانی بین مقادیر LC_{50} بین سمیت اسانس‌ها اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد. در این آزمایش، اسانس مرزه سهندی نسبت به دو اسانس دیگر سمی‌ترین ترکیب روی حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای شناخته شد، به طوری که سمیت تدخینی آن ۲۱/۷۸ برابر اسانس جعفری در این آزمایش محاسبه شد (جدول ۱). با این حال، مقایسه مقادیر میانگین زمان کشندگی نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین اسانس‌های مورد آزمایش وجود ندارد اما از نظر عددی، اسانس جعفری در کوتاه‌ترین زمان توانست ۵۰ درصد از جمعیت حشرات کامل این آفت را از بین ببرد (جدول ۲).

جدول ۱- تجزیه پروبیت واکنش‌های غلظت-کشندگی برای سمیت تدخینی اسانس‌های جعفری، گلپر ایرانی و مرزه سهندی روی حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات بعد از ۲۴ ساعت

Table 1. Probit analysis of concentration-mortality responses of fumigant toxicity of *Petroselinum sativum*, *Heracleum persicum* and *Satureja sahendica* essential oils against the adults of *Callosobruchus maculatus* after 24 h

Essential oil	No. of adults	Slope (β)	χ^2 (df=4)	LC_{50} (µL/L air) (Fiducial limits)	Relative activity*
Petroselinum sativum	150	0.21	2.53^{ns}	488.44 (292.39-593-58)	1.00
Heracleum persicum	150	0.34	4.68^{ns}	227.25 (162.11-299.97)	2.15
Satureja sahendica	150	4.99	3.54^{ns}	22.42 (16.66-27.27)	21.78

ns: non-significant at $P>0.05$. *All lines were compared with the highest level of LC_{50} value (Shapiro and Argauer, 2001).

جدول۲- تجزیه پروبیت واکنش‌های زمان-کشندگی اسانس‌های جعفری، گلپر ایرانی و مرزه سهندی روی حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات بعد از ۲۴ ساعت

Table 2. Probit analysis of time-mortality responses of *Petroselinum sativum*, *Heracleum persicum* and *Satureja sahendica* essential oils against the adults of *Callosobruchus maculatus* after 24 h

Essential oil	Concentration (µL/L air)	Corrected mortality±SE (%)	LT_{50} (h) (Fiducial limits)	χ^2 (df=4)	Relative activity*
Petroselinum sativum	757.5	59.1±0.4a	10.91 (4.93-20.63)	4.14^{ns}	1.36
Heracleum persicum	363.6	57.5±0.4ab	12.63 (4.67-23.33)	4.44^{ns}	1.18
Satureja sahendica	30.3	53.3±0.6b	14.89 (7.47-24.08)	5.12^{ns}	1.00

Means followed by the same letter in a column are not significantly different ($p\leq0.05$) by DMRT. *All lines were compared with the highest level of LT_{50} value (Shapiro and Argauer, 2001).

Archive of SID

www.SID.ir

ارزیابی جدایه‌های IS-1 و IS-75 قارچ *B. bassiana* علیه حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات

نتایج به دست آمده از این آزمایش بیانگر این است که هر دو جدایه به کار رفته از قارچ *B. bassiana* روی حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای مؤثر بوده و ایجاد بیماری می‌کنند، اما تفاوت معنی‌داری در بیماریزایی دو جدایه وجود دارد. مقدار LC_{50} جدایه IS-75 به میزان ۱/۶ برابر زهرآگین‌تر از جدایه IS-1 محاسبه شد (جدول ۳). هم‌چنین این جدایه LT_{50} کم‌تری نسبت به جدایه IS-1 نشان داد (جدول ۴). از این‌رو، جدایه IS-75 برای ادامه مطالعات روی سازگاری اسانس‌ها و قارچ بیمارگر انتخاب شد.

اثر اسانس‌های گیاهی روی رشد رویشی و تولید اسپور قارچ *B. bassiana*

بررسی سازگاری جدایه IS-75 قارچ *B. bassiana* با اسانس‌ها نشان داد که هر سه اسانس مورد آزمایش در بالاترین غلظت دارای بازدارندگی در رشد رویشی این جدایه بودند. در بین اسانس‌ها، اسانس جعفری بازدارنده کامل رشد میسلیومی قارچ بود و پس از آن گلپر ۲۵ درصد و مرزه سهندی ۲۴ درصد بازدارندگی رشد میسلیومی را نشان دادند. به عبارتی هر سه اسانس برای قارچ بیمارگر در محدوده خیلی سمی و در گروه ناسازگار (I) قرار گرفتند. هم‌چنین تولید اسپور نیز در همه تیمارها تحت تأثیر قرار گرفت. با این حال، اسانس مرزه سهندی کم‌ترین بازدارندگی را در میزان رشد رویشی قارچ و تولید اسپور نشان داد (جدول ۵).

