

## اثر قارچ‌های بیمارگر حشرات روی سوسک سیاه گندم در شرایط آزمایشگاهی

هانا حاجی‌اللهوردی پور<sup>۱\*</sup>، مهران غزوی<sup>۱</sup>

بخش تحقیقات حشره‌شناسی کشاورزی، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، تهران

### چکیده

سوسک سیاه گندم *Zabrus tenebrioides* (Col., Carabidae) از آفات مهم غلات در ایران و بعضی کشورهای اروپایی محسوب می‌شود. خسارت شدید این سوسک سبب از بین رفتن بوته‌ها و خشکی آن می‌گردد. به منظور ارزیابی امکان استفاده از قارچ‌های بیمارگر حشرات در کنترل این آفت، حشرات کامل جمع‌آوری شده از مزرعه در شرایط مناسب نگهداری شدند و در آزمایشگاه با قارچ‌های بیمارگر جداشده از میزبان‌ها و مناطق جغرافیایی متفاوت مربوط به جنسهای *Metarhizium*، *Beauveria* و *Isaria* تیمار شدند. زیست‌سنجی به روش غوطه‌وری با غلظت‌های  $10^5$ ،  $10^6$  و  $10^7$  اسپور در میلی‌لیتر آب مقطر و Tween 80<sup>®</sup> ۰۵٪ با سه تکرار و ۱۰ حشره در هر تکرار به مدت ۶۰ ثانیه، انجام گرفت. نتایج حاکی از آن بود که قارچ‌های بیمارگر به کار رفته تأثیر چشمگیری روی این آفت ندارند. تجزیه واریانس درصد مرگ و میر جدایه‌ها، اختلاف معنی‌دار بین آن‌ها را نشان داد. جدایه DEMI 002 از قارچ *Metarhizium. anisopliae* دارای بالاترین میانگین درصد مرگ و میر (۵۲/۲۲٪) نسبت به جدایه‌های دیگر بود. غلظت کشندگی ۵۰٪ و حدود بالا و پایین آن برای DEMI 002 ( $10^6 \times 6/76$  و  $10^6 \times 1/68$ )  $\times 7/21$  اسپور در میلی‌لیتر و زمان کشندگی ۵۰٪ آن، ۱۳/۳۷ روز به دست آمد.

واژه‌های کلیدی: *Metarhizium*، *Beauveria*، *Isaria*، *Zabrus tenebrioides*

### مقدمه

در سال‌های اخیر بخش‌های وسیعی از مزارع گندم دیم و آبی بعضی از استان‌های کشور شاهد خسارت ناشی از جمعیت در حال افزایش سوسک سیاه گندم بوده است. سوسک سیاه گندم *Zabrus tenebrioides* از آفات عمده گندم و گاهی جو می‌باشد. خسارت این آفت از تمام مناطق کشور به‌ویژه استان گلستان، مغان، لرستان، فارس، ایلام، کرمانشاه، همدان، اطراف تهران، خراسان، خوزستان، مناطقی از آذربایجان و بلوچستان گزارش شده است (Jozeyan, 1996). این سوسک در آسیای غربی و مرکزی، اروپای غربی و شرقی، شمال آفریقا خصوصاً کشورهای آلمان، روسیه، اکراین،

\*نویسنده رابط، پست الکترونیکی: hana\_agri@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله (۸۹/۷/۳) - تاریخ پذیرش مقاله (۹۰/۷/۱۵)

گرجستان و ترکیه دیده می شود (Miller & Pike, 2002). بیشترین خسارت مربوط به لاروها است که در پاییز و بهار از ریشه، ساقه و برگ تغذیه می کنند. حشرات کامل نیز از دانه های نرم و گاهی برگ استفاده می کنند. این حشره علاوه بر غلات به چمن و مراتع خسارت می زند (Roostaei & Zahedi-Kayvan, 1992). در شهرستان دره شهر ایلام در سال های ۷۳-۱۳۷۲ این آفت یک مزرعه گندم به مساحت ۲/۵ هکتار را نابود و کشاورز را مجبور به دوباره کاری کشت نمود. در سال ۷۱ در بعضی از روستاهای شهرستان ملایر نیز تراکم و خسارت شدید آفت مشاهده گردید (Jozeyan, 1996). نمونه های این آفت از سال ۶۲ در منطقه گنبد و حومه مشاهده گردید که از آن سال به بعد جمعیت آن به طور جزئی رو به افزایش نهاده و در سال های ۶۹ و ۷۰ حالت طغیانی به خود گرفت و آفت درجه اول در منطقه گردید (Mobasheri, 1994).

