

## اثرات غلظت‌های زیر کشنده قارچ *Beauveria bassiana* بر پتانسیل تولید مثل شپشه دندانه‌دار (*Oryzaephilus surinamensis*) در شرایط

### تغذیه از ارقام تجاری خرما

مسعود لطیفیان\*

مؤسسه تحقیقات خرما و میوه‌های گرمسیری کشور، اهواز، ایران

ابراهیم سلیمان نژادیان

دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران

مهران غزوی

مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، تهران، ایران

محمد سعید مصدق و جمشید حیاتی

دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران

### چکیده

یکی از عوامل بیمارگر شپشه دندانه‌دار (*Oryzaephilus surinamensis* L.) قارچ *Beauveria bassiana* (Balsamo) می‌باشد. در این تحقیق اثر غلظت‌های زیر کشنده عامل بیمارگر بر باروری، میزان تخم‌گذاری و درصد تفریح تخم شپشه دندانه‌دار در شرایط تغذیه از سه رقم خرمای سایر، زاهدی و دیری در شرایط آزمایشگاهی بررسی گردید. حشرات کامل با ۵ غلظت زیرکشنده شامل  $10^2$ ،  $10^3$ ،  $10^4$ ،  $10^5$  و  $10^6$  اسپور در میلی‌لیتر تیمار و سپس با شاهد مقایسه شد. غلظت‌های زیر کشنده کاهش دهنده پتانسیل تولید مثل با استفاده از روش لگاریتم- پروبیت در هر رقم مشخص گردید. غلظت‌های مورد آزمایش عامل بیماری دارای اثرات کاهش دهنده در شاخص باروری بود. با افزایش غلظت اثرات تشدیدکنندگی رقم و قارچ بیمارگر بر کاهش نرخ باروری به تدریج بیشتر شد. کم‌ترین و بیشترین غلظت زیر کشنده برای کاهش ۵۰ درصد میزان تخم‌گذاری به ترتیب مربوط به جمعیت پرورش یافته روی رقم زاهدی و دیری و معادل  $10^3 \times 1/497$  و  $10^3 \times 4/963$  اسپور در میلی‌لیتر بود. کم‌ترین و بیشترین غلظت زیر کشنده برای کاهش ۵۰ درصد تفریح تخم به ترتیب مربوط به جمعیت پرورش یافته روی رقم زاهدی و سایر و معادل  $10^3 \times 6/316$  و  $10^3 \times 8/28$  اسپور در میلی‌لیتر

\* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی : masoudlatifian@yahoo.com

تاریخ دریافت : ۹۰/۲/۱۴ ، تاریخ پذیرش : ۹۰/۱۲/۲۷

بود. نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت‌های زیرکشنده قارچ *B. bassiana* دارای اثرات معنی‌داری در کاهش قدرت تولید مثل آفت بوده‌اند. توانایی این عامل بیمارگر در کاهش قدرت تولید مثل آفت علاوه بر غلظت قارچ به رقم خرما می‌مورد تغذیه آفت نیز بستگی داشت.

**واژه‌های کلیدی:** شپشه دندانه‌دار، *Oryzaephilus surinamensis*، غلظت‌های زیرکشنده، پتانسیل تولید مثل، *Beauveria bassiana*

### مقدمه

در کشور ما به طور متوسط سالیانه ۱۰ تا ۲۰ درصد محصولات کشاورزی در انبارها، به وسیله آفات از بین می‌روند (Bagheri-Zenouz, 1986). این خسارت در بعضی از نقاط کشور و در مورد پاره‌ای از محصولات به مراتب بیشتر از این مقدار است. یکی از مهم‌ترین آفات انباری خرما شپشه دندانه‌دار (*Oryzaephilus surinamensis* L.) می‌باشد. تغذیه لاروها و افراد کامل این حشره از خرما اهمیت آن را به عنوان یک آفت دوچندان نموده است (Mohajeri, 1984). مطالعات نشان می‌دهد که در استان خوزستان تنها ۸ درصد خرما از نوع درجه یک و ۹۲ درصد باقیمانده از نوع درجه دو و سه می‌باشد. برای خرما می‌تواند از روش‌های گران‌تر نظیر انواع روش‌های بسته بندی، تیمارهای حرارتی، روش‌های اتمسفری و تلفیق آن‌ها برای کنترل آفات انباری قابل پیشنهاد می‌باشد. در حالی که برای خرماهای درجه دو و سه که نیاز به بسته‌بندی ندارند روش‌های ارزان‌تری نظیر سموم میکروبی، گازدهی با سموم شیمیایی مجاز و یا تلفیق آنها به عنوان جایگزین متیل‌بروماید مناسب می‌باشند (Latifian, 2003). مطالعات اولیه نشان داده است که در انبارهای خرما علاوه بر فعال بودن زنبور پارازیتوئید *Cephalonomia tarsalis* Ashmead امکان استفاده از قارچ *Beauveria bassiana* (Balsamo) نیز علیه شپشه دندانه دار وجود دارد (Bartett & Jaronski 1988). در تحقیقات (Jassim et al. 1998) قارچ *B. bassiana* را به نسبت  $3 \times 10^5$  اسپور در متر مکعب در شرایط انبارداری خرما به کار بردند و توانستند تا ۹۶ درصد جمعیت *Carda cautella* Walk را کاهش دهند. پتانسیل کاربرد قارچ *B. bassiana* برای کنترل انواع آفات انباری از جمله *O. surinamensis* بیشتر از سایر قارچ‌های حشره‌خوار از جمله *Metarhizium anisopliae* Metsch و *Nomurea rileyi* Farlow می‌باشد (Beegle & Yamamoto 1992). در میان جدایه‌های ایرانی مورد آزمایش از این قارچ کم‌ترین  $LC_{50}$  مربوط به جدایه IRAN 441C روی حشرات کامل و لارو شپشه دندانه دار و به ترتیب معادل  $2/51 \times 10^4$  و  $2/31 \times 10^3$  اسپور در میلی لیتر بوده است. بیشترین مقدار  $LC_{50}$  مربوط به جدایه IRAN 440C روی حشرات کامل و لارو این آفت و به ترتیب معادل  $3/34 \times 10^5$  و  $9/02 \times 10^3$  اسپور بوده است.