جدول ۳- تجزیه پروبیت واکنش‌های غلظت-کشندگی جدایه‌های IS-1 و IS-75 قارچ *Beauveria bassiana* علیه حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات در مدت ۷ روز

Table 3. Probit analysis of concentration-mortality responses of IS-1 and IS-75 isolates of *Beauveria bassiana* against the adults of *Callosobruchus maculatus* during 7 days

Fungus	Slope (β)	χ^2 (df=3)	LC_{50} (spore/mL) (Fiducial limits)	LC_{25} (spore/mL) (Fiducial limits)	Relative activity*
B. bassiana (IS-1)	0.17	1.09^{ns}	8.2×10^3 (1.6×10^2-8.6×10^4)	1.5×10^2 (1.06-2.4×10^3)	1.60
B. bassiana (IS-75)	0.24	1.09^{ns}	1.3×10^4 (1.1×10^3-8.2×10^4)	8×10^2 (6.05-5.8×10^3)	1.00

ns: non-significant at $P>0.05$. *All lines were compared with the highest level of LC_{50} value (Shapiro and Argauer, 2001).

جدول ۴- تجزیه پروبیت واکنش‌های زمان-کشندگی جدایه‌های IS-1 و IS-75 قارچ *Beauveria bassiana* علیه حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات در غلظت ۱×۱۰^{۷} اسپور در میلی‌لیتر

Table 4. Probit analysis of time-mortality responses of IS-1 and IS-75 isolates of *Beauveria bassiana* against the adults of *Callosobruchus maculatus* at 1×10^7 spore/mL

Fungus	Corrected mortality±SE (%)	LT_{50} (Day) (Fiducial limits)	χ^2 (df=3)	Relative activity*
B. bassiana (IS-1)	87.0±0.01b	6.31 (5.25-10.55)	3.38^{ns}	1.15
B. bassiana (IS-75)	97.0±0.01a	5.66 (4.93-7.24)	4.01^{ns}	1.00

Means followed by the same letter in a column are not significantly different ($p\leq0.05$) by DMRT. *All lines were compared with the highest level of LT_{50} value (Shapiro and Argauer, 2001).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۵- گروه‌بندی اسانس‌های جعفری، گلپر ایرانی و مرزه سهندی بر اساس مقادیر T روی جدایه IS-75 قارچ *Beauveria bassiana*

Table 5. Classification of *Petroselinum sativum*, *Heracleum persicum* and *Satureja sahendica* essential oils based on T values on IS-75 isolate of *Beauveria bassiana*

Essential oil	Concentration (µL/L air)	Mycelial growth (cm)	Inhibition of sporulation (%)	T value*	Compatibility index
Petroselinum sativum	757.5	0.00a	100.00a	0.00	I
Heracleum persicum	363.6	2.62b	25.00b	19.90	I
Satureja sahendica	30.3	2.67b	24.00b	25.00	I
Check treatment	0.00	3.50c	0.00c	100.00	-

Means followed by the same letter in a column are not significantly different ($p \leq 0.05$) by DMRT. *: 0-30: very toxic, 31-45: toxic, 46-60: moderate toxicity, >60: compatible. ** I: incompatible (Neves *et al*., 2001)

