آفات و بیماری‌های گیاهی
جلد ۷۶، شماره ۲، اسفند ۱۳۸۷

بررسی تأثیر قارچ *Lecanicillium muscarium* (Deut.: Moniliales) روی طول عمر، باروری و رفتار جفتگیری زنبور پارازیتوئید *Aphidius nigripes* (Hym.: Aphididae)

Effect of *Lecanicillium muscarium* (Deut.: Moniliales) on longevity, fecondity and mating behavior of *Aphidius nigripes* (Hym.: Aphididae)

حسن عسکری[۱]* و مریم عجم حسنی[۲]
۱- مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، تهران
۲- مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران
(تاریخ دریافت: اسفند ۱۳۸۵، تاریخ پذیرش: دی ۱۳۸۶)

چکیده

تحقیق حاضر به منظور بررسی اثرات قارچ *Lecanicillium muscarium* روی میزان تخمریزی، طول عمر و رفتار جفتگیری زنبورهای نر و ماده *Aphidius nigripes* Ashmead انجام گرفت. سطوح مختلف آلودگی با محلول پاشی غلظت‌های مختلف قارچ (شامل 10^5 و 10^7 اسپور در میلی‌لیتر به همراه شاهد، آب مقطر) و یا با نمونه‌برداری در روزهای مختلف روی زنبورهای نر و یا ماده ایجاد شد. سپس امکان انتقال قارچ از فرد آلوده به فرد سالم در هنگام جفتگیری، طول عمر، میزان پارازیتیسم، نسبت جنسی، وزن نتاج، زمان پیش از جفتگیری و طول مدت جفتگیری مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج نشان داد که در هیچ یک از حالات در اثر جفتگیری افراد آلوده با افراد سالم آلودگی قارچی منتقل نمی‌شود. همچنین نشان داده شد که جفتگیری نرهای آلوده به قارچ با ماده‌های سالم تأثیری روی زنده مانی و باروری ماده‌ها نداشته و طول عمر، میزان تخمریزی و نسبت

* Corresponding author: Askary@iripp.ir

Archive of SID
www.SID.ir

جنسی نتاج با شاهد اختلاف معنی‌داری ندارد. بررسی اثر قارچ پس از ۹۶ ساعت آلوده سازی، روی طول عمر و میزان تخمریزی زنبورهای ماده آلوده (پس از جفتگیری با نرهای سالم) نشان داد که طول عمر ماده‌های آلوده (۰/۹±۶/۶ روز) و میانگین تخمریزی آن‌ها (۱۶/۶±۱۰۶/۷) به طور معنی‌داری با طول عمر ماده‌های شاهد (۱/۴±۱۰/۷ روز عمر) و میانگین تخمریزی (۱۶/۴±۱۶۱/۳) تفاوت دارد. در حالیکه نسبت جنسی و وزن نتاج ماده‌های آلوده و شاهد تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند. اثر آلودگی به قارچ روی رفتار جفتگیری زنبور پارازیتوید نر مؤثر تشخیص داده شد. به طوری‌که سه و چهار روز پس از آلوده شدن زنبورهای نر، زمان لازم برای شروع جفتگیری آن‌ها نسبت به شاهد به طور معنی‌داری افزایش یافت (به ترتیب ۲۱/۸±۱۶۳/۸ و ۱۸/۸±۲۰۵/۱ و شاهد ۲۱/۰۴±۱۱۹/۶ ثانیه). زنبورهای ماده آلوده به قارچ و شاهد تقریباً به طور همزمان با نرهای سالم شروع به جفتگیری کردند و طول مدت جفتگیری آن‌ها تفاوت معنی‌داری با هم نداشت.

واژه‌های کلیدی: *Lecanicillium muscarium*، *Aphidius nigripes*، کنترل بیولوژیک، رابطه میزبان–پاتوژن–پارازیتوئید، رفتارشناسی.

Abstract

Current research is conducted to evaluate effects of *Lecanicillium muscarium* (Petch) Zare & Gams (Deut.: Moniliales) on longevity, fecundity and mating behavior of *Aphidius nigripes* Ashmead (Hym.: Aphididae). Different levels of infection established by spraying two fungal concentrations (10^5 and 10^7 spore/ml and control with distilled water) or with sampling in different time on the male or female parasitoids. Based on different experiments, possibility of fungal transmission during mating, survival, parasitism rate, sex ratio, weight of progeny, time before mating and time of mating were evaluated.

Results demonstrated that there was no transmission of fungus from infected to healthy individuals during mating. Also, there were not any significant differences in survival of healthy females, parasitism rate and sex ratio of progeny between treatments and control, when infected males mated with healthy females. Infection of females after 96 hours, (mated with healthy males) showed that there is significant effect on theirs survival (Treatment 6.61 ± 0.94 and control 10.7 ± 1.48) and parasitism rate (treatment 106.7 ± 16.6 and control 161 ± 16.4). Whereas, sex ratio and weight of progeny in treatments were similar compared with control. Fungal infection was effective on mating behavior of infected male parasitoids. Three

Archive of SID

www.SID.ir

and four days after inoculation, necessary time for mating of infected males with healthy females significantly increased, compared to control (163.8 ± 21.8, 205.1 ± 18.8 and 119.6 ± 21.04 seconds for treatments and control, respectively). The infected and control females started to mate healthy males at the same time and their mating durations were equal.