(Latifian et al. 2009). قدرت بیماری‌گری این قارچ روی مراحل لارو و حشره کامل آفت پرورش یافته روی سه رقم سایر، زاهدی و دیری نیز بررسی شد. نتایج نشان داد برای مرحله رشدی حشره کامل کم‌ترین  $LC_{50}$  مربوط به رقم زاهدی معادل  $2/46 \times 10^4$  اسپور در میلی‌لیتر و بیشترین آن مربوط به رقم دیری معادل  $2/69 \times 10^4$  اسپور در میلی‌لیتر بود. برای مرحله لاروی کم‌ترین  $LC_{50}$  مربوط به رقم سایر و معادل  $3/31 \times 10^3$  اسپور در میلی‌لیتر و بیشترین آن مربوط به رقم دیری معادل  $6/29 \times 10^3$  اسپور در میلی‌لیتر بود (Latifian et al. 2010). قدرت بیماری‌گری یک عامل بیمارگر خصوصیات زیستی مهمی بوده اما روند کاهش آن در طی یک دوره همه‌گیری خصوصیت مهم‌تری است که کمتر به آن توجه شده است. بسیاری از عوامل بیمارگر حشرات تولید زهرابه می‌کنند. این زهرابه‌ها در بسیاری از قارچ‌های بیمارگر حشرات (Roberts, 1981; Gillespie et al. 1997) و باکتری‌های بیمارگر حشرات (Beegle & Yamamoto, 1992) شناسایی شده‌اند. این زهرابه‌ها علاوه بر تأثیر مستقیم بر بقای حشرات، خصوصیات مختلف زیستی نظیر قدرت تولید مثل، رشد و تغذیه را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهند. این تغییرات را می‌توان از طریق مطالعات آزمایشگاهی مشخص نمود (Tanada & Kaya, 1993). مطالعات انجام شده در ارتباط با اثرات زیر کشنده قارچ *B. bassiana* بر حشرات کامل سوسک کلرادوی سیب زمینی *Leptinotarsa decemlineata* Say نشان داد که تعداد کل تخم‌های گذاشته شده در حشرات بیمار کاهش یافته است (Fergues et al., 1991). مطالعات انجام شده روی شب‌پره پشت الماسی *Plutella xylostella* L. که توسط قارچ *Zoophthora radicans* Brefeld آلوده شده بودند، نشان داد که این قارچ نیز باعث کاهش میزان تخم‌گذاری شب‌پره‌های ماده می‌گردد (Furlong et al., 1997). مطالعات انجام شده در رابطه با غلظت‌های زیر کشندگی قارچ *Metarhizium anisopliae* روی کنه‌های خانواده Ixodidae نشان داد که این قارچ خصوصیات مختلف رشدی و جمعیت شناختی نظیر میزان باروری، طول دوره باروری، قبل و بعد از باروری، طول دوره انکوباسیون تخم‌ها، وزن کنه‌های ماده و قدرت تغذیه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Gindin et al., 2001).

با توجه به اهمیت موضوع در این پژوهش اثرات دزهای زیر کشنده قارچ *B. bassiana* در جمعیت شپشه‌دندانه دار خرما در شرایط تغذیه از ارقام مهم خرما مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

### پرورش حشره

مراحل مختلف رشدی شپشه‌دندانه‌دار از خرمای آلوده از انبارهای خرمای استان خوزستان جمع‌آوری و به آزمایشگاه حشره‌شناسی موسسه تحقیقات خرما و میوه‌های گرمسیری کشور انتقال داده شدند. حشرات کامل (نر و ماده) به وسیله آسپیراتور جداسازی شده و پرورش آن‌ها روی سه رقم سایر، زاهدی و دیری در دمای  $27 \pm 5$  سلسیوس و رطوبت نسبی  $60 \pm 5$  درصد

درون اتاقک رشد و درون ظروف پلاستیکی استوانه‌ای شفاف درب دار به ابعاد  $۷/۵ \times ۸/۵$  سانتی‌متر در ۱۰ نسل انجام شد.

### کشت جدایه قارچ

جدایه‌های Iran441c از قارچ *B. bassiana* مورد استفاده در این تحقیق از موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور تهیه شد. پس از آلوده نمودن حشرات کامل به هاگ‌های جدایه، نسبت به آلوده سازی متوالی و مکرر حشره میزبان به دفعات ۱۰ مرحله ایجاد بیماری اقدام شد. آزمایش‌ها نشان داده است که آلوده سازی متوالی و مکرر حشره میزبان نه تنها از زهرآگینی قارچ جلوگیری نمی‌کند، بلکه به میزان زهرآگینی و خاصیت تهاجمی قارچ نیز می‌افزاید (Bari & Kaya, 1984).

پس از خالص سازی، جدایه قارچ مورد نظر در محیط غذایی SDAY<sup>۱</sup> کشت شد. برای تهیه محیط کشت SDAY از ترکیب آگار ۱۵ گرم، دکستروز ۲۰ گرم، باکتوپیتون ۱۰ گرم، عصاره مخمر ۲ گرم و آب مقطر به میزان ۱۰۰۰ میلی‌لیتر استفاده شد. بعد از اسپورزایی کامل (کشت ۱۲-۱۴ روزه) سطح محیط کشت با سوزن انتقال خراش داده شد و در داخل ارلن‌های جداگانه جمع‌آوری گردید که حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل با محلول ۰/۰۵ درصد توئین<sup>۲</sup> ۸۰ بود. محلول فوق به مدت ۵ دقیقه به طور پاندولی به هم زده شد. با استفاده از لام گلبول شمار، غلظت‌های مختلف اسپور بر حسب تعداد در میلی‌لیتر تهیه شد. پس از حل کردن مواد درون ارلن به وسیله به هم زن الکتریکی حرارتی، ارلن‌های حاوی محیط کشت جهت ضدعفونی به دستگاه اتوکلاو با فشار ۱/۵ اتمسفر و دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه منتقل شدند.