اختلاط اسانس‌های گیاهی با جدایه IS-75 قارچ *B. bassiana*

نتایج ارزیابی اختلاط از بدو آزمایش بین مقادیر LC_{25} و LC_{50} قارچ IS-75 و اسانس‌های مورد استفاده در جدول ۶ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهند که در صورت اختلاط هر یک از غلظت‌های مورد نظر در آزمایش‌ها تا ۷ روز پس از آزمایش در تمامی تیمارها بیش از ۷۰ درصد حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات از بین رفتند. این در حالی است که در کاربرد به تنهایی قارچ در بالاترین غلظت ۱×۱۰^{۷} اسپور در میلی‌لیتر پس از ۵/۶۶ روز تنها ۵۰ درصد جمعیت حشرات کامل از بین رفتند (جدول ۴). این موضوع در مورد کاربرد اسانس‌ها به تنهایی نیز صادق است (جدول‌های ۱ و ۲). اما حتی اختلاط مقادیر زیرکشندگی هر یک از اسانس‌ها با کم‌ترین مقدار کشندگی قارچ توانست در ۷ روز پس از آزمایش بیش از ۷۰ درصد حشرات کامل مورد آزمایش را از بین ببرد (جدول ۶). هرچند که در ظاهر تمامی اختلاط‌های اسانس-بیمارگر درصد مرگ و میر بالایی را در جمعیت آفت به وجود آورده‌اند، ولی نگاهی به نوع برهمکنش اسانس- بیمارگر نشان می‌دهد که فقط در اختلاط‌های مربوط به سطوح LC_{25} هر دو عامل هفت روز پس از انجام آزمایش اثر هم‌افزایی (سینرژیستی) وجود داشته و در سایر حالت‌ها این تاثیر تجمعی یا آنتاگونیستی بوده است (جدول ۶).

نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با اطمینان ۹۹ درصد نشان می‌دهد که مرگ و میر حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای در برابر اختلاط غلظت LC_{25} قارچ و اسانس‌های گیاهان جعفری و گلپر ایرانی اختلاف معنی‌داری ندارند. بین اختلاط غلظت LC_{50} قارچ و اسانس‌های گیاهان جعفری و مرزه سهندی نیز اختلاف معنی‌داری وجود ندارند. هم‌چنین در صورت اختلاط اسانس مرزه سهندی با هر دو سطح غلظتی قارچ (LC_{25} و LC_{50}) هیچ اختلاف معنی‌داری در میزان مرگ و میر حشرات کامل به وجود نمی‌آید.

در ارزیابی اختلاط اسانس‌های گیاهی از زمان LT_{50} قارچ، اسانس‌های گیاهی در غلظت‌های مورد نظر در زمان LT_{50} قارچ به شیشه‌های محتوی حشرات تیمار شده اضافه شدند. درصد مرگ و میر اصلاح شده حشرات ۲۴ ساعت پس از افزودن اسانس‌ها محاسبه شد (جدول ۷). دلیل این امر نیز فرصت‌دهی برای رشد قارچ و ایجاد کشندگی اولیه روی جمعیت حساس حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای قبل از اعمال اسانس بود.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۶- تعیین نوع برهمکنش "اسانس- بیمارگر" برای اسانس‌های جعفری، گلپر ایرانی و مرزه سهندی با جدایه IS-75 قارچ *Beauveria bassiana* در بدو آزمایش پس از ۲۴ ساعت و هفت روز

Table 6. Determination of "essential oil-pathogen" interactions for *Petroselinum sativum*, *Heracleum persicum* and *Satureja sahendica* essential oils with IS-75 isolate of *Beauveria bassiana* at the beginning of the experiment after 24 h and 7 days

Essential oil	A+B: Ex	(A+B): Ob		SR		LT_{50} (h)
		24h	7Days	24h	7Days	(Fiducial limits)
Petroselinum sativum	50	16.7±0.11de	96.7±0.51a	2.99	0.52	52.32 (24.96-69.36)
	75	23.3±0.09d	100±0.00a	3.22	0.75	57.36 (30.48-75.17)
	75	3.3±0.05f	96.7±0.43a	22.73	0.78	82.56 (66.00-97.68)
	100	10.0±0.09e	90.0±0.33b	10.00	1.11	82.80 (60.00-101.76)
Heracleum persicum	50	50.0±0.17b	86.7±0.67b	1.00	0.58	29.28 (13.81-38.8)
	75	63.3±0.33a	76.7±0.40c	1.18	0.98	18.41 (8.68-24.39)
	75	43.3±0.20c	76.7±0.67c	1.73	0.98	44.40 (20.94-58.84)
	100	50.0±0.33b	76.7±0.11c	2.00	1.30	44.88 (21.17-59.47)
Satureja sahendica	50	20.0±0.21d	80.0b±0.33c	2.50	0.63	83.04 (48.00-108.96)
	75	20.0±0.13d	60.67±0.11d	3.75	1.24	104.88 (61.44-166.32)
	75	36.7±0.33c	70.0±0.13c	2.04	1.07	85.68 (49.53-112.42)
	100	40.0±0.67c	70.33±0.45c	2.50	1.42	60.0 (34.68-78.73)