Key words: *Lecanicillim muscarium*, *Aphidius nigripes*, Biological control, host-parasitoid-pathogen interaction, behavior

مقدمه

شناخت دقیق عوامل کنترل کننده طبیعی و ارتباطات بین آن‌ها و همچنین بررسی اثر توأم آن‌ها روی میزبان در موفقیت کنترل بیولوژیک نقش اساسی دارد. امروزه استفاده همزمان از عوامل کنترل طبیعی به عنوان چشم اندازی نوین در مباحث مربوط به کنترل بیولوژیک مطرح می‌باشد. اما مطالعه وسیع برای بررسی جنبه‌های مثبت و منفی بین عوامل کنترل کننده طبیعی آفات و میزبان‌های آن‌ها ضروری است (Tamashiro, 1968). در بین عوامل کنترل کننده طبیعی حشرات، میکروارگانیسم‌های بیمارگر نظیر قارچ‌ها، ویروس‌ها و باکتری‌ها به شکل تجارتی تولید و قابل مصرف می‌باشند. برخی از گونه‌ها و جدایه‌های قارچ‌ها به لحاظ دامنه میزبانی وسیع قادرند طیف وسیعی از آفات را بیمار و موجب مرگ و میر آن‌ها شوند (Brooks, 1993). مطالعاتی که توسط محققین مختلف روی این نوع حشره‌کش‌های میکروبی انجام شده، نشان داده است که برخی اثرات منفی روی تعدادی از پارازیتوئیدها و پرداتورها قابل مشاهده است. (Hall and Burges, 1979; Askary *et al*., 1999). برای نمونه می‌توان به کاهش ۶۸ درصدی جمعیت زنبور *Cotesia plutellae* Kurdjumov پارازیتویید پروانه پشت الماسی در اثر استفاده همزمان از باکتری *Bacillus thuringiensis* (Berliner) اشاره کرد (Flexner *et al.*, 1986).

در بسیاری از موارد محققین مرگ و میر دشمنان طبیعی را در اثر عمل مستقیم عامل بیمارگر مورد توجه قرار داده و آن را بررسی نموده‌اند. به گزارش Askary *et al.* (2006) قارچ *Lecanicillium muscarium* (Petch) Zare & Gams روی زنبورهای بالغ و یا نابالغ *Aphidius nigripes* Ashmead (پارازیتوئید شته *Macrosiphum euphorbiae* Thomas) ایجاد آلودگی می‌کند (Askary & Brodeur, 1999; Askary *et al.*, 2006 و همچنین مشاهدات شخصی). این آلودگی به هر دو شکل مستقیم (آلوده شدن حشرات بالغ پارازیتویید از طریق پاشش قارچ

Archive of SID

www.SID.ir

روی آن‌ها) و غیر مستقیم (آلوده شدن از طریق برگ‌های گیاه میزبان) منجر به مرگ و میر پارازیتوئید شد. همچنین مطالعات نشان داده است که لاروهای پارازیتوییدِ درون بدن شته میزبان در اثر مرگ زود هنگام میزبان دچار تلفات می‌شوند (Askary *et al.*, 2006). این تلفات در دشمنان طبیعی، می‌تواند کاربرد همزمان و مناسب عامل بیمارگر و پارازیتوئید یا پرداتور را تحت تأثیر قرار داده و از میزان اثر بخشی آن‌ها بکاهد. این در حالی است که اگر اثرات منفی این عوامل روی یکدیگر شناخته شوند می‌توان با تنظیم زمان کاربرد آن‌ها کارایی‌شان را افزایش داد (Hall, 1982).

اثرات عوامل بیمارگر روی رفتارها و سایر شاخصه‌های زیستی پارازیتوییدِ نظیر طول عمر، میزان تخمریزی، نسبت جنسی و وضعیت نتاج کمتر مورد توجه قرار گرفته است (Yokomi & Gottwald, 1988). طبق گزارش Navon *et al.* (1993) میزان تغذیه و وزن زنبور پارازیتوئید *Microplitis croceipes* (Cresson) هنگام آلوده شدن با باکتری *B. thuringiensis* کاهش پیدا کرد. در حالی‌که میزان تخمریزی زنبورهای آلوده در بدن لاروهای *Helicoverpa armigera* (Hübner) تفاوتی با میزان تخمریزی زنبورهای سالم نداشت. Salama and Zaki (1982) گزارش دادند که چنانچه لاروهای میزبان از باکتری *B. thuringiensis* تغذیه کرده باشند میزان باروری زنبورهای پارازیتوئید *Microplitis demolitor* Wilkinson کاهش می‌یابد. Thoms و Waston در سال ۱۹۸۶ نشان دادند که طول عمر زنبورهای پارازیتوئید *Hyposoter exiguae* (Viereck) آلوده شده با باکتری *B. thuringiensis* با طول عمر زنبورهای سالم همسان بود. همچنین خروج بالغین زنبور پارازیتوئید *Microplitis rufiventris* Kok. آلوده شده با قارچ *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. کاهش یافته و تعدادی از شفیره‌های آلوده از بین رفت (EL- Maghraby *et al.*, 1988). تحقیقات Hodek (1993) نشان داد که تغذیه کفشدوزک‌های هفت نقطه‌ای از شکار آلوده شده به قارچ *Erynia neoaphidis* Remaudiere & Hennebert سبب کاهش طول عمر و باروری کفشدوزک‌ها می‌شود. به گزارش Roselyne *et al.*, (2006) میزان تغذیه و باروری سن شکارگر *Dicyphus hesperus* Knight هنگامی‌که میزبان آن، سفید بالک *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) با قارچ *B. bassiana* آلوده شده بودند، کاهش یافت.

با توجه به تحقیقات انجام گرفته روی قارچ *L. muscarium* و بررسی اثرات مختلف آن

Archive of SID

www.SID.ir

روی شته‌ها و سایر میزبان‌ها و همچنین بررسی اثرات منفی آن روی برخی دشمنان طبیعی، این تحقیق روی زنبور *A. nigripes* پارازیتویید شته‌ها انجام شد تا جنبه‌های دیگری از رابطه عامل بیمارگر-پارازیتویید را که کمتر مورد توجه قرار گرفته است، مشخص نماید. مهم‌ترین اهداف این تحقیق شامل تعیین شاخصه‌های زیستی پارازیتوییدهای آلوده به قارچ در مقایسه با زنبورهای سالم بوده است. این شاخصه‌ها میزان زنده مانی زنبورهای سالم، میزان پارازیتیسم آن، نسبت جنسی زنبورهای تولید شده و مقایسه وزن ماده‌های حاصل بوده‌اند. همچنین تأثیر قارچ روی دو شاخصه مهم در رفتار جفتگیری شامل تعیین زمان پیش از جفتگیری و طول زمان جفتگیری برای هر یک از جفت‌های سالم و آلوده مشخص گردید.

