تحقیقات حمایت و حفاظت جنگلها و مراتع ایران
جلد ۸ شمارهٔ ۱، صفحهٔ ۳۸-۲۷، (۱۳۸۹)

بررسی اثر پلیمرهای فوق جاذب آب در میزان بیمارگری قارچ *Metarhizium anisopliae* (Metsch). Sorokin روی سوسک شاخک بلند سارتا *Aeolesthes sarta* (Col.: Cerambycidae)

محمد ابراهیم فرآشیانی*[۱]، حسن عسکری[۲]، وحیدرضا منیری[۳]، رسول امید[۳]، ابراهیم عزیزخانی[٤]، مهری باب مراد[۳]، سیده معصومه زمانی[٥]، مهدیه هاشمی[٦] و ستار زینالی[٦]

۱*- نویسنده مسئول مربی پژوهشی، موسسه‌ی تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران ، صندوق پستی ۱۱٦-۱۳۱۸٥
پست الکترونیک: Farashiani@rifr-ac.ir

۲- دانشیار، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، تهران، صندوق پستی ۱٤٥٤/ ۱۹۳۹٥ پست الکترونیک: Askari@iripp.ir،

۳- مربی پژوهشی، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران ، صندوق پستی ۱۱٦-۱۳۱۸٥

٤- استاد یار پژوهش، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، صندوق پستی ۱۱٦-۱۳۱۸٥

٥- کارشناس ارشد، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، صندوق پستی ۱۱٦-۱۳۱۸٥

٦- کارشناس، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، صندوق پستی ۱۱٦-۱۳۱۸٥

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۲/۱۲ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۰/۲۸

چکیده

سوسک شاخک بلند سارتا *Aeolesthes sarta* Solsky (Col.: Cerambycidae) یکی از مهمترین آفات چوبخوار در ایران و برخی دیگر از کشورهای آسیا بوده و به‌رغم اهمیت آن، مطالعات معدودی درباره‌ی کنترل بیولوژیک آن انجام شده‌است. در تحقیق حاضر اثر قارچ بیمارگر *Metarhizium anisopliae* جدایه‌ی DEMI-001 علیه لارو آفت مورد ارزیابی آزمایشگاهی قرار گرفت. برای این منظور غلظت‌های مختلفی از کنیدی قارچ تهیه شده و لاروهای آفت به مدت نیم دقیقه به روش غوطه‌ورسازی در معرض غلظت‌های تهیه شده قرار گرفته و بعد در دالان‌های لاروی مصنوعی قرار داده شدند. همچنین اثر ماده جذب‌کننده آب در کارآیی این قارچ روی آفت مذکور مورد استفاده قرار گرفت و میزان تلفات لاروی برای تمامی تیمارها و غلظتها تعیین شده و غلظت‌های کشنده برای ۵۰٪ و ۹۰٪ از جمعیت لارو آفت محاسبه گردید. نتایج حاصل از تجزیه‌ی واریانس مجموع داده‌های بدست آمده از تیمارها نشان داد که بین میزان مرگ و میر ایجاد شده در تیمارهای مختلف در سطح یک درصد اختلاف وجود داشته و کاربرد ماده‌ی جاذب آب بالاترین تأثیر را در مرگ و میر لاروها داشته است.

واژه‌های کلیدی: سوسک شاخک بلند، کنترل بیولوژیک، *Metarhizium anisopliae*، پلیمرهای فوق جاذب.

مقدمه

سوسک چوبخوار سارتا *Aeolesthes sarta* Solsky (Col.: Cerambycidae) یکی از مهمترین آفات درختان مثمر و غیر مثمر بوده و برای اولین بار در سال ۱۹۱۱ در سمرقند مشاهده شد. خاستگاه این آفت کشور پاکستان بوده و این آفت طی سالهای متمادی به مناطق شرقی (هندوستان و بنگلادش)، شمال (افغانستان و چین) و کشورهای آسیای میانه و غرب (ایران) گسترش یافته و در حال حاضر یکی از مخربترین آفات بعضی از درختان مثمر و غیر مثمر در مناطق ذکر شده می‌باشد (Khan *et al.*, 1983; Khudaibergenov *et al.*, 1991; Orlinskii *et al.*, 1991; Orlinskii, 1999).

در ایران این آفت اولین بار توسط جلال افشار از خراسان و روی درختان سیب و گوجه گزارش شد (افشار، ۱۳۲۳). تاکنون گیاهان متعددی ازجمله صنوبر، بید، چنار، نارون، گردو، گوجه جنگلی، گلابی جنگلی، اقاقیا و غیره به‌عنوان میزبان این آفت در ایران معرفی شده‌اند (فرحبخش، ۱۳٤٥؛ رجبی، ۱۳۷۰؛ عبایی، ۱۳۷۸). در دهه‌ی اخیر آفت مذکور در استان‌های تهران، خراسان و اصفهان روی درختان نارون، چنار و گونه‌های مختلف صنوبر انتشار داشته و از مهمترین و مخربترین آفات درختان مذکور در این مناطق می‌باشد و مطالعاتی درباره‌ی بیولوژی و مدیریت کنترل در کشور انجام شده است (فرآشیانی، ۱۳۸٤؛ فرآشیانی و همکاران، ۱۳۷۸).

به علت اهمیت زیاد این حشره‌ی چوبخوار راههای کنترل آن نیز از گذشته‌های دور مورد توجه بوده و مطالعاتی در این خصوص انجام شده‌است. مطالعاتی که تاکنون در باره‌ی مبارزه با سوسک شاخک بلند سارتا انجام شده، عمدتا مبارزه‌ی شیمیایی بوده است. (Alam, 1962, Gersun and Kim, 1966, Sheikh, 1979; 1985) و نیز (فراشیانی ۱۳۸٤؛ امامی، ۱۳۸۰). در این مطالعات ترکیبات مختلف شیمیایی که دارای خاصیت تدخینی هستند؛ در داخل دالانهای لاروی علیه لارو این حشره بکار رفته‌اند.