Means followed by the same letter in a column are not significantly different ($p \leq 0.05$) by DMRT. A and B are Corrected Mortality±SE of female adults of *C. maculatus* exposed to the essential oils and the fungus after 24h and 7 days with the concentrations of LC_{25}+LC_{25}, LC_{50}+LC_{25}, LC_{25}+LC_{50} and LC_{50}+LC_{50}, respectively. A+B and (A+B) are expected (Ex) and observed (Ob) mortality percentage, respectively. SR is synergistic ratio and calculating by dividing Ex on Ob after 24h and 7 days. If SR<0.7: interaction is synergistic, 0.7<SR<1.8: interaction is additive, and SR>1.8: interaction is antagonistic (Ebadollahi *et al.*, 2017).

نتایج نشان داد که اختلاط اسانس گلپر ایرانی در دو غلظت LC_{25} و LC_{50} با هر یک از دو غلظت (LC_{25} و LC_{50}) قارچ پس از ۲۴ ساعت بیش از دو اسانس دیگر و نزدیک به ۱۰۰ درصد کشندگی در جمعیت حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای ایجاد کرده است. اما نگاه کلی به مقادیر مرگ و میر ایجاد شده از تمامی تیمارها نشان می‌دهد که در همه این حالات درصد مرگ و میر حشرات کامل بالاتر از ۹۰ درصد بوده است (جدول ۷). با این حال، اثر هم‌افزایی در این حالت نیز فقط در کاربرد سطوح LC_{25} اسانس و قارچ به وجود آمده است و در سایر موارد این برهمکنش از نوع تجمعی بوده است (جدول ۷).

از طرفی مقادیر LT_{50} هر یک از تیمارهای اسانس گلپر ایرانی از ۲/۲۴ تا ۳/۱۹ ساعت متغیر بوده است. یعنی حداکثر تا ۳/۱۹ ساعت هر یک از ترکیبات اسانس گلپر ایرانی با قارچ توانسته است ۵۰ درصد جمعیت حشرات کامل را از بین ببرد. بنابراین اختلاط اسانس گلپر ایرانی با قارچ *B. bassiana* در عین حال که ۱۰۰ درصد مرگ و میر پس از ۲۴ ساعت در جمعیت حشرات کامل آفت ایجاد کرده است، مدت زمان کشندگی ۵۰ درصد جمعیت حشرات کامل نیز از سه ساعت متجاوز نبوده است (جدول ۷).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۷- تعیین نوع برهمکنش "اسانس- بیمارگر" برای اسانس‌های جعفری، گلپر ایرانی و مرزه سهندی با جدایه IS-75 قارچ *Beauveria bassiana* در زمان LT_{50} قارچ پس از ۲۴ ساعت

Table 7. Determination of "essential oil-pathogen" interactions for *Petroselinum sativum, Heracleum persicum* and *Satureja sahendica* essential oils with IS-75 isolate of *Beauveria bassiana* at the LT_{50} time of the fungus after 24 h

Essential oil	A+B: Ex	(A+B): Ob	SR	LT_{50} (h) (Fiducial limits)
Petroselinum sativum	50	90.0±0.34b	0.56	48.97 (32.23-89.63)
	75	94.2±0.13b	0.80	29.89 (19.67-54.71)
	75	95.1±0.13ab	0.79	15.92 (10.48-29.14)
	100	93.9±0.20b	1.07	25.69 (16.91-47.02)
Heracleum persicum	50	96.9±0.67a	0.52	2.24 (1.50-4.10)
	75	98.0±0.33a	0.77	2.55 (1.70-4.67)
	75	97.0±0.19a	0.77	3.19 (2.13-5.84)
	100	100.0±0.00a	1.00	3.12 (2.08-5.71)
Satureja sahendica	50	91.9±0.24b	0.54	33.03 (22.50-60.46)
	75	93.1±0.23b	0.81	30.48 (21.77-55.79)
	75	93.8±0.41b	0.80	27.92 (18.63-51.11)
	100	95.0±0.09ab	1.05	25.03 (17.31-45.81)

Means followed by the same letter in a column are not significantly different ($p \leq 0.05$) by DMRT. A and B are Corrected Mortality±SE of female adults of *C. maculatus* exposed to the essential oils and the fungus after 24h with the concentrations of $LC_{25}+LC_{25}$, $LC_{50}+LC_{25}$, $LC_{25}+LC_{50}$ and $LC_{50}+LC_{50}$, respectively. A+B and (A+B) are expected (Ex) and observed (Ob) mortality percentage, respectively. SR is synergistic ratio and calculating by dividing Ex on Ob after 24h. If SR<0.7: interaction is synergistic, 0.7<SR<1.8: interaction is additive, and SR>1.8: interaction is antagonistic (Ebadollahi *et al.*, 2017).