روش بررسی

۱- کشت قارچ و تهیه غلظت‌های اسپور: قارچ *L. muscarium* جدایه DAOM 198499 که از شفیره‌های کرم سیب جداسازی شده بود، از مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور تهیه و روی محیط مایع YMPD کشت داده شد. پس از ۴ روز بلاستوسپورها جمع‌آوری و غلظت پایه تهیه گردید. غلظت‌های کشنده حداقل و حداکثر (Askary *et al*., 2006) به ترتیب شامل $۱۰^{۵}$ و $۱۰^{۷}$ اسپور در میلی‌لیتر از غلظت پایه تهیه و به صورت تازه استفاده گردید.

۲- تهیه کلنی شته و پارازیتوئید: زنبور پارازیتوئید *A. nigripes* و شته میزبان آن *M. euphorbiae* از طبیعت جمع‌آوری و برای تشکیل کلنی به آزمایشگاه منتقل گردید. شته‌های بکرزا روی گیاه سیب زمینی به عنوان میزبان مستقر شدند. پس از استقرار کلنی شته و زنبور در شرایط آزمایشگاه و تولید دو تا سه نسل از هر کدام، پوره‌های سن دوم شته برای پارازیته شدن در اختیار زنبورها قرار گرفت. شته‌های مومیایی شده جمع‌آوری و حشرات بالغ نر و ماده برای بررسی‌های بعدی به صورت جداگانه نگهداری و با آب عسل تغذیه شدند. شرایط نگهداری کلنی‌ها دمای ۲۲-۲۰ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۷۵-۷۰٪ و نسبت ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بود.

۳- بررسی تأثیر قارچ روی زنده‌مانی و باروری زنبور:

الف) تأثیر قارچ روی باروری زنبور نر آلوده: زنبورهای نر و ماده جفتگیری نکرده

Archive of SID

www.SID.ir

پارازیتوئید که از پوره‌های سن دوم شته به دست آمده بودند، برای آزمایش در نظر گرفته شدند. بررسی‌ها در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با ۳ تیمار شامل شاهد (آب مقطر به همراه تریتون X-100 به میزان ۰/۰۴٪) و غلظت‌های 10^5 و 10^7 اسپور قارچ در میلی‌لیتر و با نمونه‌های نامساوی برای هر تیمار (۸ تا ۱۰ عدد زنبور) انجام گرفت. روش آلوده‌سازی از طریق غوطه ورسازی زنبورهای نر به مدت ۵ ثانیه در غلظت قارچ‌ها بود (Askary *et al*., 2006; Askary and Yarmand, 2007). نرهای تیمار شده با هر یک از غلظت‌های قارچ در شرایط ۱۰۰–۹۸ درصد رطوبت نسبی و دمای ۲۱–۲۰ درجه سانتی‌گراد و نسبت روشنایی به تاریکی ۸:۱۶ ساعت به مدت ۷۲ ساعت (مدت زمان لازم برای آلودگی درونی زنبور به قارچ) (Askary and Yarmand, 2007) نگهداری و با آب عسل تغذیه شدند. سپس نرها با ماده‌های سالم که حداکثر یک روزه بودند به صورت تک‌تک و جداگانه درون کپسول‌های ژلاتینی کوچک جفتگیری کردند. بعد از جفتگیری، هر زنبور ماده به قفسی از جنس پلکسی گلاس، به ابعاد ۲۵–۱۵ سانتی‌متر منتقل گردید. ظرف‌ها محتوی گیاه سیب زمینی و ۳۰ عدد شته سیب زمینی سن دو (بیش از نیاز روزانه برای انگلی کردن شته‌ها) (Cloutier *et al.*, 1981) بود که تا زمان مرگ ماده‌ها هر روز در اختیار آن‌ها قرار داده شد. ماده‌ها روزانه تحت بررسی قرار گرفته و فاکتورهایی مانند طول عمر، میزان تخمریزی کل، میزان نتاج ماده تولید شده و امکان آلودگی آن‌ها به قارچ از طریق تماس با نرهای آلوده تعیین شد. برای اطمینان از آلودگی نرها به قارچ، پس از جفتگیری، آن‌ها را در ۱۰ میکرولیتر آب مقطر و تریتون کشته و آلودگی آن‌ها کنترل شد.

ب) تأثیر قارچ روی زنده‌مانی و تخم‌ریزی زنبور ماده آلوده: این بررسی در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با غلظت 10^7 اسپور در میلی‌لیتر قارچ و تیمار شاهد (آب مقطر به همراه تریتون X-100 به میزان ۰/۰۴٪)، با نمونه‌های نامساوی برای هر تیمار (۱۰ تا ۱۵ زنبور) انجام گرفت. ماده‌های جفتگیری نکرده که حداکثر ۲۰ ساعت عمر داشتند پس از آلوده شدن با غلظت مورد نظر قارچ به روش غوطه ورسازی به مدت ۳۶ ساعت (Askary and Yarmand, 2007) تحت شرایط ۱۰۰–۹۸ درصد رطوبت، دمای ۲۱–۲۰ درجه سانتی‌گراد و نسبت روشنایی به تاریکی ۸:۱۶ ساعت نگهداری و با آب عسل تغذیه شدند. سپس این ماده‌ها با نرهایی که حداکثر ۲۴ ساعت سن داشتند، درون کپسول‌های ژلاتینی کوچک جفتگیری کردند.

Archive of SID

www.SID.ir

بعد از جفتگیری، هر زنبور ماده به قفسی از جنس پلکسی گلاس منتقل گردید. این ظرف‌ها محتوی گیاه سیب‌زمینی و ۳۰ عدد شته سیب‌زمینی سن ۲ بود (Cloutier *et al.*, 1981) که تا زمان مرگ ماده‌ها هر روز در اختیار آن‌ها قرار داده شد. ماده‌ها روزانه تحت کنترل قرار گرفته و میزان زنده‌مانی، تخمریزی روزانه و کل، نسبت جنسی و وزن نتاج ماده آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. برای اطمینان از آلودگی ماده‌ها به قارچ، در ظروف جداگانه‌ای تعداد ۸۰ عدد زنبور ماده در نظر گرفته شده و با غلظت 10^7 اسپور در میلی‌لیتر آلوده شدند. ماده‌ها پس از جفتگیری با نرها در شرایط مشابه برای تیمارها نگهداری شدند. روزانه ۱۰ عدد زنبور به طور تصادفی در ۱۰ میکرولیتر آب مقطر و تریتون کشته و آلودگی آن‌ها به قارچ کنترل شد.