اگرچه این روش از مبارزه در مدیریت کنترل این حشره‌ی چوبخوار کاربرد داشته و در مواردی مبارزه‌ی شیمیایی اجتناب‌ناپذیر بوده است، ولی کاربرد این ترکیبات مشکلاتی به همراه داشته و بهترین روش مبارزه با این آفت نمی‌باشد. از سوی دیگر با توسعه‌ی علم میکروبیولوژی حشرات، تولید حشره‌کشهای میکروبی با استفاده از قارچ‌های بیمارگرحشرات به‌سرعت رو به افزایش است (Ramle *et al.*, 2006). قارچ *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin ازجمله مهمترین بیمارگرهای حشرات می‌باشد که انتشار جهانی داشته و تاکنون محصولات بیولوژیکی بسیار خوبی از آن بدست آمده‌است (Richards & Rogers, 1990; Moore & Prior, 1993). حشره‌کش‌های میکروبی بدست‌آمده از قارچ مذکور تاکنون برای کنترل طیف وسیعی از حشرات بکار گرفته شده‌اند که از موفقیت‌آمیزترین کاربردهای این حشره‌کش‌ها می‌توان به استفاده از این قارچ برای کنترل آفات نیشکر مانند *Mahanarva posticata* (STal) در برزیل، آفات نیشکر و آفات مرتعی در استرالیا و کنترل ملخ‌ها درآفریقا اشاره نمود (Medonica, 1992; Bateman *et al.*, 1993). همچنین جدایه‌هایی از این قارچ طی تحقیقات متعددی در مبارزه با سوسکهای شاخک بلند به‌کار گرفته‌شده‌اند و نتایج بسیار امیدوارکننده‌ای در ارتباط با کنترل این گروه از آفات با استفاده از قارچ بیمارگر *M. anisopliae* حاصل شده است (Tabata., 1992; Shimazu *et al.*, 1993; Ambethgar *et al.*, 1999; Ambethgar, 2003; Dubois *et al.*, 2004).

قارچ *M. anisopliae* دارای چهار واریته است (Driver *et al.*, 2000)، دو تا از مهمترین آنها عبارتند از: *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* (قبلا *M. flavoviride* نام داشت) که عمدتا روی راست بالان (Orthoptera) یافت می‌شوند و *M. anisopliae* var. *anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin. که دارای طیف میزبانی وسیعی شامل عنکبوت‌مانندها و پنج راسته از حشرات (Boucias & Pendland, 1998) و بالغ بر ۲۰۰ گونه میزبان می‌باشد. گونه *Metarhizium anisopliae* خصوصیات منحصر به فرد و جالب متعددی دارد که بواسطه آنها به‌عنوان یک عامل میکروبی مهم کنترل بیولوژیک درآمده است؛ این قارچ توانایی بالایی در کنترل طیف وسیعی از حشرات دارد، بر روی محیط‌های کشت مصنوعی بصورت توده‌ای رشد می‌کند و براحتی می‌توان کنیدی‌های آن را به مدت طولانی نگهداری نمود. پروپاگول‌های این بیمارگر تا زمانی‌که در مجاورت میزبان قرار نگیرند؛ جوانه نمی‌زنند (Roberts, 1970).

میزان موفقیت برنامه‌های کنترل میکروبی با استفاده از این قارچ و دیگر عوامل کنترل کننده بیولوژیک اغلب به انتخاب و استفاده از یک فرمولاسیون مناسب برای عامل بیوکنترل بستگی دارد (Daoust *et al.*, 1983). فرمولاسیون عبارت است از مخلوطی فیزیکی از عامل میکروبی (موجود زنده) با یک یا چند ماده بی‌اثر که موجب حفاظت از ماده موثره، افزایش کارآیی آن روی موجودات هدف و کاهش اثرهای مضر آن روی موجودات غیر هدف گردد. اساس فرمولاسیون یک عامل بیمارگر روی افزایش و حفظ زنده‌مانی و قدرت بیماری‌زایی آن در طول کاربرد استوار است. بنابراین در اضافه کردن مواد به فرمولاسیون آفت‌کش میکروبی باید دقت شود که فعالیت بیمارگر متوقف نشده و یا صدمه نبیند و در صورت امکان کارآیی بیمارگر را برای بیمارگری افزایش دهد و به‌عبارت دیگر در فرمولاسیون یک عامل بیوکنترل باید موادی را انتخاب نمود که موجب حفظ و حتی افزایش این خصوصیات شوند. در همین راستا داشتن اطلاعات کافی از بیولوژی بیمارگر و حشره هدف، آگاهی دقیق از روابط بیمارگر و میزبان، اثر حرارت، رطوبت و مواد حامل روی بیمارگر بسیار مهم است (Angus & Luthy, 1973). اسپورهای *M. anisopliae* معمولا برای جوانه‌زنی به رطوبت نسبی حداقل ۹۲٪ نیاز دارند (Ferron, 1981). مشخص شده است که کنیدیها در دمای معتدل و رطوبت نسبی بالا (۲۶°C- ۱۹ و ۹۷٪ رطوبت نسبی) یا دمای پایین و رطوبت نسبی پایین (۴°C و ۰٪ رطوبت نسبی) بقاء بیشتری دارند (Daoust & Roberts, 1983). بنابراین مهمترین بخش در زمینه مصرف حشره‌کشهای بدست‌آمده از *M. anisopliae*، تأمین رطوبت بالاتر از ۸۰ درصد برای بیمارگری این قارچ است که در محیط‌های طبیعی بندرت دست‌یافتنی است. کشور ایران از نظر اقلیمی در قسمت خشک کره‌ی زمین قرار گرفته است؛ از اینرو محدود بودن نزولات جوی از یکسو و پراکنش نامناسب بارندگی همراه با دوره‌های طولانی خشک و گرم از سوی دیگر موجب بوجود آمدن مشکلاتی برای استفاده از این قارچ مهم بیمارگر حشرات و همچنین نقصان عملکرد آن شده است. در این خصوص استفاده از مواد سوپر جاذب بهمراه اسپورهای این قارچ، به‌عنوان یک روش و راهکار جدید می‌تواند جایگاه ویژه‌ای داشته باشد.