در یوگسلاوی در مزرعه ای جمعیت ۱۱۲ لارو سوسک سیاه گندم در متر مربع مشاهده شده است. اولین نشانه های این آفت به صورت نقاط خالی متعدد در مزرعه که روزانه از نظر اندازه گسترش می یابند، دیده می شود. شدیدترین صدمه زمانی وارد می شود که غلات به طور پیوسته کشت شوند (Parker et al., 2001). یک لارو می تواند از ۲۵ گیاهچه گندم تغذیه کند. طغیان بالغ بر ۵۰ لارو در مترمربع در مزارع تک کشتی که گندم طی سال های متمادی کشت می شود، متداول است. در طغیان های شدید، خسارت اقتصادی به محصول در عرض ۷ تا ۱۴ روز وارد می شود. حشرات کامل معمولاً در می (اردیبهشت)، جون (خرداد) و جولای (تیر) ظاهر می شوند و در شب تغذیه می کنند و طی روز در زیر بقایای داخل مزرعه پنهان می شوند. جفت گیری و تخم گذاری حدوداً در سپتامبر به دنبال تابستان گذرانی رخ می دهد. خسارت به گیاهچه های جوانه زده معمولاً در فوریه قابل مشاهده است. برداشت زود کاه و کلس و جایگزین کردن آیش یا تناوب با گیاهان تیره بقولات، خطر حمله را کاهش می دهد (Miller & Pike, 2002). کنترل سوسک سیاه گندم شامل روش های زراعی، زیستی و شیمیایی می باشد. کنترل زراعی آن شامل تناوب، شخم و دیسک می باشد. برنامه تناوب زراعی که آیش یا حبوبات (کاشت یک سال در میان) را جایگزین غلات می کند، می تواند مانع از طغیان وسیع شود. تنوع بخشیدن به سیستم کشت با استفاده از تناوب در مزارع از طریق افزایش فراوانی و تأثیر دشمنان طبیعی نیز می تواند موثر باشد. تحقیقات نشان داده خسارت *Zabrus gibus* وقتی که گندم پاییزه به دنبال آفتابگردان یا ذرت در تناوب زراعی کاشته می شود ۵ تا ۸ برابر کاهش می یابد (Pimentel, 2002). کنترل زیستی این آفت تاکنون در ایران به کار گرفته نشده است.

در بعضی شرایط زمانی و مکانی ناچاریم که از طریق مبارزه شیمیایی با این آفت مبارزه کنیم. سطح مبارزه شیمیایی با این آفت در ایران در سال ۷۹-۱۳۷۸ حدود ۴۵۰۰۰ هکتار بوده است (Rezabeigi & Radjabi, 2002). در تراکم های بالا استفاده از دیازینون گرانول ۵٪ به میزان ۴۰-۳۰ کیلوگرم در هکتار، دیازینون امولسیون ۶۵٪ به میزان یک لیتر در هکتار، کارباریل وتابل ۸۵٪ به میزان ۳-۳/۵ کیلوگرم در هکتار، فوزالن امولسیون ۳۵٪ به میزان ۲-۱/۵ لیتر در هکتار و کلرپایریفوس امولسیون ۴۰٪ به میزان ۲-۱/۵ لیتر در هکتار توصیه شده است (Anonymous, 2010).

قارچ های بیمارگر حشرات در سوسک های Carabidae زمستان گذران جمع آوری شده از مزرعه، توسط استین برگ و همکاران بررسی شد. عموماً سطح آلودگی در بالغین پایین بود (ماکزیمم: ۷/۶٪). *Beauveria bassiana* گونه غالب جمع آوری شده از سوسک های Carabidae بود (Steenberg et al., 1995).

رایج ترین قارچ های بیمارگر حشرات متعلق به جنس های *Metarhizium Beauveria* *Aspergillus Tolypocladium* *Culicinomyces Hirsutella* *Nomuraea Lecanicillium Paecilomyces* می باشند.

*B. bassiana* به طور آزمایشی در خاک به عنوان حشره کش میکروبی برای کنترل لاروهای *Diabrotica virgifera* روی ذرت به کار برده شده، همچنین به صورت تلقیحی در تلاش برای آغاز همه گیری در جمعیت های بالغین این آفت، استفاده شده است. هیچ کدام از این تلاش ها منجر به کنترل قابل قبول آفت نشده است. با این وجود، همه گیری های *B. bassiana* در جمعیت های بالغین به طور منظم روی می دهد و مشاهده بالای ۵۰٪ از جمعیت بالغین آلوده به *B. bassiana* متداول و معمول است (Lewis, 2007).