۴- بررسی تأثیر قارچ روی رفتار جفتگیری زنبورها:

الف) تأثیر قارچ روی جفتگیری زنبور نر آلوده: برای انجام این آزمایش زنبورهای نر جفتگیری نکرده با غلظت 10^7 اسپور در میلی‌لیتر به روش غوطه ورسازی آلوده شده و به مدت ۷۲ ساعت و ۹۶ ساعت (دو تیمار برای ایجاد سطوح مختلف آلودگی در زنبورها) (Askary *et al.*, 2006) در رطوبت نسبی ۱۰۰-۹۸ درصد نگهداری شده و در این مدت با آب و عسل تغذیه شدند. زنبورهای شاهد شامل زنبورهای تیمار شده با آب مقطر و تریتون بودند که در شرایط یکسان با تیمارها به مدت ۹۶ ساعت نگهداری و سپس مورد استفاده قرار گرفتند. برای هر تیمار ۲۰ تا ۴۰ عدد زنبور به عنوان تکرار در نظر گرفته شد. زنبورها در موعد مقرر از شرایط مرطوب فوق خارج و به صورت انفرادی با ماده‌های سالم که یک روزه بودند جفتگیری داده شدند. فاکتورهای مورد بررسی شامل مدت زمان لازم برای شروع جفتگیری (از صفر تا ۵ دقیقه) و طول مدت جفتگیری آن‌ها بود.

ب) تأثیر قارچ روی جفتگیری زنبور ماده آلوده: برای انجام این آزمایش زنبورهای ماده جفتگیری نکرده (که حدود ۲۰ ساعت سن داشتند) با غلظت 10^7 اسپور در میلی‌لیتر به روش غوطه ورسازی آلوده شده و به مدت ۷۲ ساعت و ۹۶ ساعت (دو تیمار برای ایجاد سطوح مختلف آلودگی در زنبورها) و شاهد (شامل زنبورهای تیمار شده با آب مقطر و تریتون) در رطوبت نسبی ۱۰۰-۹۸ درصد نگهداری شده و در این مدت با آب و عسل تغذیه شدند. برای هر تیمار ۱۵ تا ۳۰ عدد زنبور به عنوان تکرار در نظر گرفته شد. زنبورها در موعد مقرر از

Archive of SID

www.SID.ir

شرایط مرطوب فوق خارج و بصورت انفرادی با نرهای سالم که یک روزه بودند جفتگیری داده شدند. فاکتورهای مورد بررسی شامل ثبت مدت زمان لازم برای شروع جفتگیری و طول مدت جفتگیری آن‌ها بود.

تجزیه آماری: کلیه بررسی‌ها در قالب طرح آزمایشی کاملاً تصادفی انجام شد. برای اطمینان از پراکندگی نرمال داده‌ها از روش آزمون Levens' test و همچنین Residual graph در برنامه SPSS Vers. 13 استفاده شد. چنانچه داده‌های عددی توزیع نرمال نداشتند به Log و یا LogX+2 انتقال داده شده و سپس با استفاده از جدول تجزیه واریانس مورد آزمون قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها برای آزمایش‌هایی که بیش از دو تیمار داشتند به روش دانکن و در غیر این به روش t-test استفاده شد.

نتیجه و بحث

- بررسی تأثیر قارچ روی زنده مانی و باروری زنبور

الف) تأثیر قارچ روی بارورسازی زنبور نر آلوده: بررسی زنبورهای نر که با غلظت 10^5 اسپور در میلی‌لیتر تلقیح شده بودند نشان داد که حدود ۵۰ درصد آن‌ها آلودگی درونی به قارچ را داشته و بلاستوسپور داخل همولنف آن‌ها دیده شد. در تمامی زنبورهایی که با غلظت 10^7 اسپور در میلی‌لیتر آلوده شده بودند بلاستوسپور به تعداد فراوان وجود داشت. تجزیه آماری داده‌ها چنین نشان داد که طول عمر زنبورهای ماده سالم جفتگیری کرده با نرهای (سالم) شاهد ۱/۶±۹/۶ روز بود. طول عمر ماده‌های جفتگیری کرده با نرهای تیمار شده با غلظت 10^5 و 10^7 اسپور در میلی‌لیتر به ترتیب ۱/۱±۹/۱ و ۱/۲±۸ روز بود. مقایسه میانگین‌ها اختلاف معنی‌داری را بین تیمارها نشان نداد (P=۰/۶۸، df=۲، F=۰/۳۸ و CV=۲۳/۳). بررسی زنبورهای ماده پس از مرگ با استفاده از میکروسکوپ هیچگونه آلودگی را نشان نداد. همچنین نتایج نشان داد که چنانچه زنبورهای نر آلوده با ماده‌های سالم جفتگیری کنند میزان تخمریزی در ماده‌ها تحت تأثیر قرار نخواهد گرفت. بطوریکه میانگین تخم‌های گذاشته شده در ماده‌های شاهد ۲۳±۹۰ عدد و در تیمارهای 10^5 و 10^7 اسپور در میلی‌لیتر به ترتیب ۱۸/۱±۱۱۸/۸ عدد و ۹/۷±۸۵/۶ عدد بود که از نظر آماری بین آن‌ها اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (P=۰/۵۰، df=۲، F=۰/۷