### بررسی اثرات غلظت‌های زیر کشنده قارچ بر باروری سوسک

برای تهیه قفس‌های پرورش از ظروف استوانه‌ای استیرنی به قطر ۷ سانتی‌متر و با ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر که درون آن میوه خرما به منظور تغذیه قرار داده شده بود، استفاده گردید. یک سوراخ جهت تهویه هوا در قسمت درب ظرف ایجاد کرده و سوراخ‌ها با پارچه تنظیف پوشانده شدند. درون هر ظرف تعداد ۱۰۰ جفت حشره کامل نر و ماده ۱ تا ۳ روزه (قبلاً با قارچ آلوده شده) به وسیله اسپیراتور استریل رهاسازی شد. این بررسی در شرایط آزمایشگاهی و در دمای  $27 \pm 5$  درجه سلسیوس و رطوبت نسبی  $60 \pm 5$  درصد انجام گرفت. با در نظر گرفتن متوسط غلظت کشنده، پنج غلظت لگاریتمی بین آن غلظت و غلظت حداقل در نظر گرفته شد. بدین ترتیب حشرات کامل با پنج غلظت زیر کشنده شامل  $10^2$ ،  $5 \times 10^2$ ،  $10^3$ ،  $5 \times 10^3$ ،  $10^4$  اسپور در میلی‌لیتر و شاهد مورد آزمایش قرار گرفتند. برای آلوده سازی مراحل رشدی، آن‌ها را

<sup>۱</sup>. Sobered Dextrose Agar + Yeast extract

<sup>۲</sup>. Tween 80

همزمان با هم به مدت ۲۰ ثانیه درون سوسپانسیون هاگ فرو برده و همزمان با هم به کمک صافی استریل از محلول خارج کرده و پس از خروج درون انکوباتور در دمای  $25 \pm 2$  درجه سلسیوس و رطوبت نسبی  $85 \pm 5$  درصد برای دو روز نگهداری نموده و برای روزهای بعد در رطوبت نسبی ۶۰ درصد و دوره روشنایی (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) قرار گرفتند. پس از گذشت یک هفته از تغذیه این حشرات با در دست داشتن میانگین روزهایی که ۵۰ درصد از نتایج شمارش می‌شوند و نیز میانگین دوره رشدی آن بر حسب روز، با استفاده از فرمول زیر نرخ باروری (شاخص دُبی<sup>۳</sup>) محاسبه شده و برای ارزیابی اثرات تیمارها بر باروری آفت مورد استفاده قرار گرفت (Leon et al., 2006; Enarson et al., 2004).

$$D.I. = \frac{\text{کل تعداد نتایج سوسک نسل } F_1}{\text{متوسط دوره رشدی}} \times 100$$

آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و به صورت فاکتوریل با دو سطح انجام شد. فاکتور اول شامل سه رقم خرمای سایر، زاهدی و دیری و فاکتور دوم شامل پنج غلظت مصرفی و تیمار شاهد بود. پس از تجزیه واریانس، میانگین‌ها با استفاده از روش چند دامنه‌ای دانکن مقایسه گردیدند (Mulock & Chand, 2001).

به منظور بررسی روند کاهش نرخ باروری در سه رقم مورد بررسی با افزایش غلظت از روش رگرسیون خطی ساده بین غلظت‌های مصرفی به عنوان عامل مستقل و کاهش نرخ باروری نسبت به شاهد به عنوان عامل وابسته استفاده شد.

#### بررسی اثر غلظت‌های زیر کشنده قارچ بر میزان تخم‌گذاری سوسک

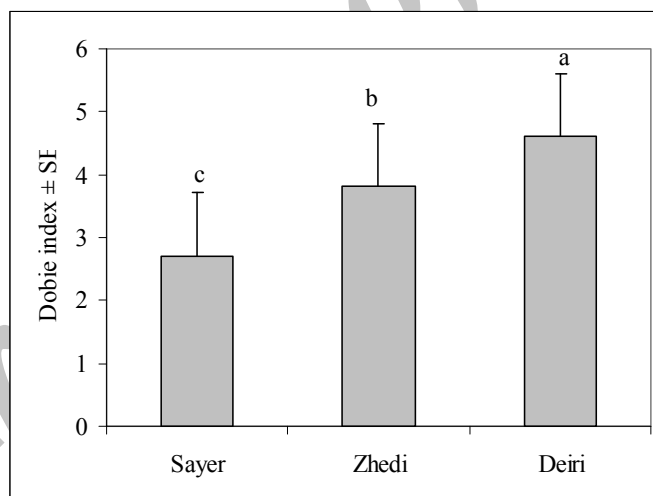
برای ارزیابی اثر غلظت‌های زیر کشنده بر میزان تخم‌گذاری از روش زیست‌سنجی استفاده گردید. به این ترتیب که سوسک‌ها مشابه روش قبل تیمار گردیدند. سپس تعداد کل تخم‌های قرار داده شده در هر تیمار با استفاده از روش قیف تر شمارش شدند. در روش قیف تر ۲۰ گرم خرمای نمونه‌برداری شده به درون یک ارلن ۲۵۰ میلی‌لیتری منتقل شده و سپس ۲۰ گرم کلرید سدیم، ۳۰ میلی‌لیتر سود سوزآور و ۴۰ میلی‌لیتر آب به آن اضافه شد. جهت رنگ آمیزی نمونه‌ها ۵ میلی‌لیتر متیلن بلو نیز به مخلوط حاصله اضافه گردید. مخلوط حاصله تا زمان جوش آمدن بروی دستگاه همزن حرارتی قرار داده شد. پس از گذشتن دو دقیقه از جوشیدن مخلوط، آن را از صافی عبور داده تا تفاله‌های خرما جدا شود. بافت کیتینی و مقاوم مراحل مختلف رشدی آفت شرایط قبلی را تحمل نموده و همراه با صاف کردن به ارلن جدید منتقل می‌شوند. مقدار ۴۰ سی سی نفت بی بو به ارلن اضافه گردید. این عمل موجب می‌گردد که تخم‌ها به