در تلاش برای کنترل سوسک اروپایی *Melolontha melolontha*، سوسپانسیون اجسام هیفی قارچ *B. brongniartii* با هلیکوپتر در مرزهای جنگل در ۱۵ مکان به کار برده شد. نرخ آلودگی حشرات کامل تیمار شده از ۳۰ تا ۹۹٪ متفاوت بود. محلول پاشی، میانگین نرخ تولید مثلی را از ۵/۰۹ به ۲/۱۵ لارو سن دوم در هر حشره کامل کاهش داد. افزایش نرخ آلودگی در نسل بعد از تیمار هم مشاهده گردید. تراکم جمعیتی ۶ تا ۹ سال بعد از تیمار، (معادل ۲ و ۳ نسل حشره) در ۱۳ مکان بیشتر از ۵۰٪ و در ۴ مکان بیشتر از ۸۰٪ کاهش یافت. محدوده خسارت تغذیه ای بالا نیز از ۱۷/۸ کیلومتر به ۳/۹ کاهش یافت. کاربرد اجسام هیفی روی بالغین برای کنترل لاروهای این سوسک، دارای معایب و فوایدی می باشد. برای غلبه به معایب کاربرد اجسام هیفی، یک روش جایگزین استفاده از *B. brongniartii* روی پوسته جو یا داخل آن می باشد (Keller et al., 1997).

با توجه به این که قارچ های بیمارگر حشرات به عنوان عوامل کنترل طبیعی برای برخی از آفات شناخته شده اند و همچنین مطالعاتی در زمینه جداسازی قارچ های بیمارگر از سوسک سیاه گندم و تاثیر جدایه ها روی آن تاکنون در ایران و دنیا صورت نگرفته بود؛ تصمیم گرفته شد تا بررسی مقدماتی روی بیمارگری و زهر آگینی این قارچ ها روی سوسک سیاه گندم صورت گیرد.

## مواد و روش ها

سوسک های سیاه جمع آوری شده از مزارع گندم استان گلستان (در مجاورت آق قلا و محمد تپه) در آکواریوم های دارای زهکش حاوی خاک مخلوط شده با پیت-موس به ارتفاع تقریباً ۱۰cm که گندم رقم فلات در آنها کاشته شده بود، قرار داده شد. روی سطح خاک کاه و کلش گندم ریخته و خاک به طور دائم در حد ظرفیت مزرعه (گاورو) مرطوب شد. علاوه بر گندم های کاشته شده، دانه های گندم جوانه زده نیز برای تغذیه سوسک ها اضافه شد. دانه های گندم حتماً باید نرم و مرطوب باشد چون حشره تمایلی برای تغذیه از دانه های خشک ندارد. درجه حرارت اتاق پرورش بین ۱۷-۱۱°C متغیر بود. حشرات کامل اغلب طی روز درون خاک پنهان می شدند و در شب برای تغذیه به سطح خاک می آمدند. همچنین گاهی برگ ها را به زیر خاک می کشیدند. لاروها از برگ و ساقه تغذیه می کردند.

به منظور بررسی بیمارگری جدایه های (متعلق به کلکسیون قارچ های بیمارگر حشرات بخش تحقیقات حشره شناسی کشاورزی، موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور) DEBI 001، DEBI 002، DEBI 006، DEBI 012، DEBI، DEMI 001، DEMI 002، DEPI 003، DEPI 002، DEPI 0013 متعلق به جنس های *Metarhizium*، *Beauveria* و *Isaria* (جدول ۱) روی سوسک سیاه گندم و انتخاب زهر آگین ترین آن ها، آزمایشات مقدماتی انجام شد و جدایه های DEBI 002 (شکل ۲)، DEBI 013 (شکل ۳)، DEBI 001 (شکل ۴)، DEMI 002 و DEPI 003 با توجه به اثر ضعیف بقیه جدایه ها، برای آزمایش روی حشرات کامل انتخاب شدند. از محیط کشت های شیب دار نگهداری شده در ۱۰°C، کشت هایی روی محیط SDA داده شد و در انکوباتور ۲۵°C نگهداری گردید. زمان اسپوردهی جدایه های مختلف متفاوت بود ولی معمولاً