بحث

در پژوهش حاضر اسانس مرزه سهندی با مقایسه مقادیر LC_{50} نسبت به دو اسانس گلپر ایرانی و جعفری سمی‌ترین ترکیب روی حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات شناخته شد، با این حال، هیچ اختلاف معنی‌داری بین مقادیر LT_{50} آن‌ها وجود نداشت. از طرفی نتایج به دست آمده از ارزیابی دو جدایه از قارچ *B. bassiana* روی حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای نشان داد که هر دو جدایه علیه این آفت مؤثر بوده و ایجاد بیماری می‌کنند و جدایه IS-75 زهرآگین‌تر از جدایه IS-1 می‌باشد. از این‌رو، جدایه IS-75 برای بررسی میزان سازگاری اسانس‌ها با قارچ بیمارگر انتخاب شد. درصد بازدارندگی از اسپورزایی و نیز درصد بازدارندگی از رشد میسلیوم قارچ توسط هر سه اسانس مورد آزمایش تفاوت معنی‌داری نشان داد. به طوری که اسانس جعفری به طور کامل مانع از رشد رویشی و اسپورزایی قارچ *B. bassiana* شد. بین درصد مهار رشد میسلیومی قارچ و میزان تولید اسپور نیز رابطه مستقیمی مشاهد شد و با کاهش رشد میسلیومی کلنی، میزان تولید اسپور نیز به طور معنی‌دار کاهش یافت. این نتایج با یافته‌های هایروز و همکاران (Hirose *et al.*, 2001) مطابقت دارد. طبق نظر این پژوهشگران با افزایش غلظت روغن چریش، میزان رشد میسلیومی قارچ‌های *B. bassiana* و *M. anisopliae* به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد و با کاهش رشد میسلیومی از میزان تولید اسپور در هر کلنی به طور معنی‌داری کاسته می‌شود.

بورگیو و همکاران (Borgio *et al.*, 2008) اثر اسانس *Ocimum sanctum* را روی قارچ *M. anisopliae* مورد بررسی قرار دادند. آن‌ها بیان کردند که اسانس استخراج شده از برگ و ریشه این گیاه سازگاری قابل ملاحظه‌ای با قارچ مورد نظر داشته و می‌توان آن‌ها را به طور هم‌زمان جهت کنترل آفات در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات به کار برد.

Archive of SID

www.SID.ir

نگاهی به نوع برهمکنش اسانس-بیمارگر در مورد اختلاط هر یک از اسانس‌های گیاهی با جدایه IS-75 قارچ *B. bassiana* در دو زمان مختلف (از بدو انجام آزمایش و در زمان LT_{50} قارچ) نشان داد که در عین حال که مقادیر مرگ و میر در بیشتر موارد ۱۰۰-۵۰ درصد جمعیت حشرات کامل ماده را از بین برده است، ولی فقط در صورت اختلاط سطوح LC_{25} هر دو عامل این برهمکنش سینرژیستی بوده است و در مابقی حالات برهمکنش تجمعی و یا آنتاگونیستی بوده است. شبیه این نتایج در بررسی عباداللهی و همکاران (Ebadollahi *et al.*, 2017) ارایه شده است. دراین پژوهش، اسانس گیاه نعناع فلفلی (*Mentha piperata*) و گیاه پونه (*M. pulegium*) در اختلاط با قارچ *Lecanicillium muscarium* علیه شته پنبه (*Aphis gossypii*) به کار برده شده است و همه برهمکنش‌ها از نوع تجمعی به دست آمده‌اند.