<sup>3</sup>. Dobie Index

دلیل بافت کیتینی غیر قطبی بین دو فاز قطبی (کلرید سدیم، سود سوگروور و آب) و غیر قطبی (نفت بی بو) متمرکز گردند. سپس با استفاده از قیف جداکننده این فاز بینابینی که حامل تخم آفت بود جدا شده و در زیر بینوکولر تراکم آن ارزیابی می‌شد. درصد کاهش میزان تخم‌گذاری با استفاده از روش آبوت نسبت به شاهد تصحیح شد. در نهایت با استفاده از روش لگاریتم- پروبیت غلظت‌های زیر کشته ۱۶، ۵۰، ۸۴ و ۱۰۰ درصد کاهش دهنده میزان تخم‌گذاری در هر رقم مشخص گردید (Enarson *et al.*, 2004).

## نتایج

**اثر تغذیه از غلظت‌های زیر کشته ارقام خرماي تلقیح شده با قارچ بر نرخ باروری سوسک**  
 نتایج تجزیه واریانس شاخص نرخ باروری (شاخص ذبی) اختلاف معنی‌داری در میان ارقام ( $\alpha = 0/1$ ,  $df = 5$ ,  $F = 156/68$ ) و در میان غلظت‌های مصرفی ( $\alpha = 0/1$ ,  $df = 2$ ,  $F = 32/75$ ) نشان داد. به منظور مقایسه میانگین‌های شاخص ذبی در ارقام مختلف از روش چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شده که نتایج آن در شکل یک ملاحظه می‌شود.



شکل ۱- مقایسه میانگین‌های شاخص ذبی در ارقام مختلف خرما تلقیح شده با قارچ *B. bassiana*  
**Figure 1.** Comparison the mean of Dobie index in inoculated date cultivars by *B. bassiana*

همان طور که در شکل یک ملاحظه می‌گردد، بیشترین نرخ باروری سوسک به ترتیب در رقم دیری و سپس در ارقام زاهدی و سایر ثبت گردید. به عبارت دیگر اثرات متقابل قارچ عامل بیمارگر و رقم، نرخ باروری سوسک را در رقم سایر بیشتر از زاهدی محدود نموده و این روند کاهش در رقم دیری نیز مشاهده شد.

علاوه بر این به منظور مقایسه میانگین‌های شاخص دُبی در غلظت‌های مختلف و در سه رقم مورد مطالعه نیز از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد که نتایج آن در جدول یک درج گردیده است.

**جدول ۱-** مقایسه اثرات متقابل غلظت قارچ *B. bassiana* و رقم خرما در مقدار شاخص دُبی  
**Table 1.** Comparison the cross effects of *B. bassiana* Dose and Cultivars on Dobie index

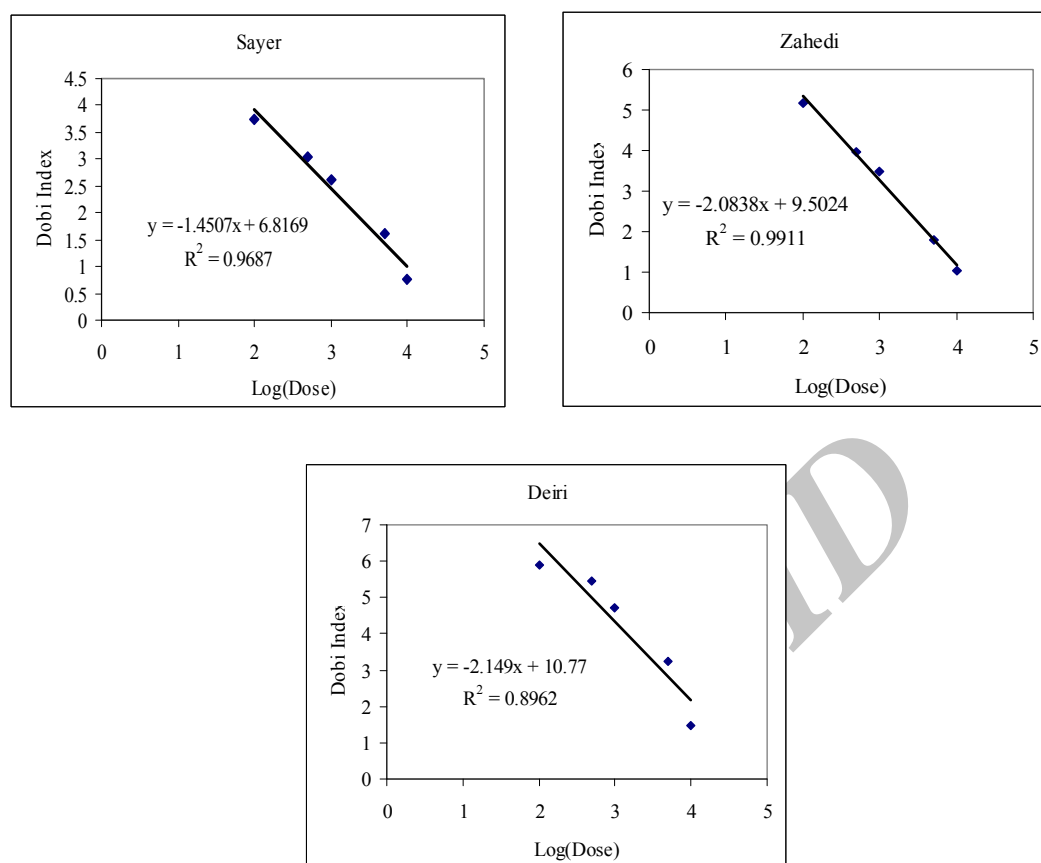
Cultivars	Different doses(Spore/ml)					
	100	500	1000	5000	10000	Control
Sayer	3.73 fg	3.03 i	2.61 j	1.63 k	0.75 l	4.51 e
Zahedi	5.71 d	3.96 f	3.45 gh	1.8 kl	1.03 a	7.41 c
Deiri	5.91d	5.44 e	4.72 hi	3.23 k	1.47	6.89 b