پلیمرهای فوق جاذب[1] به شبکه‌های پلیمری اطلاق می‌شود که بدون حل شدن در آب توانایی جذب آب و محلولهای آبی را داشته باشد. ویژگی‌های بسیار جالب و منحصر بفرد این مواد سبب شده که امروزه کاربردهای وسیعی در زمینه‌های مختلف ازجمله زراعت، باغبانی، گلخانه‌ها، صنایع غذایی، صنایع بسته‌بندی و غیره داشته باشند (کبیری، ۱۳۸۱؛ بانج شفیعی و رهبر، ۱۳۸۲). این پلیمرها زمانی‌که در محیط طبیعی قرار می‌گیرند آب را بخود جذب نموده و در خود نگهداری می‌کنند. با کاهش رطوبت و خشک شدن محیط، آب داخل پلیمر بتدریج تخلیه شده و بدین ترتیب محیط بمدت طولانی‌تری مرطوب می‌ماند. از این‌رو بنظر می‌رسد استفاده از پلیمر مذکور بهمراه اسپورهای قارچ *M. anisopliae*، موجب نگه‌داری آب و جلوگیری از تلفات آن شده و در نتیجه امکان استفاده از این حشره‌کش قارچی را در شرایط طبیعی میسر می‌سازد.

در تحقیق حاضر نوعی از پلیمر آبدوست بهمراه قارچ *M. anisopliae* روی سوسک شاخک بلند سارتا مورد استفاده قرار گرفته و تأثیر پلیمر مذکور روی کارآیی اسپورهای قارچ *M. anisopliae* علیه حشره‌ی هدف ارزیابی شده است.

مواد و روشها

تهیه، کشت و نگهداری قارچ بیمارگر

برای انجام تحقیق حاضر جدایه‌ای از قارچ *M. anisopliae* از مؤسسه‌ی تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور دریافت گردید. این جدایه توسط غزوی و آوند فقیه از سوسک سرخرطومی حنایی خرما *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier) از سراوان در استان سیستان و بلوچستان جداسازی شده است. این قارچ روی محیط غذایی سیب‌زمینی، دکستروز و آگار داخل تشتک پتری یا لوله‌های آزمایشی کشت و در یخچال نگهداری شد. برای بدست آوردن کنیدی‌های این قارچ، طشتک‌های پتری حاوی محیط سیب‌زمینی، دکستروز، آگار (تولید شده توسط شرکت مرک آلمان) با استفاده از کشت خالص قارچ تلقیح گردید. کشت‌ها به مدت دو هفته در شرایط کنترل شده دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۱۶ ساعت روشنایی نگهداری شده و پس از این مدت کنیدی‌های تولید شده روی محیط کشت به کمک ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر سترون حاوی ۳ دردهزار تریتون X-100 شستشو و جمع‌آوری شدند. تعداد کنیدی‌های تولیدشده به کمک لام گلبول‌شمار شمارش و غلظت پایه 10^8 کنیدی در میلی‌لیتر تهیه شد. بعد سایر غلظت‌ها به میزان 10^7، 10^6 و 10^5 از طریق رقیق‌سازی این غلظت پایه تهیه گردید.

تهیه گیاه، حشره‌ی میزبان و پلیمر آبدوست

در تحقیق حاضر میزبان گیاهی آفت شامل گرده‌بینه‌های قطور به قطر حدود ۱۵–۲۰ سانتی‌متر و ارتفاع یک متر از درختان صنوبر (*Populus nigra*, 56/32) پانزده ساله بود که از مجتمع تحقیقاتی البرز واقع در کرج تهیه شده بودند. در این مطالعه از لاروهای سوسک شاخک بلند سارتا *Aeolesthes sarta* که از نظر سن و اندازه تقریباً یکسان (طول بدن ۰/۲ ± ۵ سانتیمتر و عرض کپسول سر ۰/۷– ۰/۶ سانتیمتر) بودند؛ به‌عنوان میزبان استفاده گردید. این لاروها از کانونهای آلوده به آفت از روی درختان نارون در استان اصفهان جمع‌آوری شدند. پلیمر آبدوست مورد استفاده نیز دارای نام تجاری Terracottem (TC) بوده و از پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران دریافت شده است.

1 - Super absorbent polymers

بررسی اثر غلظت‌های مختلف کنیدی *Metarhizium anisopliae* و ماده جذب‌کننده آب در کارآیی آن روی سوسک شاخک بلند سارتا

بمنظور انجام این بررسی، دو نوع آزمایش طراحی شد. در آزمایش اول اثر غلظت‌های مختلف کنیدی قارچ *M. anisopliae* روی سوسک شاخک بلند سارتا مورد ارزیابی قرار گرفت؛ برای این منظور سوسپانسیون کنیدی از قارچ با غلظت‌های 10^5، 10^6، 10^7 و 10^8 کنیدی در میلی‌لیتر به همراه شاهد (آب مقطر حاوی تریتون X-100 به میزان سه در ده‌هزار) تهیه شد. لاروها به روش غوطه‌ورسازی به مدت ۳۰ ثانیه در معرض غلظت‌ها قرار گرفته و بعد در دالان‌های لاروی که به قطر ۱/۵ و عمق ۱۰ سانتیمتر در تنه‌های درختان صنوبر تعبیه شده بود، قرار داده شدند. برای ارزیابی میزان تلفات لاروی، ۱۵ روز بعد گرده‌بینه‌ها قطعه قطعه شده و دالان‌های لاروی شکافته شد. بعد لاروها مورد بازدید قرار گرفته و میزان مرگ و میر برای تمامی غلظت‌ها تعیین گردید. این آزمایش در چهار تکرار (در هر تکرار ۷ لارو) و در قالب طرح کامل تصادفی انجام‌شد.