بعد از حدود ۲ هفته به میزان کافی اسپور دادند. قبل از زیست‌سنجی، تست زنده‌مانی جدایه‌ها برای اطمینان از حفظ خاصیت جوانه‌زنی اسپورها انجام گرفت. بدین صورت که سوسپانسیون خیلی رقیقی از هر کدام از قارچ‌ها روی تشتک‌های پتری حاوی آب-آگار پخش شد و پس از گذشت ۱۸-۱۶ ساعت اقدام به شمارش اسپورهای جوانه‌زده در بین ۱۰۰ اسپور شد. اگر درصد جوانه‌زنی بالاتر از ۸۵٪ بود، زیست‌سنجی انجام می‌شد. اسپورهای جدایه‌های مورد آزمایش را به‌منظور پراکندن اسپورها در آب، در مخلوط آب و Tween 80<sup>®</sup> ۰/۰۵٪ ریخته و به‌شدت تکان داده شد. سپس سوسپانسیون از پارچه ممل چند لایه عبور داده شد و با استفاده از لام هموسایتومتر (گلوبول‌شمار) و رابطه  $(۲) \times ۵۰۰۰۰$  / اسپورهای شمارش شده در ۱۰ خانه تصادفی) = تعداد اسپورها در یک میلی‌لیتر، غلظت سوسپانسیون به‌دست آمد.

از رقیق کردن این سوسپانسیون اولیه با مخلوط آب و Tween 80<sup>®</sup> ۰/۰۵٪ با استفاده از فرمول  $C_1 V_1 = C_2 V_2$  سری غلظت‌های مورد نظر شامل ۱۰<sup>۵</sup>، ۱۰<sup>۶</sup> و ۱۰<sup>۷</sup> اسپور در میلی‌لیتر، به‌دست آمده از آزمایشات مقدماتی تهیه شد. در این فرمول،  $C_1$ : غلظت سوسپانسیون اولیه،  $V_1$ : حجمی که باید از این سوسپانسیون برداشته شود،  $C_2$ : غلظت مورد نظر در آزمایش،  $V_2$ : حجمی از سوسپانسیون که برای آزمایش مورد نیاز است، می‌باشد.

جدول ۱- مشخصات جدایه‌ها

Table 1- Characteristics of isolates

Isolate	Scientific name	Source	Sites of collection
DEBI001	<i>B. bassiana</i>	soil	Karaj
DEBI002	<i>B. bassiana</i>	soil	Karaj
DEBI 013	<i>B. brongniartii</i>	<i>Coccinella septem-punctata</i>	Varamin
DEPI 003	<i>I. farinosus</i>	<i>Eurygaster integriceps</i>	Pakdasht
DEMI 002	<i>M. anisopliae</i>	<i>Parandra caspica</i>	Mazandaran

در آلوده‌سازی حشرات کامل از روش غوطه‌ورسازی (Submergence) استفاده شد؛ بدین صورت که ۱۰ عدد حشره سالم و فعال، داخل یک کیف بوخنر گذاشته شد و ۵۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون روی آن‌ها ریخته و تکان داده شد و بعد از ۶۰ ثانیه با استفاده از پمپ مکش سوسپانسیون تخلیه و حشرات روی چند لایه کاغذ صافی گذاشته شدند تا خشک شوند و سپس به ظروف زیست‌سنجی منتقل شدند. مقداری خاک، جوانه‌های گندم و منبع تامین رطوبت داخل ظروف گذاشته شد و در درجه حرارت اتاق  $25-20^{\circ}C$  نگهداری شدند. بعد از ۲۴ ساعت، مرگومیر حشرات به مدت ۱۴ روز، به‌طور روزانه ثبت گردید و حشرات مرده از ظروف اصلی جدا و درون اتاقک‌های مرطوب گذاشته شدند تا پوشش قارچی در سطح بدن آن‌ها تشکیل شود. برای اطمینان از مرگ حشرات، با یک سوزن استریل در بین کوسای پاها مختصر فشاری وارد می‌گردید. مرگ و میر تجمعی هر کدام از تکرارها با فرمول ابوت اصلاح گردید. بدین صورت که درصد مرگ و میر اصلاح شده برابر است با:

$$100 \times [(درصد مرگ و میر شاهد - 100) / (درصد مرگ و میر شاهد - درصد مرگ و میر تیمار)] =$$

تجزیه واریانس درصد مرگ و میر جدایه‌ها و تعیین غلظت کشندگی ۵۰٪ با استفاده از نرم‌افزار Version 9.00 SAS و محاسبه زمان کشندگی ۵۰٪ با نرم‌افزار CurveExpert 1.3 انجام گرفت.

در کنار آزمایشات غوطه‌ورسازی، تعدادی از لاروها به صورت اکتسابی آلوده شدند، بدین صورت که ۱۰ عدد لارو به مدت ۵ ثانیه روی محیط کشت واجد قارچ قرار داده شدند تا با حرکت در سطح آن مایه تلقیح قارچی را کسب کنند.