همان طور که در جدول یک ملاحظه می‌شود در تمام غلظت‌های مورد بررسی تفاوت معنی‌داری با شاهد از لحاظ نرخ باروری وجود داشت. تمام غلظت‌ها دارای اثرات کاهش دهنده در مقدار شاخص دُبی بوده و به تدریج با افزایش غلظت اثرات تشدید کنندگی رقم و قارچ بیمارگر بر نرخ باروری شپشه‌دندانه‌دار بیشتر شد.

به منظور بررسی روند تأثیر غلظت‌های مختلف بر نرخ باروری رابطه خطی بین لگاریتم غلظت به عنوان یک عامل مستقل با نرخ باروری به عنوان یک عامل وابسته، به صورت رگرسیونی مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن در شکل دو درج گردیده است. همان طور که در این شکل ملاحظه می‌گردد، ضریب کاهش نرخ باروری با افزایش غلظت در دو رقم دیری و زاهدی نزدیک به هم بوده و از روند تندتری نسبت به رقم سایر برخوردار بوده‌اند.

#### اثرات غلظت‌های زیر کشنده قارچ بیمارگر بر میزان تخم‌گذاری سوسک

توانایی غلظت‌های زیر کشنده جدایه انتخابی Iran441C روی میزان تخم‌گذاری حشره مورد بررسی پرورش یافته روی سه رقم سایر، زاهدی و دیری بررسی شد. پس از آلوده ساختن حشره با استفاده از جدایه انتخابی مورد آزمایش و سپری شدن دوره آزمایش آمار کاهش میزان تخم‌گذاری با استفاده از روش آبوت نسبت به شاهد تصحیح شده و به کمک روش آنالیز پروبیت غلظت‌های زیر کشنده مؤثر در کاهش تخم‌گذاری حشره محاسبه شد که نتایج آن در جدول دو منعکس شده است. همان طور که در این جدول ملاحظه می‌گردد کم‌ترین غلظت زیر کشنده برای کاهش ۵۰ درصد میزان تخم‌گذاری حشره مربوط به جمعیت پرورش یافته روی رقم زاهدی و معادل ۱۴۹۷ اسپور در میلی‌لیتر و بیشترین غلظت زیر کشنده برای کاهش ۵۰ درصدی میزان تخم‌گذاری حشره مربوط به جمعیت پرورش یافته روی رقم دیری و معادل ۴۹۶۳ اسپور در میلی‌لیتر برآورد گردیده است.



شکل ۲- رابطه بین غلظت قارچ *B. bassiana* با نرخ باروری شاخص ذبی در ارقام مختلف خرما

**Figure 2.** Relationship between dose of *B. bassiana* and fertility rate Dobi index on different date cultivars

**جدول ۲-** غلظت زیرکشنده جدایه‌های Iran441C قارچ *B. bassiana* مؤثر بر میزان تخم‌گذاری شپشه دنداندار خرما در سه رقم سایر، زاهدی و دیری

**Table 2.** Sub lethal dose of Iran441C isolate of *B. bassiana* affected the fecundity of sawtoothed beetle on Sayer, Zahedi and Deiri date cultivar

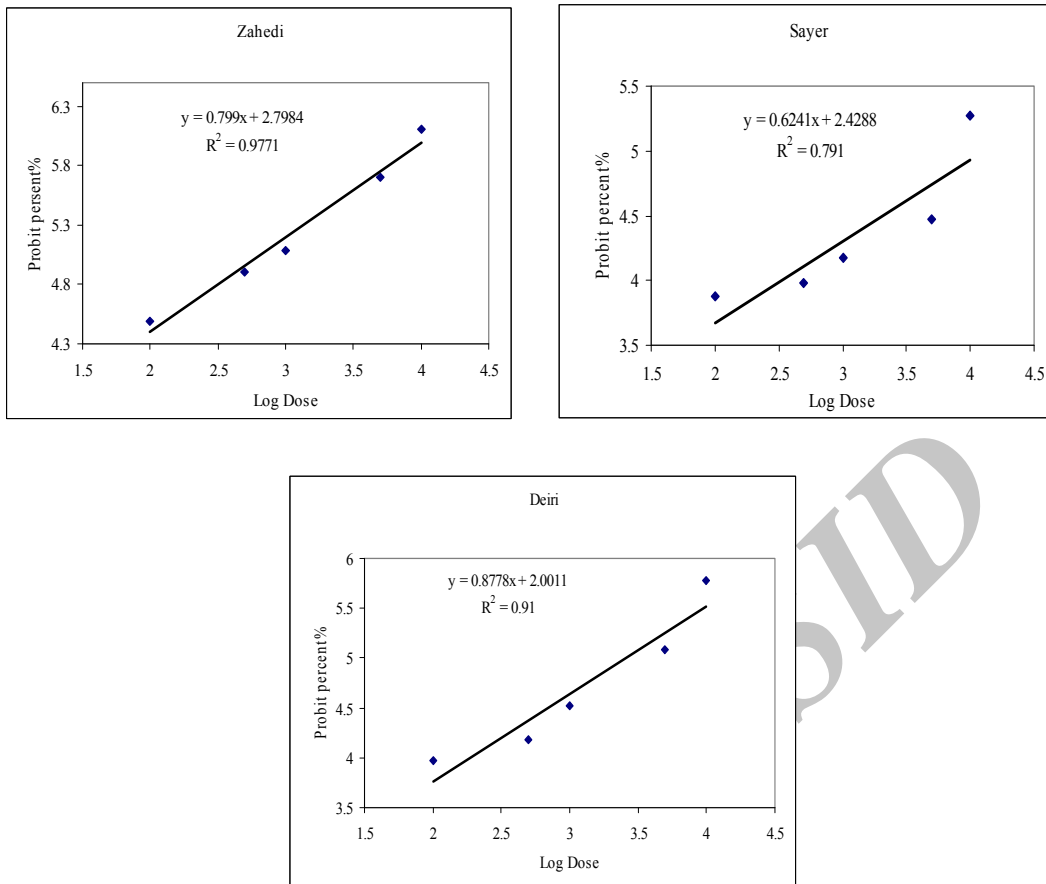
Cultivars	Sub lethal doses(Spore/ml)			
	ED <sub>16</sub>	ED <sub>50</sub>	ED <sub>84</sub>	ED <sub>100</sub>
Sayer	2521	3493	9509	12516
Zahedi	1083	1497	8232	11599
Deiri	837	4963	10764	13665