آزمایش دوم بمنظور بررسی اثر ماده جذب‌کننده آب در میزان بیمارگری قارچ *M. anisopliae* روی سوسک شاخک بلند سارتا طراحی شد. برای انجام این آزمایش سوسپانسیون کنیدی با غلظت 10^8 کنیدی در میلی‌لیتر از قارچ بیمارگر به همراه ماده جذب‌کننده آب و تیمار شاهد (آب مقطر حاوی تریتون X-100 به میزان سه در ده‌هزار و ماده جذب‌کننده آب) مورد استفاده گرفت. ابتدا لاروهای تقریباً یکسان *A. sarta* به مدت نیم دقیقه در معرض غلظت ذکر شده قرار گرفته، بعد در دالانهای لاروی مصنوعی که با قطر ۱/۵ و عمق۱۰ سانتیمتر در تنه‌های درختان صنوبر تعبیه و درون آنها دو گرم از ماده‌ی جذب‌کننده‌ی آب ریخته شده بود؛ قرار داده شدند. جهت ارزیابی تأثیر ماده‌ی جاذب آب روی میزان تلفات لاروی، ۱۵ روز بعد گرده‌بینه‌ها شکافته شد و لاروها مورد بازدید قرار گرفتند تا میزان مرگ و میر در شاهد و تیمار محاسبه گردد. بررسی اثر ماده جذب‌کننده آب روی میزان بیمارگری قارچ *M. anisopliae* به روش دیگری نیز انجام شد. در این روش تمام شرایط مانند روش قبلی بوده و فقط در نحوه‌ی تماس لاروهای *A. sarta* با قارچ بیمارگر تغییر داده شد. در این روش در تیمار و شاهد پس از قرار دادن لارو در داخل دالانها دو گرم پودر به داخل دالان ریخته شد و بعد ۵ میلی‌لیتر از غلظت 10^8 کنیدیوم در میلی‌لیتر قارچ *M. anisopliae* به داخل دالانها تزریق گردید. البته در شاهد فقط ۵ میلی‌لیتر آب به داخل دالانها تزریق گردید. این آزمایش در چهار تکرار (در هر تکرار ۷ لارو) و در قالب طرح کامل تصادفی انجام گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

در ابتدا گروههایی از داده‌های بدست آمده از تیمارهای مختلف که در شاهد آنها مرگ و میر مشاهده شده بود با استفاده از فرمول آبوت[1] تصحیح گردیدند. بعد داده‌های تصحیح شده بوسیله‌ی نرم‌افزار رایانه‌ای MSTAT-C و برنامه‌ی استات[2] از نظر نرمال بودن مورد آزمون قرار گرفتند. در مرحله بعدی آن گروه از داده‌ها که توزیع آنها نرمال نبود، با استفاده از برنامه‌ی کالک[3]؛ قوس سینوس[4] هر یک از آنها محاسبه شده و داده‌های تبدیل شده جهت انجام تجزیه و تحلیل آماری مورد استفاده قرار گرفتند. پس از تصحیح و

1 - Abbott
2 - STAT
3 - CALC
4 - Arc Sin

تبدیل داده‌ها؛ تجزیه واریانس آنها در قالب طرح کاملا تصادفی در نرم‌افزار رایانه‌ای SAS انجام شد. میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه گردیدند. درنهایت نتایج حاصل از تمام آزمایشها بطور مجزا و در قالب طرح پایه کاملا تصادفی و با یکدیگر در قالب آزمایش فاکتوریل[1]، تجزیه واریانس شده و مؤثر بودن هر کدام از عوامل با آزمون F مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی اثر ماده جذب‌کننده آب روی میزان بیمارگری قارچ، پس از انجام تجزیه‌ی واریانس میانگینهای شاهد و تیمار با استفاده از آزمون مقایسات ارتوگونال[2] با یکدیگر مقایسه شدند. لازم به تذکر این مطلب است که محاسبه‌ی ضریبهای لازم جهت مقایسات ارتوگونال با استفاده از روش ذکر شده در کتاب طرحهای آماری در علوم کشاورزی (بصیری، ۱۳٦۷) انجام شده و بعد با استفاده از نرم افزار آماری SAS مقایسات ارتوگونال لازم انجام شد.

نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس آزمایش اول و مقایسه غلظت‌های استفاده شده نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین مرگ و میر لاروها در تیمارهای آزمایش در سطح یک درصد وجود دارد (df=19, 4; F=22.34; P=0.0001). بنابراین قارچ *M. anisopliae* به احتمال بیش از ۹۹٪ (α=۰/۰۱) باعث ایجاد بیماری و مرگ و میر در لاروها شده است. نتایج حاصل از تجزیه‌ی واریانس مجموع داده‌های بدست‌آمده از آزمایشهای اول و دوم نشان داد که بین میزان مرگ و میر ایجاد شده در تیمارهای مختلف در سطح یک درصد اختلاف وجود داشت (df=8, 4; F=36.06; P=0.0001). جدول ۱ نتایج حاصل از مقایسه‌ی میانگینهای مرگ و میر ایجاد شده در لاروهای *A. sarta* تماس داده شده با قارچ بیمارگر *M. anisopliae* در تمام تیمارها را نشان می‌دهد.