Archive of SID

www.SID.ir

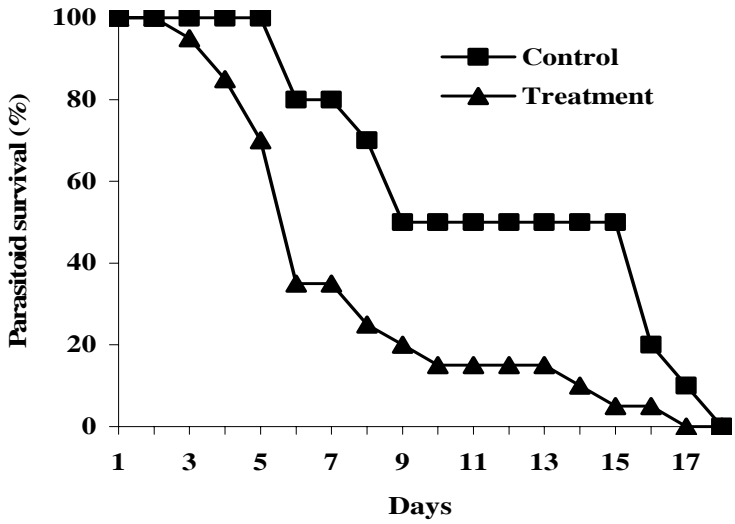
و CV=۱۵). نتایج به دست آمده از تجزیه اطلاعات حاصل از تعداد نتاج ماده تولید شده در تیمارهای آلوده با غلظت‌های مختلف (۷/۱±۳۸/۱ درصد در غلظت 10^{5} اسپور در میلی‌لیتر و ۷/۵±۴۶/۶ درصد در غلظت 10^{7} اسپور در میلی‌لیتر) و همچنین در شاهد (میانگین ۸/۶±۳۹/۰۸ درصد) اختلاف معنی‌داری نداشتند (P=۰/۸۷، df=۲، F=۰/۱۳ و CV=۱۶/۷).

ب) تأثیر قارچ روی زنده‌مانی و تخمریزی زنبور ماده آلوده: زنبورهایی که با غلظت 10^{7} اسپور در میلی‌لیتر آلوده شده بودند در تمامی‌آن‌ها بلاستوسپور به تعداد فراوان دیده می‌شد. نتایج نشان داد که در طول عمر و میزان نتاج ماده تولید شده در ماده‌های آلوده و شاهد پس از جفتگیری با نرهای سالم اختلاف معنی‌داری وجود دارد. میانگین طول عمر ماده‌های شاهد ۱/۴۸±۱۰/۷ روز و ماده‌های آلوده شده با غلظت 10^{7} اسپور در میلی‌لیتر ۰/۹۴±۶/۶۱ روز به دست آمد (t=۲/۵۵، df=۱، Sig. (2-tailed)=۰/۰۱ و CV=۱۹). میانگین کل تخمریزی ماده‌ها در تیمار شاهد ۱۶/۴±۱۶۱/۳ عدد بود. در حالیکه میانگین تخمریزی ماده‌های آلوده شده با غلظت 10^{7} اسپور در میلی‌لیتر قارچ ۱۶/۶±۱۰۶/۷۲ عدد محاسبه شد که اختلاف معنی‌داری با هم داشتند (t=۰/۲/۵، df=۱، Sig.(2-tailed)=۰/۰۱ و CV=۱۲/۵). نتاج ماده بدست آمده در تیمار شاهد ۳/۷±۴۵/۴ درصد و در تیمار غلظت 10^{7} اسپور در میلی‌لیتر ۲/۹±۴۳/۵۴ درصد بود (t=۰/۳۷، df=۱، Sig.(2-tailed)=۰/۷۱ و CV=۱۳) که اختلاف معنی‌داری را نشان ندادند.

میانگین وزن نتاج ماده حاصل از جفتگیری ماده‌های شاهد و آلوده شده با غلظت 10^{7} اسپور در میلی‌لیتر با نرهای سالم به ترتیب ۱/۴±۱۰۳/۷ میلی‌گرم و ۱/۸±۱۰۷/۱۸ میلی‌گرم بود. مقایسه دو میانگین نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین وزن نتاج ماده در تیمارها وجود ندارد (t=−۱/۴ و df=۱، Sig. (2-tailed)=۰/۱۶، CV=۲۷).

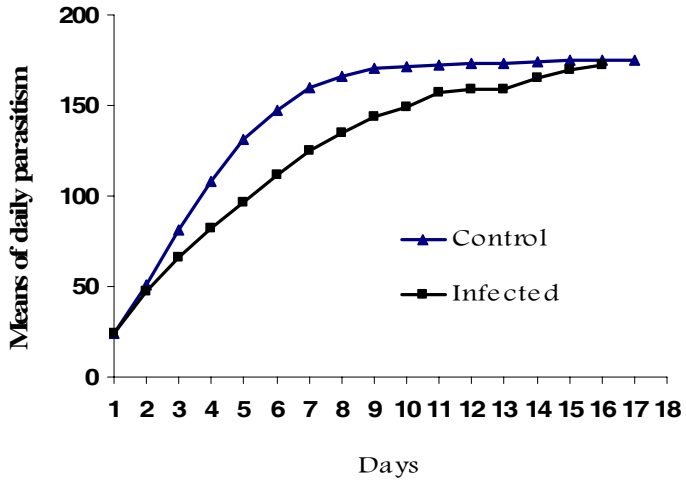
Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱- زنده‌مانی زنبورهای ماده *A. nigripes* آلوده شده با غلظت $۱۰^{۷}$ اسپور در میلی‌لیتر از قارچ *L. muscarium* و شاهد پس از جفتگیری با نرهای سالم

Fig.1- Survival of *A. nigripes* females treated with 10^{7} spore/ml. of *L. muscarium* and mated with healthy males



شکل ۲- میانگین تخمریزی روزانه (تجمعی) زنبورهای ماده *A. nigripes* درتیمار شاهد و آلوده شده با غلظت $۱۰^{۷}$ اسپور در میلی‌لیتر از قارچ *L. muscarium* پس از جفتگیری با نرهای سالم

Fig. 2- Daily parasitism rate (cumulative) of *A. nigripes* females treated with 10^{7} spore/ml. of *L. muscarium* and mated with healthy males

www.SID.ir

بررسی تأثیر قارچ روی رفتار جفتگیری زنبورهای نر آلوده:

مدت زمان لازم برای شروع جفتگیری: بررسی زنبورهای نر که با غلظت 10^7 اسپور در میلی‌لیتر تلقیح شده و مدت ۳ روز از آلودگی آن‌ها گذشته بود، نشان داد که حدود ۵۰ درصد آن‌ها آلودگی درونی به قارچ را داشته و بلاستوسپور داخل همولنف آن‌ها دیده می‌شد. در حالیکه در تمامی‌زنبورهایی که ۴ روز از آلوده سازی آن‌ها می‌گذشت بلاستوسپور به تعداد فراوان وجود داشت. نتایج تجزیه واریانس زمان ثبت شده برای این شاخصه در هر یک از تیمارها نشان داد که سطوح آلودگی نرها (بر اساس پیشرفت زمان) در مدت زمان لازم برای شروع جفتگیری مؤثر واقع می‌شود. آلودگی زنبورها به قارچ سبب می‌شود تا زمان لازم برای جفتگیری افزایش یافته بطوریکه میانگین زمان پیش از جفتگیری برای زنبورهای شاهد ۲۱/۰۴±۱۱۹/۶۷ ثانیه (سطح A)، برای نرهای آلوده پس از ۳ روز ۲۱/۸۲±۱۶۳/۸۴ ثانیه (سطح AB) و برای نرهای آلوده پس از ۴ روز ۱۸/۸±۲۰۵/۱ ثانیه (سطح B) شود، و حتی برخی از زنبورها موفق به جفتگیری نشوند (P=۰/۰۰۴ و df=۲ و F=۵/۹۳، CV=۲۳/۸).

۲) مدت زمان جفتگیری: نتایج چنین نشان داد که طول دوره جفتگیری زنبورهای نر در شاهد با میانگین ۴/۸±۱۰۶/۴ ثانیه و زنبورهایی که ۳ روز و ۴ روز از آلودگی آن‌ها می‌گذشت به ترتیب با میانگین ۴/۱±۹۸/۸ و ۳/۸±۹۵/۴ ثانیه بود که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری بین آن‌ها مشاهده نشد (P=۰/۲ وdf=۲ و F=۱/۶، CV=۱۸/۹).

تأثیر قارچ روی رفتار جفتگیری زنبور ماده آلوده:

۱) مدت زمان لازم برای شروع جفتگیری: میانگین زمان قبل از جفتگیری برای زنبورهای ماده در تیمار شاهد ۲۰/۸۱±۱۰۰/۰۳ ثانیه و ماده‌هایی که ۳ و ۴ روز از آلودگی آن‌ها می‌گذشت به ترتیب با میانگین‌های ۲۷/۴±۹۳/۸ و ۲۲/۳±۹۶/۳ ثانیه بود. مقایسه آماری میانگینها تفاوتی را بین آن‌ها نشان نداده و همگی در یک گروه آماری قرار گرفتند (P=۰/۸۵ وdf=۲ وF=۰/۱۵، CV=۲۴/۸).

۲) طول زمان جفتگیری: طول دوره جفتگیری زنبورهای ماده که سه روز و چهار روز از آلودگی آن‌ها می‌گذشت به ترتیب ۱۳/۴±۱۰۴/۵ ثانیه و ۴/۹±۱۱۴/۸ ثانیه بود که با تیمار شاهد

Archive of SID

www.SID.ir

(با میانگین ۶/۴±۹۰/۷ ثانیه) از نظر آماری تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (P=۰/۱۳ و df=۲ ،F=۲/۰۹ ،CV=۱۰).

پس از آلوده سازی زنبورهای نر *A. nigripes* با قارچ *L. muscarium* به مدت ۷۲ ساعت مشاهده شد که نیمی‌از زنبورهای آلوده شده با غلظت $۱۰^{۵}$ اسپور در میلی‌لیتر و تقریبا تمامی‌زنبورهای نر آلوده شده با غلظت $۱۰^{۷}$ اسپور در میلی‌لیتر، آلودگی درونی نشان دادند. از آنجا که زنبورهای ماده سالم پس از جفتگیری با نرهای آلوده تحت بررسی قرار گرفتند، نتایج نشان داد که نه تنها بلاستوسپور از طریق مواد انتقالی از طریق نر به ماده منتقل نمی‌شود، بلکه از طریق تماسی نیز امکان آلودگی وجود ندارد. مهم‌ترین دلیل عدم انتقال بلاستوسپور از طریق اسپرم و سایر ترشحات به جنس مخالف، محفوظ بودن آن‌ها در بافت‌های مربوطه بوده که آن‌ها را از همولنف حشره جدا می‌سازند. عدم انتقال قارچ از طریق تماس از یک جنس به جنس مخالف نیز دلیل روشنی دارد. زیرا اسپورزایی قارچ روی سطح بدن حشره هنگامی‌اتفاق می‌افتد که اولا شرایط رطوبتی مهیا بوده و ثانیاً فرصت کافی برای خروج از جسد حشره را داشته باشد. معمولاً حداقل زمان لازم برای این عمل ۱۲۰ ساعت است که در بررسیهای فوق این شرایط مهیا نبوده است (Askary *et al.*, 1999). بنابر این در کاربرد قارچ این اطمینان وجود دارد که تماس‌های جنسی پارازیتویید نقشی در آلوده سازی نداشته است. همین نتایج برای ماده‌های آلوده جفتگیری کرده با نرهای سالم نیز قابل تعمیم است.

طول عمر، میزان پارازیتیسم و نسبت جنسی نتاج بدست آمده از ماده‌هایی که با نر آلوده جفتگیری کرده بودند نیز تفاوت معنی داری را با تیمار شاهد نشان ندادند. این شاخصه‌ها دلالت بر این دارند که زنبورهای نر اگر چه آلوده هستند اما در صورت موفقیت در جفتگیری با ماده‌های سالم صفات و توان خود را از نظر فیزیولوژیکی حفظ کرده و تأثیری روی شاخصه‌های زیستی زنبورهای ماده سالم ندارند.