## نتایج

در منطقه گرگان و گنبد، حشرات کامل از اردیبهشت ماه ظاهر می‌شوند و در اردیبهشت و خرداد می‌توان آن‌ها را از حاشیه و کناره‌های مزارع از پای بوته‌های علف‌های هرز و زیر کاه و کلش جمع‌آوری کرد (نیمه اول خرداد اوج آفت است). همچنین بعد از اتمام تابستان‌گذرانی نیز می‌توان آن‌ها را در آبان‌ماه هم مشاهده نمود. بعد از ۲ هفته حشرات کامل جمع‌آوری شده، شروع به گذاشتن تخم‌های تک‌تک سفید رنگ در اعماق مختلف خاک (حدوداً ۸ cm و بیشتر) کردند. دوره تخم‌ریزی آفت طولانی است. همچنین حدود ۴ ماه طول می‌کشد تا لاروهای سن آخر به‌دست آیند. برای به‌دست آوردن حداکثر کارایی در پرورش این حشره، همواره باید خاک مرطوب باشد، قراردادن کاه و کلش در سطح خاک به حفظ رطوبت آن کمک می‌کند. گیاهچه‌ها و جوانه‌های گندم به‌عنوان منبع تغذیه در اختیار حشرات کامل قرار گرفت. جدایه‌های DEMI 001، DEMI 002، DEBI 012، DEBI 002، DEBI 001 دارای خاصیت بیمارگری روی لاروها بودند و پوشش قارچی پس از مرگ، روی بدن لاروها مشاهده گردید (شکل ۱).

همه جدایه‌های مورد آزمایش درصد جوانه‌زنی بالای ۹۰٪ داشتند. انجام آزمایشات زیست‌سنجی روی حشرات کامل تاثیر نسبتاً کم جدایه‌های مورد آزمایش را نشان داد (جدول ۲). از جمله عواملی که می‌تواند باعث عدم تاثیر قارچ روی حشره شود، عوامل بازدارنده برای نفوذ در کوتیکول یا عکس‌العمل‌های دفاعی (مانند ملانیزه شدن) شدید و سریع توسط حشره می‌باشد.

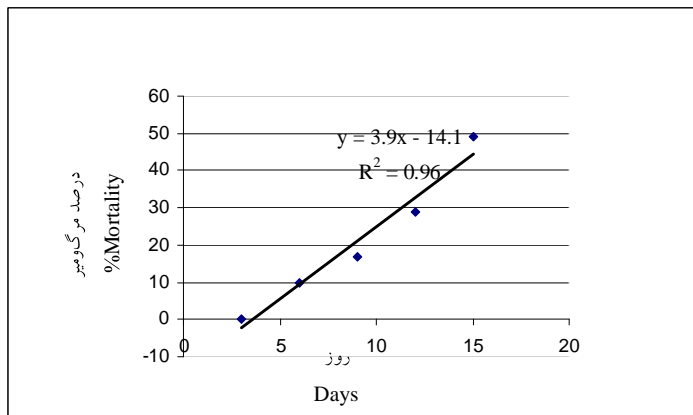
تجزیه واریانس درصد مرگ و میر جدایه‌ها در غلظت  $10^7$  اسپور در میلی لیتر، اختلاف معنی‌دار بین آن‌ها را نشان داد ( $P < 0.05$ ;  $F = 6.21$ ;  $df = 4$  و  $14$ ). گروه‌بندی با آزمون دانکن، جدایه DEMI 002 از قارچ *M. anisopliae* را با بالاترین میانگین درصد مرگ و میر (۵۲/۲۲٪) نسبت به جدایه‌های دیگر در سطح A و بقیه جدایه‌ها را در سطح B قرار داد و بدین ترتیب جدایه‌ای از قارچ *Metarhizium* موثرترین جدایه بود (جدول ۲). غلظت کشندگی ۵۰٪ و حدود بالا و پایین آن برای DEMI 002 ( $10^9 \times 6/76$  و  $10^6 \times 1/68$ ) و  $10^6 \times 7/21$  اسپور در میلی لیتر و زمان کشندگی ۵۰٪، ۱۳/۳۷ روز به‌دست آمد. با توجه به این‌که در جدایه‌های دیگر درصد مرگ و میر پایین‌تر از ۵۰٪ بود، محاسبه غلظت کشندگی ۵۰٪ و زمان کشندگی ۵۰٪ منطقی به‌نظر نمی‌رسد.