جدول ۱- مقایسه میانگینهای مرگ و میر ایجاد شده در لاروهای سوسک شاخک بلند سارتا، در اثر تماس با ترکیب جاذب آب و غلظتهای مختلف قارچ بیمارگر *M. anisopliae* به روش دانکن در سطح پنج درصد.

ردیف	غلظتهای مورد استفاده (اسپور در میلی لیتر)	میانگین مرگ و میر (درصد)	سطح میانگین
۱	غوطه‌وری در غلظت ۱×۱۰^{۸} + دو گرم پودر در دالان لاروی	۸٤/٦۵	A
۲	غوطه‌وری در غلظت ۱×۱۰^{۸}	۷۸/۹۰	AB
۳	دو گرم پودر+ تزریق ۵ میلی‌لیتر قارچ با غلظت ۱×۱۰^{۸} به داخل دالان لاروی	۷٦/٦۷	AB
٤	غوطه‌وری در غلظت ۱×۱۰^{۷}	۷۱/۱۸	BC
۵	غوطه‌وری در غلظت ۱×۱۰^{٦}	٦۲/۰۳	CD
٦	غوطه‌وری در غلظت ۱×۱۰^{۵}	۵٤/۳۵	D
۷	دو گرم پودر+ تزریق ۵ میلی‌لیتر آب به داخل دالان لاروی	۱۱/۰۹	E
۸	غوطه‌وری در آب + دو گرم پودر در دالان لاروی	۰۰	F
۹	شاهد	۰۰	F

حروف غیر مشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

---

1 - Factorial
1 - Orthogonal Comparisons

میانگینهای تیمارهای ردیف ۱، ۲ و ۳ جدول ۱ در یک سطح (سطح A) قرار گرفته‌اند. در این تیمارها قارچ بیمارگر *M. anisopliae* با غلظت^{۸}۱۰ ×۱ اسپور در میلی‌لیتر بدون ماده‌ی جاذب آب و به همراه ماده‌ی جاذب آب استفاده شده است. البته تیمار ردیف ۱ فقط در سطح A و دو تیمار دیگر در سطح AB قرار گرفته‌اند. بنابراین می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که کاربرد ماده‌ی جاذب آب به روش اول، بالاترین تأثیر را در مرگ و میر لاروها داشته است (α=۰/۰۵).

جهت بررسی نقش ترکیب جاذب آب در میزان مرگ و میر لاروهای *A. sarta* تماس داده شده با قارچ بیمارگر *M. anisopliae* و پاسخ به این سئوالات که آیا کاربرد ماده‌ی جاذب آب تأثیری در میزان مرگ و میر لاروها دارد، یا اینکه آیا بین دو روش کاربرد ماده‌ی جاذب آب تفاوت وجود دارد و کدام روش مؤثرتر است؛ مقایسات اورتوگونال انجام شده و تیمار ردیف ۲ (غلظت ^{۸}۱۰ ×۱ اسپور در میلی‌لیتر بدون کاربرد ماده‌ی جاذب آب) با تیمارهای ردیف ۱ (غلظت ^{۸}۱۰ ×۱ اسپور در میلی‌لیتر قارچ بیمارگر با کاربرد ماده‌ی جاذب آب به میزان دو گرم در دالان لاروی) و ۳ (کاربرد ماده‌ی جاذب آب به میزان دو گرم و تزریق ۵ میلی‌لیتر قارچ با غلظت ^{۸}۱۰ ×۱به داخل دالان لاروی) درجدول ۱ بطور جداگانه مورد مقایسه قرار گرفت (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه‌های ارتوگونال مربوط به میزان مرگ و میر ایجاد شده در لاروهای سوسک شاخک بلند سارتا، در تیمارهای دارای ماده‌ی جاذب آب و فاقد ماده‌ی جاذب آب و قارچ بیمارگر *M. anisopliae* .

منابع تغییرات	درجه آزادی	مربعات کنتراست	میانگین مربعات	F	P
تیمار ۲ نسبت به تیمار۱	۱	۱۹/۳۷	۱۹/۳۷	۰/۸۷	۰/۳۵۹۰**
تیمار ۲ نسبت به تیمار ۳	۱	۱۲۰/۱۲۵	۱۲۰/۱۲۵	۵/۴۲	۰/۰۲۸۳ *
تیمار ۱ نسبت به تیمار ۳	۱	۳۳/۰۱۷	۳۳/۰۱۷	۱/۴۹	۰/۲۳۳ ns

ns= اختلاف معنی‌دار نیست **= اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ *= اختلاف معنی‌دار در سطح۵٪ C.V.=۲۰/۸۴۳

نتایج حاصل از مقایسات ارتوگونال نشان داد که اختلاف تیمار ۲ نسبت به تیمار ۱ معنی‌دار بود. یعنی کاربرد ماده‌ی جاذب آب به روش اول در میزان مرگ و میر لاروهای تیمار شده تأثیر داشته است. همچنین میانگینهای تیمارهای ۲ و ۳ در جدول ۱ در یک سطح قرار گرفته‌اند؛ به‌طوری‌که نتیجه‌ی بدست‌آمده از مقایسه‌ی ارتوگونال این دو تیمار نیز نشان داد که اختلاف بین آنها معنی‌دار نیست. همچنین تفاوت بین تیمار ۱ و ۳ معنی دار نبود (جدول ۲). بنابراین دو روش کاربرد ماده‌ی جاذب آب نسبت به هم برتری نداشتند. شکل ۱ وضعیت لارو در دالانهای لاروی حاوی ماده‌ی جاذب آب به همراه قارچ بیمارگر (الف) و بدون قارچ بیمارگر (ب) را نشان می‌دهد.

شکل ۱- وضعیت لارو تیمار شده و شاهد بعد از ۱۵ روز در دالان لاروی حاوی ترکیب جاذب آب: (الف- تیمار: ماده‌ی جاذب آب و لارو مرده و کلنیزه شده بوسیله‌ی قارچ بیمارگر *M. anisopliae* ب- شاهد: ماده‌ی جاذب آب و فعالیت معمولی لارو).