گزارش‌های سایر محققین در مورد اثر بیمارگرهای حشرات روی باروری و نسبت جنسی پارازیتوئیدها و شکارگرها قابل توجه می‌باشد. Painter و همکاران در سال ۱۹۹۶ اعلام کردند که هنگامی‌که سنجاقک‌های *Erythemis simplicicollis* (Say) (شکارگر پشه آنوفل) با باکتری *B. thuringiensis* آلوده شوند، قابلیت پرواز، طول عمر، نسبت جنسی و باروری آن‌ها با

Archive of SID

www.SID.ir

سنجاقک‌های سالم تفاوت معنی داری نداشت، اما وزن نتاج ماده‌های آلوده کمتر از وزن نتاج ماده‌های سالم بود. Salama *et al*. (1991) ضمن بررسی اثرات متقابل باکتری *B. thuringiensis* و زنبور Wesmael *Bracon brevicornis* (پارازیتوئید شب پره هندی)، گزارش کردند که طول عمر زنبورهای آلوده شده به باکتری کوتاهتر از زنبورهای سالم بود. همچنین مطالعه اثر بیماریزایی قارچ Sorokin *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) روی ملخ *Locusta pardalina* (Walker) نشان داد که آلودگی تأثیری روی میزان باروری ملخ‌ها نداشته است (Arthurs & Matthew, 2000).

تحقیقات Fransen & Vanlenteren, (1993) نشان داد که چنانچه سفید بالک گلخانه *T. vaporariorum* پس از آلوده سازی توسط قارچ Webber *Aschersonia aleyrodis* در اختیار زنبور پارازیتوئید Gahan *Encarsia formosa* قرار داده شود، زنبورهای خارج شده از میزبان آلوده از لحاظ میزان تولید مثل تفاوت معنی‌داری با زنبورهای پارازیتوئید خارج شده از میزبان‌های سالم نداشتند. همچنین قارچ بیمارگر Humber *Pandora neoaphidis* (Remaudiere & Hennebert) و زنبور پارازیتوئید Holiday *Aphidius ervi* توانستند سیکل زندگی خود را روی میزبان واحد خود (نوعی شته) تکمیل کنند، بدون اینکه آلودگی روی میزان تخمریزی زنبورها اثر سوئی داشته باشد (Baverstock *et al*., 2005).

علاوه بر تأثیر آلودگی روی فاکتورهایی نظیر تخمریزی، طول عمر و باروری پارازیتوئید آنچه در تحقیق حاضر مورد توجه ویژه قرار گرفت بررسی رفتارهای جفتگیری زنبورهای آلوده شده نظیر زمان پیش از جفتگیری و طول زمان جفتگیری است. بر اساس نتایج به دست آمده، زمانی که نرهای آلوده شده با ماده‌های سالم برای جفتگیری انتخاب شدند، مدت زمان پیش از جفتگیری نسبت به نرهای شاهد به تعویق افتاده و حتی برخی افراد موفق به جفتگیری نشدند. در این ارتباط دو فرضیه مهم می‌تواند مطرح باشد. نخست اینکه نرهای آلوده بدلیل ضعف فیزیولوژیک قادر به جفتگیری نبودند. دوم اینکه می‌توان استنتاج نمود که زنبورهای ماده سالم تمایل کمتری به جفتگیری با نرهای آلوده نشان می‌دهند. زیرا زنبورهای ماده با شناسایی افراد نر سالم درصدد تولید نتاج قوی و سالم هستند. اگرچه این موضوع مورد تحقیق قرار نگرفته است ولی تلاش و دقت در انتخاب میزبان سالم توسط پارازیتوییدها امری اثبات شده است (Brooks, 1993). این در حالی است که زنبورهای نر سالم هنگام جفتگیری با

Archive of SID

www.SID.ir

ماده‌های آلوده اولویتی برای گزینش ماده‌ها از نظر آلودگی و سالم بودن آن‌ها نشان ندادند و زنبورهای ماده شاهد تقریبا همزمان با ماده‌هایی که ۳ و یا ۴ روز از آلودگی آن‌ها می‌گذشت شروع به جفتگیری نمودند. Arthus and Matthew (2000) گزارش کردند که رفتارهای جفتگیری ملخ‌ها پس از آلوده شدن توسط قارچ *M. anisopliae* کند می‌شود.

سطوح آلودگی روی طول زمان جفتگیری در هر دو آزمایش بی‌تأثیر بود و آلودگی موجود در همولنف حشره آلوده ممانعتی برای انجام جفتگیری ایجاد نکردند. علیرغم اینکه دلیل روشنی مبنی بر چگونگی جفتگیری و انتقال کامل اسپرم‌ها از نرها به ماده‌ها وجود ندارد، ولی میزان باروری و تخمریزی ماده‌ها و ظهور نتاج (نتایج آزمایشات قبل) موید این مطلب بود که احتمالا آلودگی، اختلالی در جفتگیری زنبورها ایجاد نکرده است.

به طور کلی نتایج آزمایش‌های این تحقیق نشان داد که در بررسی اثرات عوامل بیمارگر حشرات نباید تنها به اثرات مستقیم بیمارگری آنها توجه نمود، بلکه لازم است برای حصول نتیجه بهتر از کاربرد عوامل بیولوژیک کلیه جوانب و اثرات ممکن بررسی شده و برنامه ریزی لازم برای زمان‌بندی استفاده از این عوامل صورت پذیرد.

منابع

ARTHUS, S. and B. T. MATTHEW, 2000. Effect of mycoinsesticide on feeding and fecundity of the brown Locust *Locustana pardalina*. *Biocontrol science and technology*. 10, 321-329.

ASKARY, H. 1992. Laboratory investigation concerning pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* on the larvae of European Corn Borer *Ostrinia nubilalis* persica. M.Sc. Thesis, Tehran University, 192pp. (In Persian with English summary).

ASKARY, H. and H. YARMAND, 2007. Development of the entomopathogenic

* **نشانی نگارندگان:** دکتر حسن عسکری، مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، صندوق پستی ۱۴۵۴، تهران ۱۹۳۹۵، ایران؛ مهندس مریم عجم حسنی، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، صندوق پستی ۱۱۶-۱۳۱۸۵، تهران، ایران.