با توجه به این نتایج باید بیان نمود که از اختلاط قارچ‌ها با اسانس‌های گیاهی می‌توان در کنترل آفات استفاده نمود، اما باید قبل از هرگونه استفاده از تاثیر اسانس روی قارچ به لحاظ رشد رویشی و تولید اسپور اطمینان حاصل کرد، زیرا اگر میسلیوم و اسپور قارچ رشد نکند، قارچ قدرت حمله و تأثیر خود را روی آفات از دست خواهد داد. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که اسانس جعفری به طور کامل با جدایه مورد نظر قارچ بیمارگر ناسازگار می‌باشد. اما اسانس‌های گلپر ایرانی و مرزه سهندی با وجود کاهش در میزان رشد رویشی و اسپورزایی قارچ، به طور کامل مانع از رشد قارچ نشدند. در میان سه اسانس مورد آزمایش، مرزه سهندی کم‌ترین بازدارندگی را نشان داد.

در اختلاط اسانس‌های جعفری و گلپر ایرانی با قارچ، کم‌ترین مقادیر LT_{50} مربوط به پایین‌ترین غلظت از هر دو عامل اسانس و قارچ می‌باشد. اما در اختلاط اسانس مرزه سهندی و قارچ، کم‌ترین LT_{50} متعلق به بیش‌ترین غلظت از هر دو عامل است. بنابراین می‌توان اظهار کرد که از میان سه اسانس مورد آزمایش، اسانس مرزه سهندی سازگاری بیشتری نسبت به دو اسانس دیگر با قارچ عامل بیمارگر دارد. در مورد اختلاط اسانس جعفری و قارچ مشاهده می‌شود که با افزایش غلظت در هر یک از عوامل قارچ و اسانس میزان LT_{50} نیز افزایش می‌یابد. این امر ممکن است ناشی از برهمکنش دو عامل بوده و با افزایش غلظت‌ها ناسازگاری آن‌ها نیز نمایان‌تر می‌شود، زیرا همان‌طور که مشاهده شد اسانس جعفری به طور کامل مانع از رشد و اسپورزایی قارچ *B. bassiana* شده بود.

اکبر و همکاران (Akbar *et al.*, 2005) تأثیر قارچ *B. bassiana* را به همراه حشره‌کش‌های با منشا گیاهی روی *Tribolium castaneum* مورد آزمایش قرار دادند. آن‌ها از حشره‌کش‌های گیاهی Neemix-4.5 و Hexacide استفاده کردند و به این نتیجه رسیدند که حشره‌کش گیاهی Neemix-4.5 بدون کاهش در میزان جوانه‌زنی کنیدی‌های قارچ، شفیرگی حشرات را به تاخیر انداخت، اما در کاربرد توأم با قارچ، میزان مرگ و میر حشرات را به طور معنی‌داری کاهش داد. حشره‌کش گیاهی Hexacide وقتی که بدون *B. bassiana* به کار رفت، باعث مرگ ومیر معنی‌داری شد، اما این حشره‌کش در اختلاط با قارچ روی میزان شفیرگی، درصد جوانه‌زنی اسپورها و نیز مرگ و میر حشرات تأثیر معنی‌داری نداشت. در تحقیق حاضر نیز، در هر دو آزمایش اختلاط، اسانس گلپر ایرانی به همراه قارچ عامل بیماری بیش‌ترین میزان مرگ و میر را در کم‌ترین زمان نشان داد. این در حالی است که اسانس گلپر ایرانی همانند دو اسانس دیگر در وضعیت ناسازگار با قارچ مورد نظر قرار داشت.

نگاهی به روند ایجاد مرگ و میر در اختلاط اسانس و قارچ از ابتدای انجام آزمایش نشان می‌دهد که بیش‌ترین مرگ و میرها در ترکیب‌های پایین مقادیر LC حاصل شده است. به عبارتی همگام با افزایش غلظت اسانس کاربردی از $LC_{25} + LC_{25}$ به $LC_{50} + LC_{50}$ میزان مرگ و میر حشره کاهش یافته است. به ویژه این اثر بعد از هفت روز از انجام آزمایش‌ها بیش‌تر مشهود است. این موضوع نشانگر آن است که هرچند ترکیب اسانس و قارچ در غلظت‌های تا LC_{50} افزایش عددی نشان می‌دهند، ولی

Archive of SID

www.SID.ir

میزان این افزایش‌ها در غلظت‌های زیرکشنده هر دو عامل بیش‌تر قابل رویت است و اثر سوء اسانس روی قارچ در غلظت‌های بالاتر بیش‌تر مشاهده می‌شود. شایان ذکر است که مقادیر کشندگی اختلاط اسانس و قارچ پس از ۲۴ ساعت بسیار پایین‌تر از نتایج هفت روز است. این نتیجه ممکن است به دلیل کاهش اثر اسانس‌ها پس از گذشت زمان باشد، زیرا گریفین (Griffin, 1994) مشاهده نمود که اثر بسیاری از مواد شیمیایی آفت‌کش روی رشد میسلیومی قارچ‌ها پس از گذشت زمان کاهش می‌یابد و این امر در مورد اسانس‌ها نیز صادق است.