بحث

قارچ بیمارگر *M. anisopliae* به‌عنوان یک عامل کنترل بیولوژیک علیه آفات چوبخوار و به‌ویژه سوسک-های شاخک بلند مطرح می‌باشد. در این خصوص مطالعات آزمایشگاهی و صحرایی فراوانی انجام شده و نتایج آنها نشان داده است که قارچ مذکور می‌تواند مرگ و میر بالایی در حشرات تیمار شده ایجاد نماید. به‌عنوان مثال، می‌توان به کاربرد موفقیت‌آمیز این قارچ بیمارگر علیه سوسک چوبخوار *Saperda populnea* L. از آفات مهم چوبخوار صنوبر (Li *et al.*, 1989) وسوسک‌های شاخک بلند *Batocera horsfieldi* Hope، *Saperda populnea* L. و *Neocerambyx mandarinus* Gressitt (Fan *et al.*, 1988; Tabata., 1992) اشاره نمود. نتایج بدست آمده از مطالعات فوق‌الذکر با نتایج بدست‌آمده از این مطالعه تقریب مطابقت داشته و این قارچ در شرایط آزمایشگاهی در لاروهای سوسک شاخک بلند سارتا نیز مرگ و میر بالایی (حداکثر ۷۹٪) ایجاد نمود و به نظر می‌رسد که این قارچ بیمارگر می‌تواند در مدیریت کنترل *A. sarta* مورد استفاده قرار گیرد.

در خصوص ماده‌ی جاذب آب، قابل ذکر است که کاربرد این ماده در مرگ و میر لاروها تاثیر داشته و بالاترین میزان مرگ و میر (۸۵/٦۵) را ایجاد نموده و باعث افزایش مرگ و میر به میزان ۷٪ شده است. لازم به تذکر این مطلب است که *M. anisopliae* بر خلاف دیگر عوامل بیوکنترل، میزبانان حشره‌ای خود را توسط نفوذ فعال از کوتیکول حشره آلوده می‌سازد، نه از طریق حل کردن کوتیکول[1] آن. بنابراین دوره‌ی جوانه‌زنی کنیدی و رشد در کوتیکول بطور چشمگیری به حرارت و رطوبت

1- Cuticle

موجود بستگی دارد. بطور مثال، مشخص شده است که وقتی رطوبت نزدیک به اشباع است، قارچ *M. anisopliae* به سرعت درصد بالایی از سن‌های Triatominae (Hem.: Reduviidae) را آلوده ساخته و بعد می‌کشد (Silva and Messias, 1985; Romana & Fargues, 1987; Luz, 1990; Luz *et al.*, 1994). همچنین در مطالعه دیگری ۱۳ جدایه از *M. anispliae* روی پوره سن سوم *Triatoma infestans* Klug (مهمترین ناقل بیماری Chagas) آزمایش گردیدند (Luz *et al.*, 1994)؛ نتایج این بررسی نشان داد که در رطوبت اشباع این حشره به آلودگی قارچی بسیار حساس است. اما در رطوبت نسبی پایین‌تر (۵۰ درصد) بیماری‌زایی جدایه‌های مختلف روی حشره کاهش یافت. بطور خلاصه، نتایج تحقیق فوق حکایت از این مطلب داشت که تمام جدایه‌های بررسی شده *M. anisopliae*، در رطوبت نسبی نزدیک به اشباع روی *T. infestans* مؤثر بوده و بیماری ایجاد نمودند.

در مجموع با توجه به شرایط اقلیمی ایران، تامین رطوبت بالاتر از۸۰ درصد برای بیمارگری این قارچ در محیط‌های طبیعی بندرت دست‌یافتنی است؛ بنابراین به نظر می‌رسد استفاده از مواد جاذب آب بهمراه اسپورهای این قارچ، می‌تواند به‌عنوان راهکاری مناسب برای ایجاد مرگ و میری بالاتر در آفات هدف مطرح باشد. البته ارزیابی صحرایی این عامل بیمارگر به همراه ماده‌ی جاذب آب این نکته را روشن خواهد نمود.

سپاسگزاری

این مقاله بخشی از نتایج به دست آمده از اجرای طرح تحقیقاتی در مؤسسه‌ی تحقیقات جنگلها و مراتع کشور می‌باشد که امکان انجام این تحقیق در مؤسسه فراهم شده است. بدین‌وسیله از مؤسسه‌ی تحقیقات جنگلها و مراتع کشور تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