جدول ۲- مقایسه میانگین درصد مرگ و میر در جدایه‌های مورد آزمایش با آزمون دانکن ( $\alpha = 5\%$ )

Table 2- Mean comparison of the mortality of tested isolates by DMRT ( $\alpha = 5\%$ )

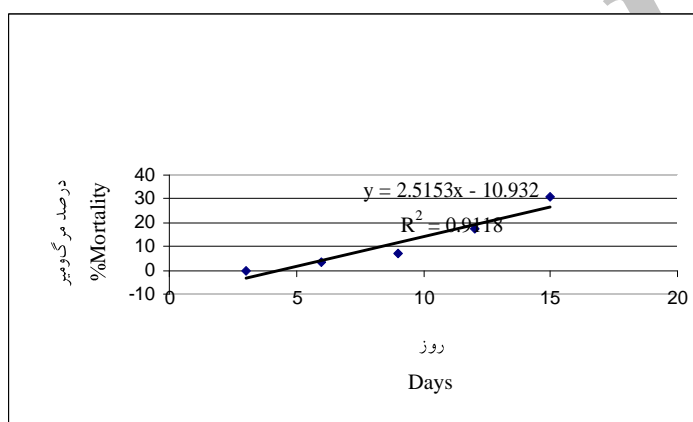
Isolate	% Mortality $\pm$ SE
DEMI 002	52.22 $\pm$ 8.28 a
DEBI 002	31.11 $\pm$ 1.11 b
DEPI 003	21.48 $\pm$ 6.46 b
DEBI 001	21.11 $\pm$ 5.48 b
DEBI 013	10.37 $\pm$ 0.37 b

Means within column followed by same letter are not significantly different



شکل ۱- خط روز- مرگ و میر جدایه DEMI 002 در غلظت  $10^5$

Fig. 1- Regression of the mortality as a function of time of DEMI 002 at concentration of  $10^5$



شکل ۲- خط روز- مرگ و میر جدایه DEBI 002 در غلظت  $10^5$

Fig. 2- Regression of the mortality as a function of time of DEBI 002 at concentration of  $10^5$

مقایسه شیب های خط روز- مرگ و میر مربوط به دو جدایه DEMI 002 و DEBI 002 با درصد مرگ و میر بالاتر نسبت به بقیه جدایه ها، نشان می دهد که جدایه زهرآگین تر DEMI 002، از نظر زمان کشندگی ۵۰٪ نیز نسبت به DEBI 002 رجحان دارد (نمودار ۱ و ۲).

اثر نسبتاً ضعیف قارچ های بیمارگر حشرات روی سوسک سیاه گندم مبین این مساله است که نمی توان آن ها را به تنهایی در مهار طغیان این آفت به کار بست و باید از دیگر روش های کنترل آفت نیز بهره جست. اثر قاطع تناوب در کاهش جمعیت آفت به خوبی ثابت شده است به گونه ای که در مناطقی که تناوب زراعی رعایت می شود، تقریباً آفت مهار می باشد.

## بحث

تجزیه واریانس درصد مرگ و میر جدایه ها، اختلاف معنی دار بین آن ها را نشان داد. جدایه ای بومی از قارچ *M. anisopliae* بیشترین تاثیر را روی سوسک سیاه گندم در آزمایشگاه داشت. در تحقیقات آزمایشگاهی مشابه که با استفاده از جدایه های بومی قارچ های *M. anisopliae* و *B. bassiana* روی شته روسی گندم *Diuraphis noxia* و تریپس غربی

گل *Frankliniella occidentalis* صورت گرفته، در هر دو مورد جدایه های بومی قارچ *M. anisopliae* DEMI 001، (DEMI 002) از *B. bassiana* موثرتر بوده اند (Mohammadi pour, 2008; Koupi, 2010). اما نتایج حاکی از آن بود که در مجموع قارچ های بیمارگر تاثیر قطعی روی این آفت ندارند و در صورت استفاده از آنها در کنترل آفت با رعایت کلیه جوانب، باید به عنوان جزئی از مدیریت تلفیقی آفت در نظر گرفته شوند و سایر روش های کنترل آفت نیز مورد استفاده قرار گیرند. یکی از پارامترهای مهمی که بر پایداری و کارایی قارچ های بیمارگر تاثیر منفی می گذارد، نور خورشید است. بی اثر شدن سریع مایه تلقیح قارچی توسط اشعه خورشید به عنوان مانع بزرگی در کاربرد تجارتي قارچ های بیمارگر حشرات در مزرعه به حساب می آید. درجه حرارت محیط نیز می تواند یکی دیگر از فاکتورهای محدود کننده قارچ ها باشد. با توجه به این که قارچ ها در مزرعه و گلخانه نسبت به شرایط آزمایشگاه، درجه حرارت های بالاتر و نوسانات دمایی بیشتری را به همراه تابش مستقیم نور خورشید تجربه می کنند، به طور وضوح تاثیر و کارایی آنها در چنین محیط هایی کاهش می یابد که با توجه به حساسیت کم این حشره به قارچ ها، مشکل کارایی کم آنها را دوچندان خواهد نمود، مگر این که از جدایه هایی با فرمولاسیون های مناسب، مقاوم در برابر نور خورشید و خشکی محیط و سازگار با درجه حرارت های محیطی استفاده کرد.