Archive of SID

www.SID.ir

hyphomycete *Lecanicillium muscarium* (Hyphomycetes: Moniliales) on various hosts. *European Journal of Entomology* 104: 67-72.

ASKARY, H. and J. BRODEUR, 1999. Susceptibility of larval stages of the aphid parasitoid *Aphidius nigripes* to the entomopathogenic fungus, *Verticillium lecanii*. *Journal of Invertebrate Pathology* 73: 129-132.

ASKARY, H., M. AJAM HASSANI and H. YARMAND, 2006. Investigation on survival of *Aphidius nigripes* Ashmead (Hym.: Aphidiidae) reared on infected potato aphid by *Lecanicillium muscarium* (Deut.: Moniliaceae). *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences* 71: 2, 375-385.

ASKARY, H., N. BENHAMOU and J. BRODEUR, 1999. Characterization of aphid invasion by the hyphomycete *Verticillium lecanii. Journal of Invertebrate Pathology*. 74: 1-13.

BAVERSTOCK, J. P. G. and J. K. Pell, ALDERSON, 2005. Influence of the aphid pathogen *Pandora neoaphidis* on the foraging behaviour of the aphid parasitoid *Aphidius ervi*. *Ecological Entomology* 30: 665.

BROOKS, W. M. 1993. Host-parasitoid-pathogen interactions. pp. 231-272 In Beckage N. E., Thompson S. N. & Federici B. A. (Eds) *Parasites and Pathogens of Insects: Pathogens.* Academic Press Inc., USA.

CLOUTIER, C., J. N. MCNEIL and J. RENGERE, 1981. Fecondity, lingevity, and sex ratio of *Aphidius nigripes* (Hymenoptera: Aphidiidae) parasitizing different stages of ots host, *Macrosiphum euphorbiae* (Homoptera: Aphidiidae). *The Canadian Entomologist*, 113: 193-198.

EL-MAGHRABY, M. M. A., A. HEGAB and S. I. YOUSIF-KHALILI, 1988. Interactions between *Bacillus thuringiensis* Berl., *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and the host-parasitoid system *Spodoptera littoralis* Boised. (Lepidoptera: Noctuidae) *Microplitis rufiventris* Kok. (Aphididae). *Journal of Applied Entomology* 106: 417-421.

FLEXNER, J. L., B. LIGHTHART and B. A. CROFT, 1986. The effects of microbial pesticides on non-target, beneficial arthropods. *Agriculture Ecosystem Environmental*. 16: 203-254.

FRANSEN, J. J. and J. C. VANLENTEREN, 1993. Survival the parasitoid *Encarsia formosa* after treatment of parasitized greenhouse whitefly larvae with fungal spores of *Aschersonia aleyrodis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 71: 235-243.

HALL, R. A. 1982. Control of whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* and cotton aphid, *Aphis gossypii*, in glasshouses by two isolates of the fungus, *Verticillium lecanii*. *Annual*

Archive of SID

www.SID.ir

Apply Biology 101: 1-11.

HALL, R. A. and H. D. BURGES, 1979. Control of aphids in glasshouses with the fungus *Verticillium lecanii. Annual Apply Biology* 93: 235-246.

HODEK, I. 1993. Habitat and food specificity in aphidophagous predators. *Biocontrol Science and Technology* 3: 91-100.

JAVANMOGHADDAM, H. and H. HEIDARI, 1995. Comparison of *Bacillus thuringiensis* and diflubenzuron for the control of *Lymantria dispar* L under laboratory condition. *Iranian Journal of Agricultural Sciences* (In Persian with English summary) 26: 3, 73-78.

NAVON, A., J. D. HARE and B. A. FEDERICI, 1993. Interactions among *Heliothis virescens* larvae, cotton condensed tannin and the CryIA (c) (delta-endotoxin of *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Chemical Ecology* 19: 2485-2499.

PAINTER, M. K., K. J. TENNESSEN and T. D. RICHARDSON, 1996. Effect of repeated applications of *Bacillus thuringiensis* is raelensis on the mosquito predator *Erythemis simplicicollis* (Odonata: Libellulidae) from hatching to final instar. *Environmental Entomology*, 25, 1: 184-191.

ROSELYNE, M L., C. CLOUTIER and J. BRODEUR, 2006. Prey selection by *Dicyphus hesperus* of infected or parasitized greenhouse whitefly first published. *Biocontrol Science and Technology* 16, 5: 485-494.

SALAMA, H. S., A. and F. N. ZAKI, 1982. Effect of *Bacillus thuringiensis* Berliner on parasites and predators of the cotton leafworm *Spodoptera littoralis* (Boisd) (Lepidoptera: Noctuidae). *Zeitschrift fur Angewandte Entomologie* 94: 498-504.

SALAMA, H. S., A. EL- MOURSY, F. N. ZAKI, R. ABOUL-ELA and A. ABDEL- RAZEK, 1991. Parasites and predators of the meal moth *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Phycitidae) Hbn. as affected by *Bacillus thuringiensis* Berl. *Journal of Applied Entomology* 112: 244-253.

TAMASHIRO, M. 1968. Effect of insect pathogens on some biological control agents in Hawaii. *Proc J.U.S. Microbial control Insect Pests* 147-153.

THOMAS, E. M. and T. F. WATSON, 1986. Effect of Dipel (*Bacillus thoringiensis*) on the survival of immature and adult *Hyposoter exiguae* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 47: 178-183.

YOKOMI, R. K. and T. R. GOTTWALD, 1988. Virulence of *Verticillium lecanii* isolates in

Archive of SID

www.SID.ir

Aphids determined by detached-leaf bioassay. *Journal of invertebrate pathology* 51: 250-258.

Address of the authors: Dr. H. ASKARY, Iranian Research Institute of Plant Protection, P. O. Box 1454, Tehran 19395, Iran; Eng. M. AJAM HASSANI, Research Institute of Forests and Rangelands, P. O. Box 13185-116, Tehran, Iran.

Archive of SID

www.SID.ir