- افشار، ج.، ۱۳۲۳، نام‌های علمی بعضی از سخت بالپوشان ایران و اهمیت آنها در کشاورزی، وزارت کشاورزی، نشریات آزمایشگاه بررسی آفات گیاهان، وزارت کشاورزی، ۲۲۲ صفحه، تهران.
- امامی، م. س. و نعمت اللهی، م. ر.، ۱۳۸۰. بررسی برخی از خصوصیات زیستی *Aeolesthes sarta* Solsky در اصفهان. خلاصه مقالات دومین کنگره‌ی گیاه‌پزشکی جنگلها و مراتع، مؤسسه‌ی تحقیقات جنگلها و مراتع، وزارت جهاد کشاورزی، تهران، صفحه‌ی ۵۹
- بانج شفیعی، ش. و رهبر، ا.، ۱۳۸۲. بررسی کارآیی نوعی پلیمر آبدوست در کشاورزی و منابع طبیعی. فصلنامه پژوهشی تحقیقات مرتع و بیابان. شماره ۱۰ (۱): ۱۱۱-۱۲۹.
- بصیری، ع.، ۱۳٦۷. طرحهای آماری در علوم کشاورزی، چاپ سوم. انتشارات دانشگاه شیراز. شیراز. ۵۹۵ صفحه.
- رجبی، غ.ر.، ۱۳۷۰، حشرات زیان‌آور درختان میوه‌ی سردسیری ایران جلد اول (سخت بالپوشان)، انتشارات موسسه‌ی تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی، وزارت کشاورزی، ۲۲۱ صفحه.
- عبایی، م.، ۱۳۷۸، فهرست آفات درختان و درختچه‌های جنگلی و غیر مثمر ایران. انتشارات موسسه‌ی تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی، وزارت کشاورزی، ۱٤۷ صفحه، تهران
- فرآشیانی، م. ا.، ۱۳۸٤. مدیریت کنترل سوسک شاخک بلند سارتا، *Aeolesthes sarta* Solsky، گزارش نهایی طرح تحقیقاتی، مؤسسه‌ی تحقیقات جنگلها و مراتع، وزارت جهاد کشاورزی، تهران، ۹۹ صفحه.
- فرآشیانی، م.ا.، شامحمدی، د. و صادقی، س.ا. ۱۳۷۸. بررسی زیست شناسی سوسک چوبخوار سارتا *Aeolesthes sarta* Solsky درآزمایشگاه. نامه ی انجمن حشره شناسی ایران، ۲۰(۱): ٦۸-۵۳.
- فرحبخش، ق.ا. ۱۳٤۵، فهرست آفات مهم نباتات و فرآورده‌های کشاورزی ایران، انتشارات سازمان حفظ نبات، وزارت کشاورزی، ۱۵۳ صفحه، تهران.

– کبیری، ک. ۱۳۸۱. هیدورژلهای سوپر جاذب آکریلی. پژوهشگاه پلیمر و پتروشیمی ایران. دومین دوره تخصصی آموزشی کاربرد کشاورزی و صنعتی هیدورژلهای سوپر جاذب.

– Alam, M. Z., 1962. Insect and non-insect pests of fruits and fruit trees in Eeast Pakistan and their control . Department of Agriculture , East Pakista, Decca, 115 pp.

– Ambethgar, V., Lakshmanan, V., Dinakaran, D. and Selvarajan M., 1999. Mycosis of cashew stem and root borer, Plocaederus ferrugineus L. (Coleoptera: Cerambycidae) by Metarhizium anisopliae (Metsch.) Sorokin (Deuteromycotina: Moniliales) from Tamil Nadu. India Journal of Entomological Research, 23(1): 81-83.

– Ambethgar, V., 2003. Screening and selection of entomopathogenic fungi for management of cashew tree borer, *Plocaederus ferrugineus* L. (Cerambycidae: Coleoptera. Pest Management in Horticultural Ecosystems, 9(1): 19- 31.

– Angus, T. A. and Luthy, P., 1973. Formulation of microbial insecticides. In: Microbial control of insects and mites. Burges, H. D. and Hussey, N. W. (eds.). Acad. Press, London and New York. pp. 623-636.

– Bateman, R. P., Carey, M., Moore, D. and Prior, C., 1993. The enhanced infectivity of *Metarhizium flavoviride* in oil formulations to desert locusts at low humidities. Annual Applied Biology, 122: 145-152.

– Boucias, D. R. and Pendland, J. C., 1998. Entomopathogenic fungi; Fungi Imperfecti. In: Boucias, D. R. and Pendland, J. C, (eds.). Principles of Insect pathology, 10: 321- 359. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers.

– Daoust, R. A. and Roberts, D. W., 1983. Studies on the prolonged storage of *Metarhizium anisopliae* conidia: effect of temperature and relative humidity on conidial viability and virulence against mosquitoes. Journal of Invertebrate Pathology, 41: 143- 150.

– Daoust, R. A., Ward, M. G. and Roberts, D. W., 1983. Effect of formulation on the viability of *Metarhizium anisopliae* conidia. Journal of Invertebrate Pathology, 41: 151-160.

– Driver, F., Milner, R. J. and Trueman, J. W. H., 2000. A taxonomic revision of *Metarhizium* based on a phylogenitc analysis of rDNA sequence data. *Mycological Research* 104: 134-150.

– Dubois, T., Hajek, A. E., Jiafu, H. and Li, Z.Z., 2004. Evaluating the efficiency of entomopathogenic fungi against the Asian longhorned beetle, *Anoplophora glabripennis* (Coleoptera: Cerambycidae), by using cages in the field. Environmental Entomology, 33(1): 62- 74.

– Fan, M.Z., Guo, C., Xiao, H. L. and Hu, Y., 1988. Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* and its use in forest pest control. Chinese Journal of Biological Control. 4(1): 29-32.

– Ferron, P., 1981. Pest control by the fungi *Beauveria* and *Metarhizium*. In: Burges H.D. (ed.). Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980, 24:465-482. London, Academic Press.

– Gersun, M. S. and Kim N.G.,1966. Control of *Aeolesthes sarta* larvae, Bjull. Glavn. Bot. Sada, Moskva, 62: 86-88 .

– Khan,T. N. and Maiti, P. K., 1983. Studies on the biotaxonomy, biology and ecology of some longicornbeetle borers (Coleoptera: Cerambycidae) of the Islands of Andaman, India. Records of the Occasional Paper, Records of the Zoological-Survey of India, 45: 102.

– Khudaibergenov, M. & Khodzhaev, S.H., 1991. Against pests of cork elm. Zashchita Rastenii Moskva., 5: 39-43.

– Li, N.C., Fan, M.Z., Zhu, W., Chai, C.H., 1989. Method for extraction of toxin from *Metarhizium anisopliae*. Forest Science and Technology. 10: 30-31.

– Luz, C., 1990. Zur Pathogenität von *Beauveria bassiana* (Fungi imperfecti) gegenüber mehreren Raubwanzenarten (Reduviidae, Triatominae) und Einfluss der relativen Luftfeuchtigkeit auf die Infektion von *Rhodnius prolixus*. Mitt Dtsch Ges Allg Angew Ent, 7: 510-511.

– Luz, C., Fargues, J., Romaña, C. A., More no, J., Goujet, R., Rougier, M. and Grunewald, J., 1994. Potential of entomopathogenic hyphomycetes for the control of the triatomine vectors of Chagas' disease. Proceeding, 6 International Colliquime Invertebrate Pathogen Microbiol Control, 1: 272-276.

– Medonica, A. F., 1992. Mass production, application and formulation of *Metarhizium anisopliae* for control of sugarcane froghopper, *Mahanarva posticata* in Brazil. In: Lomer, C. J. and Prior, C. (eds.). 1992. Biological Control of Locusts and Grasshoppers, CAB International, Wallingwood, United Kingdom. p. 239 – 244.

– Moore, D. and Prior, C., 1993. The potential of mycoinsecticides. Biocontrol News Information., 14: 31-40.

– Orlinskii, A. D., Shahramanov, I. K., Muhanov, S. J. and Masliakov, V. Y., 1991. Potential quarantine forest pests in the USSR. Zashchita Rastenii, 11: 37-41.
– Orlinskii, A.D., 1999. *Aeolesthes sarta*, available in http://www.eppo. orge/gate/pqpf.
– Ramle, M., Basri, M. W., Norman, K., Siti Ramlah, A. A. and Hisham, H., 2006. Research into the commercialization of *Metarhizium anisopliae* (Hyphomycetes) for biocontrol of the rhinoceros beetle, *Oryctes rhinoceros* (Scarabaeidae), in oil palm. Journal of Oil PALM Research, (Special Issue - April 2006), p. 37-49.
– Richards, M. G. and Rodgers, P. B., 1990. Commercial development of insect biocontrol agents. The exploitation of micro-organisms in applied biology. Aspects of Applied Biology, 24: 245- 253.
– Roberts, D. W., 1970. *Coelomomyces*, *Entomophtora, Beauveria,* and *Metarrhizium* as parasites of mosquitoes. Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America 7: 140-155.
– Romaña, C. A. and Fargues, J., 1987. Sensibilité des larves de l'hémiptère hématophage *Rhodnius prolixus* (Triatominae) aux hyphomycètes entomopathogènes. Entomophaga, 32: 167-179.
– Sheikh, A. G., 1979. Insect and non- insect pests of nut fruits in Kashmir and thier control. Resume. Proceeding First Symposium On possible improvements in temperature fruit culture in Jammu and Kashmir State, Srinagar, pp. 59-77.
– Sheikh, A. G., 1985. Insect pest of temperature fruits and their management. Proc. Nat. Worksghop-cum-seminar on temperate fruits, Skuast , Malangpora, Kashmir, pp. 95- 98.
– Shimazu, M., Mitsuhashi, W., Hashimoto, H., and Ozawa, T., 1993. Persistence of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) as a control agent of *Anomala cuprea* (Coleoptera: Scarabaeidae) in a forestry nursery .Applied Entomology and Zoology. 28(1): 103-105.
– Silva, J. C., and Messias, C. L., 1985. Virulência de *Metarhizium var. anisopliae* a *Rhodnius prolixus*. Cienc Cult, 7: 37-40.
– Tabata, K., 1992. Efficacy of BIO 1020, microbial pesticide for biological control of the cryptomeria bark beetle, *Semanotus japonicus* Lacordaire (Coleoptera: Cerambycidae). Applied Entomology and Zoology, 27(3): 460-462.

Influence of super absorbent polymers on the pathogenecity of *Metarhizium anisopliae* (Metsch). Sorokin against *Aeolesthes sarta* (Col.: Cerambycidae)

M. E. Farashiani*[1], H. Askary[2], V. R. Moniri[3], R. Omid[3], E. Azizkhani[4], M. Babmorad[3], S. M. Zamani[5] , M. Hashemi[6] and S. Zeinali[6]

1*- Corresponding author, M. Sc., Member of scientific board, Research Institute of Forests and Rangelands of Iran. E-mail:farashiani@rifr-ac.ir
2- Associate Professor, Plant protection Research Institute, Tehran, Iran. P.O.Box: 19395-1454. E-mail: Askari@iripp.ir
3- M. Sc., Member of scientific board, Research Institute of Forests and Rangelands of Iran
4- Assistant Professor, Research Institute of Forests and Rangelands of Iran
5 –MSc., Research Institute of Forests and Rangelands of Iran
6- BSc., Research Institute of Forests and Rangelands of Iran

Received: 3.3.2010 Accepted: 18.1.2011

Abstract

Sarta longhorn beetle, *Aeolesthes Sarta* Solsky (Col.: Cerambycidae) is one of the most destructive borers attacking many tree species in Iran and some Asian countries. Despite its high economic importance, little information is available on the use of biological control agents. In this research, pathogenicity of entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* DEMI-001 was tested in the laboratory for the pathogenecity to *A. sarta* larvae. The Survey was conducted to determine efficacy of various conidial concentrations of the fungus and control against larvae of *A. sarta*. The larvae were individually treated with conidial concentrations for 30 sec. and placed in hand made grooves in the sapwood of poplar trunks. Also the effect of super absorbent polymers on the pathogenecity of *M. anisopliae* to *A. sarta* larvae was investigated. Mortality rate of larvae were determined for each treatment. Furthermore probit analysis was conducted for the data and $LC_{50}$and LC_{90} values were determined. The results indicated that all of the treatments were significantly different from the control (P= 0.0001) and highest pathogenecity to *A. sarta* was observed in the presence of Super absorbent polymers.

Key words: *Aeolesthes sarta*, biological control, *Metarhizium anisopliae*, Super absorbent polymers.