زمان کاربرد هم از اهمیت زیادی برخوردار است که البته این اهمیت بستگی به وقوع آفت، سن آفت و تماس آن با عامل بیمارگر دارد. با توجه به این که عمق فعالیت لاروها بین ۱۵ تا ۲۰ سانتی متری خاک است (فقط در روزهای گرم بین ۵ و ۱۰ سانتی متر است) به نظر می رسد که در دوره کوتاهی در مهر یا آبان قبل از این که لاروها به جوانه های اولیه گندم خسارت وارد کنند و به اعماق بیشتر خاک فرو روند، از مایه تلقیح قارچی فرموله شده مخلوط با لایه های سطحی خاک برای پیشگیری از خسارت می توان بهره جست. با توجه به این که رشد قارچ معمولا تحت شرایط مرطوب رخ می دهد، می توان با استفاده از فرمولاسیون های روغنی نیاز به رطوبت را کاهش داد. تاکید می گردد که این روش باید همراه با روش های کنترل زراعی و شیمیایی به کار گرفته شود. افزایش آگاهی کشاورزان در مورد فواید تناوب در مدیریت آفات باید به عنوان یکی از اهداف ترویج "عملیات بهینه کشاورزی" مدنظر قرار گیرد. تناوب زراعی گزینه غیرشیمیایی اصلی برای جلوگیری از افزایش جمعیت این آفت است. تنوع بخشیدن به سیستم کشت با استفاده از تناوب در مزارع می تواند چندین نتیجه مطلوب برای کشاورزان داشته باشد از جمله افزایش فراوانی و تاثیر دشمنان طبیعی خصوصا برای شته ها. این سیستم ها همچنین کارایی استفاده از آب و سودبخشی زمین را نسبت به کشت پیاپی گندم و گندم - آیش افزایش می دهد. به علاوه، کنترل موثر و اقتصادی علف های هرز را آسان تر می کند. با توجه به اثر قاطع تناوب زراعی و آیش در کاهش جمعیت و کاربرد محدود قارچ ها در عملیات مبارزه، استفاده حفاظتی از قارچ ها در صورت لزوم باید در چارچوب مدیریت تلفیقی آفت در نظر گرفته شود. به جا است که با تحقیقات بیشتر پیرامون قارچ های بیمارگر بومی روی لاروها و حشرات کامل سوسک سیاه گندم و حفظ و حمایت از این عوامل با روش های زراعی و غیره، گام هایی در جهت کنترل زیستی کلاسیک این آفت برداشته شود.



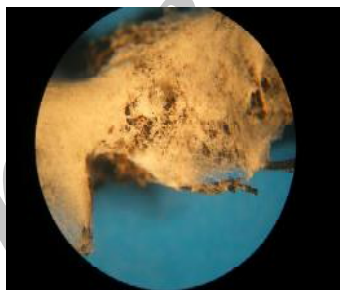
شکل ۳- حشره کامل سوسک سیاه گندم آلوده به قارچ *B. bassiana* جدایه DEBI 002. میسلیم های قارچ در اطراف و زیر بدن

Fig. 3- CGB adult infected with *B. bassiana*, isolate DEBI 002 Look at the mycelia beneath & around the body



شکل ۴- سوسک سیاه گندم آلوده به قارچ *B. brongniartii* جدایه DEBI 013

Fig. 4- CGB adult infected with *B. bassiana*, isolate DEBI 013



شکل ۵- حشره کامل سوسک سیاه گندم آلوده به قارچ *B. bassiana* جدایه DEBI 001

Fig. 5- CGB adult infected with *B. bassiana*, isolate DEBI 001



شکل ۶- لارو سوسک سیاه گندم آلوده به قارچ *B. bassiana* جدایه DEBI 002

Fig. 6- CGB larva infected with *B. bassiana*, isolate DEBI 002



## سپاسگزاری

نتایج این بررسی بخشی از پروژه تحقیقاتی مصوب به شماره ۸۶۰۶۷-۰۴-۰۰۰۰-۱۰۰۰۰۰-۲-۰۰۹ می باشد و هزینه اجرای آن توسط موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور تأمین شده است که بدین وسیله از موسسه مذکور و آقایان دکتر عزیز شیخی گرجان و مهندس سعید قدیری راد تشکر و قدردانی می گردد.