با وجود این، نتایج این پژوهش نشان‌دهنده تاثیر هریک از اسانس‌های جعفری، گلپر ایرانی و مرزه سهندی روی حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات بوده است. هر دو جدایه IS-1 و IS-75 قارچ بیمارگر حشرات *B. bassiana* نیز مرگ و میر مناسبی علیه این آفت نشان دادند. هم‌چنین، بررسی کاربرد توأم این عوامل در سطوح زیرکشندگی نیز نشان‌دهنده تاثیر به‌سزای هر دو عامل علیه این آفت بوده است. با این حال، برای کاربرد وسیع هر یک از این عوامل به طور مجزا و در اختلاط با یکدیگر در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات، بایستی بررسی‌های بیش‌تری در شرایط گلخانه و مزارع علیه سایر آفات نیز انجام بگیرد.

References

Abbasipour, H., Mahmoudvand, M., Rastegar, F. and Hosseinpour, M. H. 2011. Fumigant toxicity and oviposition deterrency of the essential oil from cardamom, *Elettaria cardamomum*, against three stored product insects. **Journal of Insect Science** 11(165): 1-10.

Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology** 18: 265-267.

Akbar, W., Lord, J. C., Nechols, J. R. and Loughin, T. M. 2005. Efficacy of *Beauveria bassiana* for red flour beetle when applied with plant essential oils or in mineral oil and organosilicon carriers. **Journal of Economic Entomology** 98(3): 683-688.

Ajayi, O. E., Appel, A. G. and Fadamiro, H. Y. 2011. Fumigation toxicity of essential oil monoterpenes to *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). **Journal of Insects Hindawi Publishing Corporation** 917212: 1-7.

Borgio, J. F., Bency, B. J. and Sharma, N. 2008. Compatibility of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. with *Ocimum sanctum* Linn. (Tulsi) (Lamiaceae) extracts. **Ethnobotanical Leaflets** 12: 698-704.

Cherry, A. J., Abalo, P. and Hell, K. 2005. A laboratory assessment of the potential of different strains of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin and *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) to control *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) in stored cowpea. **Journal of Stored Products Research** 41: 295-309.

Ebadollahi, A., Davari, M., Razmjou, J. and Naseri, B. 2017. Separate and combined effects of *Mentha piperata* and *Mentha pulegium* essential oils and a pathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* against *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae). **Journal of Economic Entomology** 110(3): 1025-1030.

Faraji, S., Derakhshan Shadmehri, A. and Mehrvar, A. 2016. Compatibility of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* with some pesticides. **Journal of Entomological Society of Iran** 36(2): 137-146.

Griffin, D. H. 1994. Fungal Physiology. 2nd ed. Wiley-Liss, New York, USA.

Hassanpouraghdam, M. B., Shalamzari, M. S., Azami, M. A. and Shoja, A. M. 2009. γ-Terpinene and carvacrol rich volatile oil of *Satureja sahendica* Bornm. from Maragheh district in Northwest Iran. **Chemija** 20(3): 186-189.

Hirose, E., Neves, P. M. O. J., Zequi, J. A. C, Martins, L. H., Peralta, C. H. and Moino, J. A. 2001. Effect of biofertilizers and neem oil on the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.

Archive of SID

www.SID.ir

and *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorok. **Brazilian Archives of Biology and Technology** 44(4): 419-423.

Huixing, L., Ruhai, L., Mushan, W., Pinyan, Y., Zhiguo, K. and Yusheng, N. 1998. Effect of 25 plant essential oils against *Callosobruchus maculatus*. Proceedings of the 7th International Working Conference on Stored-Product Protection, 14-19 October 1998, Beijing, China.

Isman, M. B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. **Crop Protection** 19: 603-608.

Isman, M. B. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology** 51: 45-66.

Jibrin, D. M., Abdullah, J. and Ibrahim, U. 2013. Evaluation of some plant products for the control of the cowpea weevil (*Callosobruchus maculatus*). **American-Eurasian Journal of Agriculture & Environmental Sciences** 13(5): 673-676.