ED<sub>x</sub>: Effective Dose on X percent

مدل برازش لگاریتم - پروبیت (ارتباط بین لگاریتم غلظت و پروبیت درصد کاهش

تخم‌گذاری) برای سه رقم سایر، زاهدی و دیری در شکل سه درج گردیده است.





شکل ۳- برآزش مدل خطی ارتباط بین لگاریتم غلظت و پروبیت درصد کاهش تخم‌گذاری شپشه دندانه‌دار خرما برای ارقام مختلف خرما

**Figure 3.** Linear model estimation between dose logarithm and percent of fecundity reducing for sawtoothed beetle on different date cultivars

### بحث

در برنامه‌های رهاسازی اشباهی عوامل کنترل میکروبی تنها اثرات مستقیم کشنده عامل بیمارگر نیست که موفقیت کنترل را تضمین می‌کند، بلکه اثرات غلظت‌های نزدیک و زیر کشنده آلودگی ناشی از عامل بیمارگر نیز در شناخت مکانسیم اثر و نحوه همه‌گیری بیماری در جمعیت حشره میزبان حائز اهمیت است. از آنجا که غلظت کشنده رهاسازی شده از عامل بیمارگر در یک محیط پیچیده پراکنده می‌شود که دارای متغیرهای محیطی مؤثر بر بقای اسپور قارچ و رسیدن آن به بدن و حتی نفوذ درون بدن میزبان می‌باشند، در مواردی تراکم اسپورهای لازم اغلب به حدی نیست که به صورت قطعی منجر به مرگ حشره میزبان گردد. قارچ بیمارگر باید بتواند حداقل از فعالیت‌های طبیعی این گروه از افراد جمعیت هدف جلوگیری نماید. در غیر این صورت به دلیل سرعت و قدرت بالای تولید مثل حشرات آفت انباری، جمعیت خیلی سریع مجدداً رشد کرده و از کنترل عامل بیمارگر خارج می‌گردد. پژوهش‌های پیشین نشان داده بود که قارچ *B. bassiana* دارای اثرات کشنده معنی‌داری بر

جمعیت مراحل مختلف رشد شیشه دنداندار خرما در سه رقم سایر، زاهدی و دیری بوده است. قدرت کشندگی قارچ علاوه بر مرحله رشدی حشره میزبان به نوع رقم مورد استفاده در تغذیه نیز بستگی دارد (Latifian *et al.*, 2009 & 2010). اما نتایج این تحقیق نشان داد غلظت‌های زیرکشنده قارچ *B. bassiana* نیز دارای اثرات معنی‌داری در کاهش قدرت تولید مثل شامل نرخ باروری و میزان تخم‌گذاری آفت بوده‌اند. توانایی این عامل بیمارگر در کاهش قدرت تولید مثل آفت علاوه بر غلظت قارچ به رقم خرما می‌مورد تغذیه آفت نیز بستگی داشت. تحقیقات انجام شده روی سایر بندپایان نظیر کنه *Ixodes scapularis* Say آلوده به غلظت‌های زیرکشنده قارچ *M. anisopliae* نشان داد که این آلودگی‌های زیرکشنده در موفقیت کنترل میکروبی و کاهش سطح تراکم جمعیت آفت در نسل‌های بعد مؤثر است (Stark & Banks, 2003).

مطالعات انجام شده در رابطه با قارچ *B. bassiana* و سایر قارچ‌های بیمارگر حشرات نیز نتایج مشابهی را نشان داد. مطالعات مختلف نشان داده است که قدرت باروری و میزان تخم‌گذاری حشرات تحت تأثیر عوامل داخلی و خارجی مختلفی قرار دارد (Mulock & Chand, 2001). یکی از عوامل مهم مؤثر در این رابطه ویژگی‌های عامل بیمارگر می‌باشد. دستیابی به اطلاعات لازم در خصوص نحوه تأثیر عوامل بیمارگر بر قدرت باروری و میزان تخم‌گذاری می‌تواند در توسعه مدل‌های همه‌گیرشناسی و برنامه‌های کنترل میکروبی آفات مؤثر واقع شود (Leon *et al.*, 2006). به عنوان مثال مطالعات متعددی که روی انواع گونه‌های بال‌پولک‌داران انجام شده است، نشان داده که آلودگی به ویروس‌های بیمارگر در سنین آخر لاروی می‌تواند نقش مهمی در کاهش میزان باروری حشرات بالغ ماده داشته باشد (Young & Yearian, 1982; Perelle & Harper, 1986). تحقیقات انجام شده در ارتباط با قارچ *Aspergillus parasiticus* Speare نشان داد که این قارچ توانایی کاهش قدرت تخم‌گذاری و بقای تخم‌های مگس‌های خانواده Muscidae را دارد (Nnakumusana, 1985).

مطالعات انجام شده در ارتباط با اثرات غلظت‌های زیرکشنده قارچ‌های بیمارگر بر توانایی تولید مثل حشرات میزبان‌شان بسیار اندک بوده است. تحقیقات سایر محققین نشان داده است که قارچ *B. bassiana* می‌تواند آسیب‌های مکانیکی، سیتولوژیکی و هیستولوژیکی خاصی در ساختمان لوله‌های تخم سوسک کلرادو ایجاد نماید که در نتیجه آن کاهش چشم‌گیری در قدرت باروری و تخم‌گذاری آفت را به همراه خواهد داشت (Fargues *et al.*, 1991). همچنین مطالعات انجام شده روی مکانیسم عمل قارچ *Metarhizium anisopliae* *Metarhizium acridum* و *B. bassiana* نشان داد که این قارچ‌ها توانایی ایجاد اختلال در روند طبیعی فعالیت‌های متابولیکی بدن میزبان‌شان دارند که در نتیجه آن تغییرات محسوسی در فعالیت‌های طبیعی تغذیه‌ای و تولیدمثلی میزبان به وجود می‌آید. قارچ *B. bassiana* همچنین

می‌تواند با ایجاد اختلال در ساختمان فیزیکی روزنه‌های تنفسی و کانال‌های ارتباطی کوتیکول تبدلات گازی و یونی را به هم زده و بدین طریق نیز اختلالات فیزیولوژیک به وجود آورد (Sewify & Hashem, 2001). تحقیقات انجام شده در ارتباط قارچ *B. bassiana* نشان داد که قدرت تخم‌گذاری و بقای تخم‌های شب پره *Chillo supressalis* Walker در اثر آلودگی به اسپورهای قارچ کاهش می‌یابد (N'Doye, 1976). مطالعات انجام شده روی شته روسی گندم نیز نشان داد که آلودگی به غلظت‌های زیر کشنده قارچ *B. bassiana* توانایی پوره‌زایی شته‌های بکرزا را کاهش می‌دهد (Wang & Knudsen 1993). علاوه بر این تیمار حشرات کامل سوسک‌های *Diabrotica virgifera* LeConte روی ذرت با غلظت‌های زیر کشنده قارچ *B. bassiana* نشان داده که قارچ مزبور می‌تواند نرخ باروری و توانایی تخم‌گذاری آفت را بین ۴۴ تا ۶۸ درصد کاهش دهد (Mulock & Chand, 2001).

با توجه به نتایج تحقیقات انجام شده در خصوص غلظت‌های کشنده (Latifian et al., 2009 & 2010) و نتایج این پژوهش در اثبات اثرات غلظت‌های زیر کشنده قارچ *B. bassiana* می‌توان نتیجه گرفت کاربرد آن به صورت رهاسازی اشباهی برای کنترل سوسک شپشه‌دندانه دار نه تنها به صورت مستقیم در ایجاد مرگ و میر در جمعیت آفت مؤثر است، بلکه رشد و تولید مثل آن قسمت از جمعیت را که موفق به دریافت غلظت کشنده نمی‌شوند را نیز کاهش داده و از افزایش شدید جمعیت در نسل‌های بعدی آفت در سه رقم خرماي مورد بررسی جلوگیری می‌کند.

## منابع

- Bagheri-Zenouz, E. 1986. *Stored Pests and Their Control, first vol., Ingourios Coleoptera of Food Products and Industrial Hardware*. Second edition. Sepehr Publishing Center, Tehran. (In Persian)
- Bari, M. A. & Kaya, H. K. 1984. Evaluation of the entomogenous nematode *Neoplectana carpocapsae* (= *Steinernema feltiae*) Weiser (Rhabditida: Steinernematidae) and the bacterium *Bacillus thuringiensis* Berliner var. Kurstaki for suppression of the artichoke plume moth (Lepidoptera: Pterophoridae). *Journal of Economic Entomology*, 77:225-229.
- Bartett, M. C. & Jaronski, S. T. 1988. Mass production of entomogenous fungi for biological control of insects, pp.61-85. In: Burge, M. N. (Ed.). *Fungi in Brologied Control systems*. Manchester, U.K.
- Beegle. C. C. & Yamamoto, T. 1992. Invitation paper C.P. Alexander fund. History of *Bacillus thuringiensis* Berliner research and development. *Canadian Entomologist*, 124: 587-616.

- Enarson, D. A., Kennedy, S. M. & Miller, D. L. 2004. Measurement in epidemiology. *The International Journal of Tuberculosis and Lung Disease*, 8(10): 1269-73.
- Fargues, J., Delmas, J. C., Auge, J., & Lebrun, R. A. 1991. Fecundity and egg fertility in the adult Colorado beetle (*Leptinotarsa decemlineata*) surviving larval infection by the fungus *Beauveria bassiana*. *Entomologica Experimentalis et Applicata*, 61: 45-51.
- Fransen, J. J., Winkelman, K. & van Lenteren, C. 1987. The differential mortality at various life stages of the green house whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) by infection with the fungus *Aschersonia aleyrodis* (Deuteromycotina: Coelomycetes). *Journal of Invertebrate Pathology*, 50: 158-165.
- Furlong, M. J., Pell, J. K., & Reddy, G. V. 1997. Premortality effects of *Zoophthora radicans* infection in *Plutella xylostella*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 70, 214-220.
- Gillespie, J. P., Kanost, M. R. & Trenczek, T. 1997. Biological mediators of insect immunity. *Annual Review of Entomology*, 42: 611-643.
- Gindin, G., Samish, M., Zangi, G., Mishoutchenko, A. & Glazer, I. 2001. The susceptibility of different species and stages of ticks to entomopathogenic fungi. *Experimental & Applied Acarology*, 28: 283-288.
- Jassim, H. K., Andullah, L. M. & Abd-Al-Ahad, I. 1998. Determination of the exact concentration of *Beauveria bassiana* to control the larvae of the Fig moth *Ephestia cautella* on stored dates in Iraq. *Arab Journal of Plant Protection*, 6: 44-45.
- Latifian, M. 2003. *The Technology of Date Palm Stored Pests Control*. Ahanghghalam publication. Mashhad. Iran (In Persian).
- Latifian, M. E., Soleimannejadian, M., Ghazavi, J., Hayati, S. M., Mosadegh & Nikbakht, P. 2009. Evaluation of three *Beauveria bassiana* isolates on Sawtoothed beetle *Oryzaephilus surinaemensis* and the effect of different temperature on their germination and mycelium growth. *Applied Entomology and Phytopathology*. 77(1): 151-168.
- Latifian, M., Soleimannejadian, E., Ghazavi, M., Hayati, J., Mosadegh S. M. & Nikbakht, P. 2010. Study the pathigenecity of *Beauveria bassiana* on the Larval and adult stages of sawtoothed beetle *Oryzaephilus surinaemensis* on date palm cultivars. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, 33(1): 21-30.
- Leon, T. E., Lerma, J. M. & Pizo, E. V. 2006. Sub lethal effects of *Beauveria bassiana* on the Whitefly *Bemesia tabaci*, under liberator condition. *Mycophatologia*, 162: 411-419.
- Mohajeri, A. 1994. *Collection and Identification of Stored Pests of City Jiroft, Bam and Kahnouj*. Unpublished Research report, Bam and Jiroft Agricultural Research Center Publications. Iran. (In Persian).

- Mulock, S. & Chand, L. D. 2001. Effect of *Beauveria bassiana* on the fecundity of Western corn Rootworm *Diabrotica virgifera*. *Biological Control*, 22: 16-21.
- N'Doye, M. 1976. Influence d'une infection a *Beauveria bassiana* (Blas.) Vuillemin sur les survivants et la descendance de *Chilo suppressalis* Walker (Lep.Pyralidae). *Entomophaga*, 21: 371– 376.
- Nnakumusana, E. S. 1985. Laboratory infection of mosquito larvae by entomopathogenic fungi with particular reference to *Aspergillus parasiticus* and its effect on fecundity and longevity of mosquitoes exposed to conidial infections in larval stages. *Current Science*, 54: 1221–1228.
- Perelle, A. H. & Harper, J. D. 1986. An evaluation of the impact of sublethal dosages of nuclear polyhedrosis virus in larvae on pupae, adults, and adult progeny of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 47, 42–47.
- Roberts, D. W. 1981. Toxins of Entomopathogenic Fungi. pp. 441-464, In: *Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980*. Burges E. D. (Ed.) Academic Press, London, UK.
- Tanada, Y. & Kaya, U. K. 1993. *Insect Pathology*. Academic Press, London, UK.
- Sewify G. H., & Hashem M. Y. 2001. Effects of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin on cellular defence response and oxygen uptake of the wax moth *Galleria mellonella* L. (Pyralidae). *Journal of Applied Entomology*, 125:533-536.
- Stark, J. D. & Banks, J. E. 2003. Population-level effects of pesticides and other toxicants on arthropods. *Annual Review of Entomology*, 48: 505-519.
- Wang, Z. G. & Knudsen, G. R. 1993. Effect of *Beauveria bassiana* (Fungi: Hyphomycetes) on fecundity of the Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae). *Environmental Entomology*, 22: 874–878.
- Young, S. Y. & Yearian, W. C. 1982. Nuclear polyhedrosis virus infection of *Pseudoplusia includens* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae:Effect on post larval stages and transmission. *Entomophaga*, 27: 61–66.

**Effects of Sublethal concentrations of fungus  
*Beauveria bassiana* on the reproductive potentials of  
sawtoothed beetle *Oryzaephilus surinamensis* on  
commercial date cultivars**

**Masoud LATIFIAN**

Date Palm and Tropical Fruits Research Institute of Iran, Ahwaz, Iran  
(Corresponding author, Email: masoudlatifian@yahoo.com)

**Ebrahim SOLEIMANNEJADIAN**

College of Agriculture, Shahid Chamran University, Ahwaz, Iran

**Mehran GHAZAVI**

Iranian Research institute of Plant Protection, Tehran, Iran

**Mohammad Saeid MOSADEGH, Jamshid HAYATI**

College of Agriculture, Shahid Chamran University, Ahwaz, Iran

**Abstract**

*Beauveria bassiana* (Balsamo) is an entomopathogenic fungus one of *Oryzaephilus surinamensis* L.. In this study effects of sublethal doses of pathogen on reproductive potential, the amount of oviposition and the percentage of egg hatching of sawtooth beetles were investigated in terms of feeding on three Dates cultivars including Sayer, Zahedi and Deiri long in vitro condition. Adults were treated by 5 sublethal doses including  $10^2$ ,  $5 \times 10^2$ ,  $10^3$ ,  $5 \times 10^3$  and  $10^4$  Spores in ml and compared by control. Then, the sublethal doses of reduced reproductive potential of each cultivar were calculated by using Log-Probit analysis method. The tested doses of pathogen had decreasing effects on fertility index. The synergist of fungal pathogen and cultivars on reduce fertility rates were gradually by the increasing pathogen doses. Minimum and maximum sublethal doses for reducing the 50 percent amount of oviposition were showed in population grew on Zahedi and Deiri cultivars and equivalent to  $1.497 \times 10^3$  and  $4.963 \times 10^3$  spores/ml respectively. Minimum and maximum sublethal doses for reduction 50 percent egg hatching were showed in population grew on the Zahedi and Sayer cultivars and, equivalent to  $6.316 \times 10^3$  and  $8.28 \times 10^3$  spores/ml respectively. The results of this study showed that the fungus *B. bassiana* had a significant effect in reducing the reproduction potentials. The pathogen ability to reduce the reproduction potentials was in addition depended on the fungi dose and Date cultivars that feeding by the pest.

**Key words :** *Beauveria bassiana*, sawtoothed beetle, *Oryzaephilus surinamensis*, Sublethal doses, Reproductive potential