## References

- Anonymous. 2010.** The manual of recommended pesticides for important pests of major crops. Plant Protection Organization. 112 pp. (in press).
- Jozeyan, A. 1996.** Final report of research project "Bioecology of Corn Ground Beetle-Ilam. Ilam Research Center for Agricultural and Natural Resources. 24 pp.
- Keller, S., Schweizer, C., Keller, E. and Brenner, H. 1997.** Control of white grubs (*Melolontha melolontha* L.) by treating adults with the fungus *Beauveria brongniartii*. Biocontrol Science and Technology, 7: 105-116.
- Koupi, N. 2010.** Effect of Iranian isolates of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* on the Western Flower Thrips, *Frankliniella occidentalis* (Thysan, Thripidae) under laboratory conditions. M.Sc. Thesis. 120 pp. University of Tarbiat-Modares.
- Lewis, L. 2007.** Ecological considerations for the use of entomopathogens in integrated pest management. In: Koul, O. & Cuperus, G. (eds.) Ecologically based integrated pest management. CAB International, Wallingford, UK, 249-268.
- Miller, R.H. and Pike, K.S. 2002.** Insects in wheat-based systems. In: Curtis, B.C., Rajaram, S. & Gomez Macpherson, S. (eds.) BREAD WHEAT. FAO Plant Production and Protection Series. No.30.
- Mobasheri, M. 1994.** Final report of research project "Investigation into the bioecology of *Zabrus tenebrioides* in Gorgan and Gonbad". Gorgan and Gonbad Research Center for Agricultural and Natural Resources. 103-147.
- Mohammadi pour, A. 2008.** Study the effect of some isolates of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium muscarium* and *L. aphanocladii* on the Russian Wheat Aphid, *Diuraphis noxia* (Hom., Aphididae). M.Sc. Thesis. 190 pp. College of Aburaihan, University of Tehran.
- Parker, B.L., El-Bouhssini, M. and Skinner, M. 2001.** Field guide: Insect pests of wheat and barley in North Africa, west and central Asia. International Center for Agricultural Research in the Dry Areas. Aleppo, Syria. 120 pp.
- Pimentel, D. 2002.** Encyclopedia of pest management. Volume 1. Marcel Dekker, Inc. 929 pp.
- Rezabeigi, M. and Radjabi, Gh. 2002.** Important pests of wheat and barley: Management in Iran. From wheat seed to loaf of bread. Zeitun Publication, Qom, 473 pp.
- Roostaei, A. and Zahedi-Kayvan, M. 1992.** Corn Ground Beetle. Zeitun, 108: 27-29.
- SAS Institute. 2002.** PROC user's manual, version 9<sup>th</sup> ed. SAS Institute, Cary, NC.
- Steenberg, T., Langer, V. and Eshbjerg, P. 1995.** Entomopathogenic fungi in predatory beetles (Col. Carabidae and Staphylinidae) from agricultural fields. BioControl. 40(1): 77-85.

## The effect of entomopathogenic fungi on Corn Ground Beetle under laboratory conditions

H. Haji Allahverdi Pour\*, M. Ghazavi

Dep. of Agricultural Entomology Research, Iranian Research Institute of Plant Protection

### Abstract

The Corn Ground Beetle, *Zabrus tenebrioides* (Col., Carabidae) is an important cereal pest in Iran and some European countries. Serious damage leads to withering and drying of plants. In order to evaluate the potential of entomopathogenic fungi in control of this pest, field-collected adults were maintained under appropriate conditions and exposed to entomopathogenic fungi of genera, *Beauveria*, *Metarhizium* and *Isaria*, isolated from different hosts and geographical regions. The bioassay were carried out by submergence method with concentrations of  $10^5$ ,  $10^6$  and  $10^7$  conidia/ml of Tween 80<sup>®</sup> solution (0.05%) in three replicates and 10 insects in each replicate and exposure time of 60 sec. The results showed relatively low efficacy of these entomopathogenic fungi on the pest. ANOVA of mortalities proved significant differences among the isolates. DEMI 002 (an isolate of *Metarhizium. anisopliae*) showed the highest mortality (52.22%) than the other isolates. In case of DEMI 002, Values of  $LC_{50}$  (95% confidence intervals) and  $LT_{50}$  were obtained  $7.21 \times 10^6$  ( $1.68 \times 10^6$ ,  $6.76 \times 10^9$ ) and 13.37 days at  $10^7$  conidia/ml respectively.

**Keywords:** *Zabrus tenebrioides*, *Isaria*, *Beauveria*, *Metarhizium*, effect

\*Corresponding Author, E-mail: hana\_agri@yahoo.com

Received: 25 Sep. 2010 – Accepted: 7 Oct. 2011