Khani, A. and Asghari, J. 2011. Insecticide activity of essential oils of *Mentha longifolia*, *Pulicaria gnaphalodes* and *Achillea wilhelmsii* against two stored product pests, the flour beetle, *Tribolium castaneum*, and the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus*. **Journal of Insect Science** 12(73): 1-10.

Lee, S., Lee, B., Choi, W., Park, B., Kim, J. and Campbell, B. 2001. Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L). **Pest Management Science** 57: 548-553.

Mahdneshin, Z., Vojoudi, S., Ghosta, Y., Safaralizadae, M. H. and Saber, M. 2011. Laboratory evaluation of the entomopathogenic fungi, Iranian isolates of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin and *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin against the control of the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae). **African Journal of Microbiology Research** 5(29): 5215-5220.

Moharramipour, S. and Sahaf, B. Z. 2006. Insecticidal activity of essential oil from *Vitex pseudo-negundo* against *Brevicoryne brassicae*. Proceedings of the Meeting on Integrated Control in Protected Crops of Mediterranean Climate, Murcia, Spain. pp. 14-18.

Neves, P. M. O. J., Hirose, E., Tchujo, P. T. and Moino, A. 2001. Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoid insecticides. **Journal of Neotropical Entomology** 30(2): 263-268.

Park, C., Kim, S. and Ahn, Y. J. 2003. Insecticidal activity of asarones identified in *Acorus gramineus* rhizome against three coleopteran stored-product insects. **Stored Products Research** 39: 332-342.

Pascual-Villalobos, M. J. and Ballesta-Acosta, M. C. 2003. Chemical variation in an *Ocimum basilicum* germplasm collection and activity of essential oils on *Callosobruchus maculatus*. **Biochemical Systematics and Ecology** 31(7): 673-679.

Tajick Ghanbalani, M. A., Asgharzadeh, A., Hadizadeh, A. R. and Mohammadi Sharif, M. 2009. A quick method for *Metarhizium anisopliae* isolation from cultural soils. **American Journal of Agricultural and Biological Science** 4(2): 152-155.

Tanada, Y. and Kaya, H. 1993. Insect pathology. Academic Press, USA.

Tong, F. 2010. Investigation of mechanisms of action of monoterpenoid insecticides on insect gamma-aminobutyric acid receptors and nicotinic acetylcholine receptors. Ph.D. dissertation, Iowa State University.

Archive of SID

www.SID.ir

Plant Pest Research
2018- 8(1):1-14

Compatibility of some plant essential oils in combination with the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* against *Callosobruchus maculatus* (Col.: Bruchidae)

R. Hosseinzadeh[1], A. Mehrvar[1]*, N. Eivazian Kary[1] and H. Valizadeh[2]
1. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz,
2. Department of Chemistry, Faculty of Basic Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz

(Received: January 3, 2018 - Accepted: April 7, 2018)

Abstract

This study was conducted to evaluate the compatibility of some plant essential oils in combination with entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* against *Callosobruchus maculatus*. Lethal effects of three essential oils including *Petroselinum sativum*, *Satureja sahendica* and *Heracleum persicum* against the adults of *C. maculatus* were studied. The biological activity of two fungal isolates, IS-1 and IS-75, as alone and in combination with the essential oils for insect pest control was evaluated. Results showed that *S. sahendica* essential oil was the most toxic agent on adults than other oils, and IS-75 isolate showed more virulence against the pest compared to IS-1 when applied alone. Results of percent inhibition of sporulation and mycelial growth of the fungus showed *P. sativum* essential oil with 100 percent inhibition completely inhibited fungal growth and sporulation and *S. sahendica* essential oil with 24 percent inhibition had more compatibility compared to two other essential oils. Combined application of three essential oils and IS-75 isolate of the fungus in lethal and sublethal concentrations showed that *H. persicum* essential oil has the least LT_{50} value in combination with the fungus. Essential oil-pathogen interactions of sublethal concentrations of plant essential oils and IS-75 fungal isolate revealed that the synergistic effects on percent adults' mortality only belongs to the combination of LC_{25} concentrations of each of the agents, and other sublethal combinations had additive and antagonistic effects.

Key words: Plant essential oils, Entomopathogenic fungus, Synergistic ratio, *Callosobruchus maculatus*

* Corresponding author: ac.mehrvar@azaruniv.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir