نامه‌ی انجمن حشره‌شناسی ایران
۱۳۸۷ – ۲۸(۱): ۱۹-۳۴

بررسی آزمایشگاهی زهرآگینی سه قارچ بیمارگر در کنترل سوسک شاخک‌بلند سارتا، *Aeolesthes sarta* (Col.: Cerambycidae)

محمد ابراهیم فرآشیانی[۱و*]، حسن عسکری[۱] و مژگان احتشام حسینی[۲]

۱- موسسه‌ی تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران ،کیلومتر ۱۵ اتوبان کرج، پیکان‌شهر، صندوق پستی ۱۱۶-۱۳۱۸۵، ۲- دانشگاه جامع علمی و کاربردی، تهران، خیابان انقلاب اسلامی، شماره‌ی ۷۵۱.

*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: farashiani@rifr-ac.ir

Laboratory investigation on virulence of three entomopathogenic fungi against the larvae of *Aeolesthes sarta* (Col.: Cerambycidae)

M. E. Farashiani[1&*], H. Askary[1] and M. Ehtesham Hoseini[2]

1. Research Institute of Forests and Rangelands, P.O. Box 13185-116, Tehran, Iran, 2. No. 751, Enghelab Eslami Ave, University of Applied Science and Technology, Tehran, Iran.

*Corresponding author, E-mail: farashiani@rifr-ac.ir

چکیده

سوسک شاخک‌بلند سارتا، *Aeolesthes sarta* Solsky (Col.: Cerambycidae)، در ایران و برخی از کشورهای آسیایی اهمیت اقتصادی زیادی داشته و علی‌رغم اهمیت آن، مطالعات معدودی درباره‌ی کنترل بیولوژیک آن صورت گرفته است. در این تحقیق قارچ‌های بیمارگر *Lecanicillium muscarium* جدایه‌ی DAOM 198499، *Beauveria bassiana* جدایه‌ی PTCC5197 و *Metarhizium anisopliae* جدایه‌ی DEMI-001 علیه لارو آفت مورد ارزیابی گلخانه‌ای قرار گرفت. قارچ‌ها با استفاده از روش‌های معمول تکثیر شده و غلظت‌های مختلفی از آنها ($۱۰^{۵}$، $۱۰^{۶}$، $۱۰^{۷}$، $۱۰^{۸}$ اسپور در میلی‌لیتر) به همراه شاهد تهیه گردید. لاروهای تقریباً یک اندازه و یکسان به مدت نیم دقیقه از طریق غوطه‌ورسازی در معرض غلظت‌های فوق‌الذکر قرار گرفته و در دالان‌های لاروی مصنوعی به قطر ۱/۵ و عمق ۱۰ سانتی‌متر در تنه‌های درختان صنوبر، کلن ۵۶/۳۲ قرار داده شد. میزان تلفات لاروی با شکافتن و تکه‌تکه کردن تنه‌ها بعد از ۱۵ روز تعیین شده و غلظت‌های کشنده برای ۵۰٪ و ۹۰٪ (LC_{50} و LC_{90}) از جمعیت لارو آفت محاسبه گردید. نتایج نشان داد که برای هر سه قارچ بیمارگر، اختلاف بین شاهد و تیمارها معنی‌دار بوده (α = ۰/۰۱) و غلظت‌های کشنده برای ۵۰٪ از جمعیت آفت توسط *L. muscarium*، *B. bassiana* و *M. anisopliae* به ترتیب $۱۰^{۶} \times ۸/۵۳$، $۱۰^{۷} \times ۳/۶۵$ و $۱۰^{۴} \times ۸/۷$ اسپور در میلی‌لیتر بود. نتایج تجزیه‌ی واریانس داده‌ها نشان داد که سه گونه قارچ مورد آزمایش و غلظت‌های به کار رفته با همدیگر در سطح یک درصد اختلاف معنی‌دار داشتند. قارچ *M. anisopliae* با میانگین ۵۰/۹۹ درصد بیشترین و *B. bassiana* با میانگین ۳۰/۴۱ درصد کمترین میزان تلفات را در لاروهای تیمار شده ایجاد نمود. همچنین مقایسه‌ی میانگین غلظت‌ها به روش دانکن مشخص نمود که تیمار $۱۰^{۸}$ اسپور در میلی‌لیتر با ۶۸/۵۷ درصد بیشترین و تیمار $۱۰^{۵}$ اسپور در میلی‌لیتر با ۳۸/۶۴ درصد کمترین میزان تلفات را در لاروهای تیمار شده ایجاد نمود. مقایسه‌ی میانگین‌های مربوط به اثر متقابل دو عامل قارچ و غلظت‌ها نشان داد که تیمار $۱۰^{۸}$ اسپور در میلی‌لیتر از قارچ *M. anisopliae* با ۷۸/۹ درصد بیشترین و تیمار $۱۰^{۵}$ اسپور در میلی‌لیتر از قارچ *B. bassiana* با ۱۶/۶۶درصد کمترین میزان تلفات را روی لاروهای تیمار شده ایجاد نمود.

دریافت: ۱۳۸۵/۱۱/۱۷، پذیرش: ۱۳۸۶/۸/۲۲.

واژگـان کلیـدی: سوسـک شـاخک‌بلنـد، کنتـرل بیولوژیـک، عامـل بیمـارگر حـشرات، *Aeolesthes sarta*، *Beauveria bassiana*، *Metarhizium anisopliae*، *Lecanicillium muscarium*

Abstract

Sart 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 its biological control agents. In this research, pathogenicity of entomopathogenic fungi *Lecanicillium muscarium* (strain DAOM 198499), *Metarhizium anisopliae* (strain DEMI-001) and *Beauveria bassiana* (strain PTCC5197) were tested in the laboratory for the pathogenicity to *A. sarta* larvae. The survey was conducted to determine the efficacy of various treatments (10^5, 10^6, 10^7, 10^8 spore/ml) against the larvae of *A. sarta*. Larvae of the same age were individually treated with conidial concentrations of fungi for 30 sec. and placed in hand-made grooves (diameter of 1.5 cm and length of 10 cm) in the sapwood of poplar trunks (*Populus nigra*, Colon 56/32). After 15 days, the trunks were chopped and the mortality of larvae was determined. Furthermore, Probit analyses were conducted calculate LC_{50} and LC_{90} values for each fungus. The results indicated significant differences between treated and untreated individuals ($p < 0.01$). Estimated LC_{50} for *L. muscarium*, *B. bassiana* and *M. anisopliae* were 8.53×10^6, 3.65×10^7, and 8.7×10^4 spore/ml, respectively. There were significant differences among the mortalities of fungi and concentrations ($p < 0.01$). *M. anisopliae* with the mean of 50.99% and *B. bassiana* with the mean of 30.41% had the highest and the lowest mortality, respectively ($p < 0.05$). Also, the treatments 10^8 and 10^5 spore/ml caused the highest (68.57%) and lowest (38.64%) mortality, respectively. Finally, the comparison of means of interaction (treatment × fungus) showed that *M. anisopliae* treatment (10^8 spore/ml) with 78.9% had the highest and *B. bassiana* treatment (10^5 spore/ml) with 16.66% had the lowest mortality.

Key words: Sart longhorn beetle, biological control, entomopathogens, *Aeolesthes sarta*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Lecanicillium muscarium*

مقدمه

مطالعاتی که تاکنون درباره‌ی کنترل سوسک شاخک‌بلند سارتا، *Aeolesthes sarta* Solsky، انجام شده است، بیشتر مربوط به فرآورده‌های شیمیایی می‌شود، مثل مطالعات Alam (1962)، Gersun & Kim (1966)، Sheikh (1979, 1985) ، Sheikh & Bhat (1991) و Farashiani (2005). در این بررسی‌ها ترکیب‌های مختلف شیمیایی که خاصیت تدخینی دارند، در داخل دالان‌های لاروی علیه لارو این حشره به‌کار رفته‌اند. اگرچه این روش از مبارزه در مدیریت کنترل این حشره‌ی چوب‌خوار کاربرد داشته و در مواردی نیز مبارزه‌ی شیمیایی اجتناب‌ناپذیر بوده است، ولی کاربرد این ترکیب‌ها مشکلاتی به همراه دارد و بهترین روش مبارزه با این آفت نمی‌باشد.

امروزه برای مبارزه با آفات مختلف، کنترل بیولوژیک با استفاده از قارچ‌های بیمارگر به عنوان روشی مؤثر مطرح می‌باشد. برای مثال سوسک شاخک‌بلند *Monochamus alternatus* Hope. یکی از مهمترین آفات چوب‌خوار درختان کاج در کشورهای آسیای شرقی بوده و از قارچ بیمارگر *Beauveria bassiana* برای مبارزه با آن استفاده شده است. در چین این قارچ ۳۰-۲۰٪ لاروهای روی درختان کاج را آلوده نموده (Li *et al.*, 1986) و کاربرد آن روی درختان زنده و خشکیده‌ی

کاج موفقیت‌آمیز بوده‌است (Ogawa, 1988). در مطالعات Shimazu *et al.* (1992)، کاربرد این قارچ علیه حشرات کامل *M. alternatus* در نهالستان کاج باعث مرگ و میر لاروها تا ٤٥٪ شد. همچنین کاربرد این قارچ مرگ و میر بیشتر از ۸۱ درصد لاروها را در نهالستان سبب شد (Shimazu, 1987; Shimazu *et al.*, 1997). همچنین کاربرد یکی از فرآورده‌های تجاری این قارچ (ABG-6178) علیه حشره‌ی کامل *Plectrodera scalator* (Fabricius) با غلظت 10^{10} کنیدی در میلی‌لیتر در مترمربع در خاک سبب شد تا میانگین تعداد لاروهای یک‌ساله در تیمار و شاهد تفاوت معنی‌دار پیدا نماید (Forschler & Nordin, 1989). در پیشاور پاکستان، *B. bassiana* علیه حشره‌ی کامل سوسک شاخک‌بلند سارتا در شرایط آزمایشگاهی استفاده شد و ۹٤٪ مرگ و میر ایجاد نمود (Arshad & Hafiz, 1983). این قارچ روی سوسک‌های شاخک‌بلند دیگر و حشرات چوب‌خوار نظیر *Anoplophora chinensis* Forster (Huang *et al.*, 1990; Huang, 1995)، *Anoplophora malasiaca* Thompson (Kashio & Grey, 1996)، *Arhopalus syriacus* Reitter (Campadelli & Sama, 1993)، *Anoplophora glabripennis* Cano (Zhang *et al.*, 1999) و *Psacothea hilaris* (Pascoe) (Tsutsumi & Yamanaka, 1996; Tsutsumi *et al.*, 1998) گزارش شده یا در شرایط آزمایشگاهی و صحرایی علیه آنها بکار رفته است.

قارچ *Lecanicillium muscarium* از دیگر عوامل بیمارگر روی حشرات چوب‌خوار نظیر *Scolytus scolytus* Fabricius (Barson, 1976)، *Corythuca ciliate* Say (Marletto & Menardo, 1984)، *M. alternatus* (Maehara & Futai, 1997) و *M. urussovi* Fisch. (Vetrova *et al.*, 1995a, b) بوده و بیماری‌زایی آن اثبات شده یا در شرایط صحرایی و آزمایشگاهی علیه آنها مورد ارزیابی قرار گرفته است. همچنین، به عنوان یک عامل بیمارگر برای آفات مهمی مثل *A. chinensi* (Zhang *et al.*, 2001) و *Scolypopa australis* Walker (Marshall *et al.*, 2003) محسوب شده و در مواردی به همراه قارچ *B. bassiana* تا میزان ۷٦٪ در لاروهای *M. alternatus* مرگ و میر ایجاد نموده (Lai *et al.*, 2003) و باعث کاهش انتشار بیماری نماتدی PWN توسط این سوسک‌ها شده‌است (Maehara & Futai, 1997).

قارچ بیمارگر *Metarhizium anisopliae* از دیرباز در مبارزه با آفات چوب‌خوار مطرح بوده و مطالعات زیادی درباره‌ی ارزیابی آزمایشگاهی و صحرایی این عامل بیمارگر علیه آفات چوب‌خوار و خصوصاً سوسک‌های شاخک‌بلند انجام شده که به برخی از مطالعات اشاره

می‌شود. سوسک چوب‌خوار *Saperda populnea* L. از آفات مهم صنوبر در بسیاری از مناطق جهان بوده و تزریق ۰/۳ میلی‌گرم قارچ در گرم وزن لارو حشره باعث مرگ و میر آن به میزان ۱۰۰٪ بعد از ۷۲ ساعت شد (Li *et al.*, 1989). همچنین، این قارچ باعث مرگ و میر ۲٦ درصدی روی سوسک *Plocaederus ferruginus* Fab. در شرایط طبیعی شد (Ambethgar *et al.*, 1999). در مطالعه‌ی صحرایی در ژاپن، استفاده از فرآورده‌ی تجاری این عامل بیمارگر (BIO-1020) به میزان دو گرم برای هر درخت میزبان، سبب مرگ و میر ۱۰۰٪ حشرات کامل *Semanotus japonicus* Lacordaire بعد از ۳۰ روز شد (Tabata, 1992). همچنین، کاربرد این قارچ در خاک باعث کاهش جمعیت سوسک‌های *Anomala cuprea* Hope. گردید (Shimazu *et al.*, 1993). در یک مطالعه‌ی آزمایشگاهی، جدایه‌ی Ma33 از این قارچ علیه ۲۷ آفت مهم جنگلی ارزیابی شد و در مقایسه با سایر آفات، حشرات چوب‌خوار و به ویژه سوسک‌های شاخک‌بلند *Batocera horsfieldi* Hope.، *Neocerambyx mandarinus* Gressitt.، *S. populnea* و *Apriona rugicollis* Chevrolat حساس‌تر بوده و میزان مرگ و میر آنها به ترتیب ۹٤٪، ۹۲٪، ۸۱٪ و ۷۸٪ بود (Fan *et al.*, 1988). همچنین، برای مبارزه با سوسک چوب‌خوار درختان کاج، *M. alternatus*، سم‌پاشی پاییزه‌ی زیر پوست درختان از سایر روش‌های مبارزه مؤثرتر بود (Shimazu, 1987). کاربرد این عامل بیمارگر علیه سوسک پوست‌خوار نارون در شرایط آزمایشگاهی باعث مرگ و میر ۱۰۰٪ لاروها شده (Houle *et al.*, 1987) و خاصیت آنتاگونیستی روی قارچ عامل بیماری مرگ نارون داشته است (Gemma *et al.*, 1984). در سال‌های اخیر، جدایه‌هایی از *M. anisopliae* علیه آفت چوب‌خوار سوسک شاخک‌بلند آسیایی در شرایط صحرایی ارزیابی شد که سبب کاهش میزان تخم‌گذاری و طول عمر حشرات کامل گردید (Dubois *et al.*, 2004). علاوه بر این، در شرایط آزمایشگاهی روی لاروهای سوسک چوب‌خوار درختان بلادر مغربی، *P. ferruginus*، مرگ و میر قابل توجهی ایجاد کرد و عملکرد آن از سایر قارچ‌های بیمارگر بهتر بود (Ambethgar, 2003).

علی‌رغم اهمیت اقتصادی سوسک شاخک‌بلند سارتا، مطالعات اندکی در مورد استفاده از قارچ‌های بیمارگر در مبارزه با این حشره‌ی چوب‌خوار انجام شده است. بر اساس مشاهداتی که نگارندگان روی این حشره داشته‌اند، امکان آلودگی آفت در طبیعت به قارچ‌های بیمارگر

وجود داشته است. مطالعات انجام گرفته به همراه مشاهدات فوق انگیزه‌ای شد تا تحقیق حاضر به منظور بررسی تأثیر سه گونه از قارچ‌های بیمارگر حشرات روی این آفت انجام گیرد.

مواد و روش‌ها

تهیه و کشت قارچ‌های بیمارگر، حشره و گیاه میزبان

در تحقیق حاضر از سه قارچ بیمارگر استفاده شد: (۱) *M. anisopliae* که از سوسک سرخرطومی حنایی خرما، *Rhynchophorus ferrugineus* (Olivier)، از سراوان در استان سیستان و بلوچستان جداسازی شده بود و از مؤسسه‌ی تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور دریافت شد، (۲) *L. muscarium* که جدایه‌ی DAOM 198499 آن از موسسه‌ی تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور تهیه شد و (۳) *B. bassiana* که جدایه‌ی PTCC5197 آن از سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران تهیه گردید.

برای تکثیر قارچ‌ها از محیط کشت جامد (Potato Dextrose Agar) تولید شده توسط شرکت مرک آلمان و یا محیط کشت مایع حاوی عصاره‌ی سیب‌زمینی و دکستروز استفاده گردید. کنیدی‌های تولید شده روی محیط کشت جامد پس از دو هفته نگهداری در شرایط کنترل شده (دمای ۲ ± ۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۱۶ ساعت روشنایی) به کمک ۱۵ میلی‌لیتر آب مقطر استریل حاوی ۰/۰۳ درصد تریتون X-100 برداشت شد. بلاستوسپورها از محیط کشت مایع، پس از ۶ روز نگهداری روی دستگاه تکان‌دهنده با سرعت ۱۲۰ دور در دقیقه در دمای ۱ ± ۲۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، برداشت شده و با استفاده از پارچه‌ی ململ، میسلیوم‌های آن جدا شد. پس از شمارش کنیدی‌ها به کمک لام گلبول‌شمار و تهیه‌ی غلظت پایه‌ی 10^8 کنیدی در میلی‌لیتر، سایر غلظت‌ها به میزان 10^7، 10^6 و 10^5 از طریق رقیق‌سازی غلظت پایه تهیه گردید.

حشره‌ی میزبان شامل لارو سوسک شاخک‌بلند سارتا بود که از نظر سن و اندازه تقریباً یکسان بودند (طول بدن ۰/۲ ± ۵ سانتی‌متر و عرض کپسول سر ۰/۷–۰/۶ سانتی‌متر). لاروها از کانون‌های آلوده به آفت از روی درختان نارون در اصفهان جمع‌آوری شد. میزبان گیاهی آفت شامل گرده‌ی بینه‌های قطور به قطر حدود ۲۰–۱۵ سانتی‌متر و ارتفاع یک متر از درختان صنوبر (*Populus nigra*, Colone 56/32) پانزده ساله تهیه گردید.

بررسی اثر بیمارگری قارچ‌ها روی سوسک شاخک‌بلند سارتا

سوسپانسیون کنیدی از قارچ‌ها 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 ۰/۰۳ درصد) تهیه و استفاده شد. آزمایش با پنج تیمار و در سه تا چهار تکرار (هر تکرار شامل ۷–۵ لارو) و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. لاروها به مدت نیم دقیقه به روش غوطه‌ورسازی در معرض غلظت‌ها قرار گرفته و در دالان‌های لاروی قرار داده شدند. دالان‌ها به قطر ۱/۵ و عمق ۱۰ سانتی‌متر در تنه‌های درختان صنوبر تعبیه شده بود. برای ارزیابی میزان تلفات لاروی، ۱۵ روز بعد، گرده‌ی بینه‌ها قطعه‌قطعه شده و دالان‌های لاروی شکافته شد. برای جلوگیری از آسیب دیدن لاروها، گرده‌ی بینه‌ها با استفاده از اره‌ی دوار از محل‌هایی که لارو وجود نداشت بریده و به قطعات کوچک‌تر تبدیل می‌شدند. سپس لاروها مورد بازدید قرار گرفته و میزان مرگ و میر برای تمامی غلظت‌ها تعیین گردید. همچنین، مرگ و میر در شاهد با استفاده از فرمول آبوت روی تیمارها اعمال و تصحیح شد. اطلاعات به دست آمده با استفاده از برنامه‌ی پروبیت در برنامه‌ی SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و مقدار غلظت کشنده برای ۵۰٪ و ۹۰٪ (LC_{50} و LC_{90}) از جمعیت آفت محاسبه گردید. برای تجزیه‌ی واریانس، ابتدا داده‌ها از نظر نرمال بودن مورد آزمون قرار گرفته و قوس سینوس (Arc Sin) آن گروه از داده‌ها که توزیع آنها نرمال نبود، با استفاده از برنامه‌ی کالک (CALC) محاسبه شده و سپس تجزیه و تحلیل آماری شدند. میانگین‌ها به روش آزمون چنددامنه‌ای دانکن مقایسه گردید.

نتایج

قارچ بیمارگر *L. muscarium*

قبل از اینکه دالان‌های لاروی شکافته شوند تا از مرده یا زنده بودن لارو اطمینان حاصل شود، آثار تغذیه و فعالیت لارو در تیمارها که با ریختن خاک اره به بیرون همراه بود، به طور محسوس نسبت به شاهد کمتر به نظر می‌رسید. نتایج حاصل از تجزیه‌ی واریانس داده‌ها نشان داد که اختلاف بین تیمارها و شاهد معنی‌دار است ($P = ۰/۰۰۰۶$؛ $F = ۱۲/۶۱$؛ $df = ۱۵, ٤$). بنابراین می‌توان گفت که به احتمال ۹۹/۹۹٪، قارچ بیمارگر *L. muscarium* باعث ایجاد مرگ و میر در لاروها شده است.

جدول ۱ مقایسه‌ی میانگین مرگ و میر ایجاد شده در لاروهای سوسک شاخک‌بلند سارتا، در اثر غلظت‌های مختلف قارچ بیمارگر *L. muscarium* را نشان می‌دهد. پانزده روز بعد از آلوده‌سازی لاروها با غلظت‌های قارچ شامل $۱۰^{۵}$، $۱۰^{۶}$، $۱۰^{۷}$ و $۱۰^{۸}$ اسپور در میلی‌لیتر، به ترتیب به میزان ۳۸/۵، ٤۹/۵، ٦۰/۵ و ۷۱/۵ درصد مرگ و میر ایجاد شد؛ درحالی که در شاهد هیچ‌گونه مرگ و میری مشاهده نگردید. با افزایش غلظت، میزان مرگ و میر نیز افزایش پیدا کرد، به طوری‌که دو غلظت $۱۰^{۷}$ و $۱۰^{۸}$ مرگ و میر بیشتری ایجاد نمود (جدول ۱). غلظت کشنده برای ۵۰٪ و ۹۰٪ از جمعیت لارو آفت در اثر قارچ *L. muscarium* محاسبه گردید که به ترتیب $۱۰^{٦} \times ۸/۵۳$ و $۱۰^{۱۰} \times ۳/٦۵$ اسپور در میلی‌لیتر بود (جدول ۲).

جدول ۱. مقایسه‌ی میانگین مرگ و میر ایجاد شده روی لاروهای *A. sarta* در اثر غلظت‌های مختلف قارچ *L. muscarium*.

Table 1. Mean comparison of the mortality of *A. sarta* larvae exposed to different concentrations of *L. muscarium.*

Concentrations (spore/ml)	Mean of mortality	Grouping
1×10^8	71.5	A
1×10^7	60.5	AB
1×10^6	49.5	BC
1×10^5	38.5	C
Control	0	D

Means with different letters in each column are significantly different at 5% (Duncan test)

جدول ۲. مقدار LC_{50} و LC_{90} برای قارچ *L. muscarium* روی لارو *A. sarta*.

Table 2. LC_{50} and LC_{90} for *L. muscarium* on *A. sarta* larvae.

	Concentrations (spore/ml)	95% fiducial limits [a]	Intercept ± SE	Chi square	P
LC_{50}	8.53×10^6	1.15×10^9 - 9.36×10^5	-2.4 ± 0.92	6.99	0.008
LC_{90}	3.65×10^{10}	2.12×10^{24} - 5.02×10^8	-2.4 ± 0.92	6.99	0.008

[a] Lower - Upper; SE = Standard Error

قارچ بیمارگر *B. bassiana*

تجزیه‌ی واریانس داده‌ها نشان داد که اختلاف بین تیمارها و شاهد معنی‌دار است (P = ۰/۰۰۰۱؛ F = ۱٦/۸۸؛ df = ۱۵, ٤). بنابراین می‌توان گفت که به احتمال ۹۹/۹۹٪ قارچ

B. bassiana باعث ایجاد مرگ و میر در لاروها شده است. جدول ۳ نتایج حاصل از مقایسه‌ی میانگین‌های مرگ و میر ایجاد شده در لاروهای سوسک شاخک‌بلند سارتا، پانزده روز بعد از تماس با غلظت‌های مختلف قارچ بیمارگر *B. bassiana* را به روش دانکن در سطح پنج درصد نشان می‌دهد. استفاده از قارچ بیمارگر با غلظت $۱۰^{۸}$ اسپور در میلی‌لیتر بالاترین میزان مرگ و میر را ایجاد کرد و در شاهد هیچ‌گونه مرگ و میری مشاهده نگردید. غلظت کشنده برای ۵۰٪ و ۹۰٪ از جمعیت لاروها در اثر قارچ *B. bassiana* محاسبه گردید که به ترتیب $۱۰^{۷} \times ۳/۶۵$ و $۱۰^{۱۱} \times ۱/۰۶$ اسپور در میلی‌لیتر بود (جدول ٤).

جدول ۳. مقایسه‌ی میانگین مرگ و میر ایجاد شده روی لاروهای *A. sarta* در اثر غلظت‌های مختلف قارچ *B. bassiana*.

Table 3. Mean comparison of the mortality of *A. sarta* larvae exposed to different concentrations of *B. bassiana*.

Concentrations (spore/ml)	Mean of mortality	Grouping
1×10^8	55.55	A
1×10^7	44.44	A
1×10^6	22.22	B
1×10^5	16.16	B
Control	0	C

Means with different letters in each column are significantly different at 5% (Duncan test)

جدول ٤. مقدار LC_{50} و LC_{90} برای قارچ *B. bassiana* روی لارو *A. sarta*.

Table 4. LC_{50} and LC_{90} for *B. bassiana* on *A. sarta* larvae.

	Concentrations (spore/ml)	95% fiducial limits [a]	Intercept ± SE	Chi square	P
LC_{50}	3.65×10^7	4.28×10^9 - 1.14×10^5	-4.79 ± 2.07	5.36	0.02
LC_{90}	1.06×10^{11}	1.7×10^{26} - 1.62×10^9	-4.79 ± 2.07	5.36	0.02

[a] Lower - Upper; SE = Standard Error

قارچ بیمارگر *M. anisopliae*

نتایج حاصل از تجزیه‌ی واریانس داده‌ها مشخص نمود که اختلاف معنی‌داری بین تیمارها و شاهد وجود دارد (P = ۰/۰۰۰۱؛ F = ۲۲/۳٤؛ df = ۱۹, ٤). بنابراین به احتمال ۹۹/۹۹٪ قارچ *M. anisopliae* عامل ایجاد مرگ و میر در لاروها بوده است. مقایسه‌ی میانگین

مرگ و میر ایجاد شده توسط غلظت‌های مختلف قارچ *M. anisopliae* روی لاروهای سوسک شاخک‌بلند سارتا، پانزده روز بعد از آلودگی، نشان داد که غلظت‌های $۱۰^{۷}$ و $۱۰^{۸}$ بیشترین درصد مرگ و میر را ایجاد کرده و در یک گروه قرار می‌گیرند؛ در حالی که سایر غلظت‌ها در گروه دوم و سوم قرار گرفتند (جدول ۵). غلظت لازم برای ایجاد ۵۰ درصد و ۹۰ درصد مرگ و میر در جمعیت لاروها توسط قارچ *M. anisopliae* روی لاروها محاسبه گردید که به ترتیب $۱۰^{٤} \times ۸/۷$ و $۱۰^{۹} \times ۸/۸$ اسپور در میلی‌لیتر بود (جدول ٦).

جدول ۵. مقایسه‌ی میانگین مرگ و میر ایجاد شده روی لاروهای *A. sarta* در اثر غلظت‌های مختلف قارچ *M. anisoplia*.

Table 5. Mean comparison of the mortality of *A. sarta* larvae exposed to different concentrations of *M. anisoplia*.

Concentrations (spore/ml)	Mean of mortality	Grouping
1×10^8	78.90	A
1×10^7	71.18	A
1×10^6	62.03	AB
1×10^5	54.35	B
Control	0	C

Means with different letters in each column are significantly different at 5% (Duncan test)

جدول ٦. مقدار LC_{50} و LC_{90} برای قارچ *M. anisopliae* روی لارو *A. sarta*.

Table 6. LC_{50} and LC_{90} for *M. anisopliae* on *A. sarta* larvae.

	Concentrations (spore/ml)	95% fiducial limits [a]	Intercept ± SE	Chi square	P
LC_{50}	8.7×10^4	1.1×10^6 - 7.5×10^{-9}	-2.17 ± 1.3	2.608	0.01
LC_{90}	8.8×10^9	1.7×10^{39} - 1.8×10^8	-2.17 ± 1.3	2.608	0.01

[a] Lower - Upper; SE = Standard Error

اثر توأم قارچ و غلظت روی مرگ و میر لارو سوسک شاخک‌بلند سارتا

برای تعیین اثر توأم قارچ و غلظت‌های مختلف در میزان مرگ و میر لارو *A. sarta*، تجزیه‌ی واریانس در قالب آزمایش فاکتوریل انجام شد. نتاج نشان داد که اثر غلظت (P = ۰/۰۰۰۱؛ F = ۲٤/٤۸ ؛df = ٤۹, ٤) و گونه‌ی قارچ (P = ۰/۰۰۰۱؛ F = ۱۳۱/٦ ؛df = ٤۹, ۲) هر دو معنی‌دار می‌باشند.

میانگین تلفات ایجاده شده توسط قارچ‌های مورد نظر با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن مورد مقایسه قرار گرفت. در بین تمام قارچ‌های بیمارگر استفاده شده، قارچ *M. anisopliae* بالاترین میزان مرگ و میر را ایجاد کرد. قارچ *L. muscarium* در مرتبه‌ی دوم (سطح B) و قارچ *B. bassiana* در مرتبه‌ی سوم (سطح C) قرار گرفت (جدول‌های ۷ و ۸).

جدول ۷. مقایسه‌ی میانگین مرگ و میر ایجاد شده روی لاروهای *A. sarta* در اثر قارچ‌های بیمارگر.

Table 7. Mean comparison of the mortality of *A. sarta* larvae treated with different fungal entomopathogens.

Fungal entomopathogen	Mean of mortality	Grouping
M. anisopliae	50.99	A
L. muscarium	43.82	B
B. bassiana	30.41	C

Means with different letters in each column are significantly different at 5% (Duncan test)

جدول ۸. مقایسه‌ی میانگین مرگ و میر ایجاد شده روی لاروهای *A. sarta*، پانزده روز بعد از تماس با غلظت‌های مختلف قارچ‌های بیمارگر.

Table 8. Mean comparison of the mortality of *A. sarta* larvae, 15 days after treating with the different concentrations of fungal entomopathogens.

Concentrations (spore/ml)	Mean of mortality	Grouping
Control	0	D
1×10^5	37.776	C
1×10^6	42.650	C
1×10^7	51.166	C
1×10^8	57.183	AB

Means with different letters in each column are significantly different at 5% (Duncan test)

همچنین مقایسه‌ی میانگین‌های مربوط به عامل غلظت به روش دانکن نشان داد که تیمار $۱۰^۸$ اسپور در میلی‌لیتر با ۵۷ درصد بیشترین (سطح A) و تیمار $۱۰^۵$ اسپور در میلی‌لیتر با ۳۸ درصد کمترین میزان تلفات (سطح C) را در لاروهای تیمار شده ایجاد نمود. علاوه بر این نتایج حاصل از این آزمون، افزایش تلفات را متناسب با افزایش غلظت در سطح ۵ درصد نشان

داد. تلفات بیشتر از ۵۰ درصد در طول مدت آزمایش (۱۵ روز) فقط در غلظت‌های $۱۰^{۷}$ و $۱۰^{۸}$ اسپور در میلی‌لیتر مشاهده گردید.

مقایسه‌ی میانگین‌ها برای تعیین اثر متقابل دو عامل فوق نشان داد که تیمار $۱۰^{۸}$ اسپور در میلی‌لیتر قارچ *M. anisopliae* با ۷۸/۹ بیشترین (سطح A) و تیمار $۱۰^{۵}$ اسپور در میلی‌لیتر قارچ *B. bassiana* با ۱۶/۶۶ درصد کمترین میزان تلفات (سطح H) را در لاروهای تیمار شده ایجاد نمود (جدول ۹).

جدول۹. مقایسه‌ی میانگین مرگ و میر ایجاد شده روی لاروهای *A. sarta* در اثر غلظت‌های متفاوت سه قارچ بیمارگر.

Table 9. Mean comparison of the mortality of *A. sarta* larvae treated with the different concentrations of three fungal entomopathogens.

Fungi	Concentrations (spore/ml)	Mean of mortality	Grouping
	Control	0	H
	1×10^5	16.16	H
B. bassiana	1×10^6	22.22	GH
	1×10^7	44.44	DEF
	1×10^8	55.55	BCDEF
	Control	0	H
	1×10^5	54.35	BCDEF
M. anisopliae	1×10^6	62.03	ABCDE
	1×10^7	71.18	ABC
	1×10^8	78.90	AB
	Control	0	H
	1×10^5	38.5	FG
L. muscarium	1×10^6	49.5	CDEF
	1×10^7	60.5	BCDEF
	1×10^8	71.5	ABC

Means with different letters are significantly different at 5% (Duncan test)

بحث

قارچ *L. muscarium* دارای دامنه‌ی میزبانی وسیعی بوده و مطالعات گسترده‌ای درباره‌ی جنبه‌های مختلف آن انجام شده ولی تاکنون بیماری‌زایی آن روی سوسک شاخک‌بلند سارتا مطالعه نشده بود. نتایج حاصل در خصوص بیماری‌زایی و میزان حساسیت لاروهای سوسک شاخک‌بلند سارتا نسبت به قارچ بیمارگر *L. muscarium* نشان داد که این قارچ در لاروها ایجاد

بیماری نموده و بر اساس غلظت‌های کشنده‌ی ۵۰٪ و ۹۰٪ می‌توان چنین استنباط کرد که میزان حساسیت لاروها نسبت به این عامل بیمارگر بالا می‌باشد. بنابراین، می‌توان چنین نتیجه‌گیری نمود که سوسک شاخک‌بلند سارتا میزبان جدیدی برای قارچ *L. muscarium* بوده و می‌توان از این قارچ در برنامه‌ی کنترل این آفت استفاده نمود.

مانند بسیاری دیگر از قارچ‌های بیمارگر، *B. bassiana* علیه برخی دیگر از سوسک‌های شاخک‌بلند مورد ارزیابی قرار گرفته و در آنها مرگ و میر ایجاد نموده است. برخی از نتایج حاکی از ایجاد تلفات شدید قارچ روی این حشرات بوده است. تنها تحقیق انجام گرفته روی سوسک شاخک‌بلند سارتا توسط Arshad & Hafiz (1983) انجام گرفته است. نتایج به دست آمده از این مطالعه‌ی آزمایشگاهی نشان داد که قارچ بیمارگر *B. bassiana* باعث ایجاد ۹۴/۳٪ مرگ و میر در حشرات کامل شده و تحریک‌پذیری این حشره در اثر تماس با قارچ نیز افزایش نیافته است. در مطالعه‌ی حاضر، مرگ و میر لاروهای این حشره‌ی چوب‌خوار حداکثر به ۵۵/۵۵٪ رسید که با نتایج به دست آمده از مطالعات انجام شده توسط Arshad & Hafiz (1983) متفاوت بوده و میزان مرگ و میر کمتر اتفاق افتاده است. این تفاوت ممکن است به دلیل متفاوت بودن جدایه‌های به کار رفته در این دو مطالعه باشد. در قارچ‌های بیمارگر، جدایه‌های مختلف، اثر بیمارگری متفاوت دارند. همچنین سایر شرایط آزمایش و نژاد میزبان نیز در بروز این تفاوت‌ها دخالت دارد. یکی دیگر از دلایل وجود اختلاف در نتایج، ممکن است به دلیل متفاوت بودن مراحل زندگی حشرات تیمار شده در این دو آزمایش باشد. ارزیابی آزمایشگاهی در مطالعه‌ی انجام شده بوسیله‌ی Arshad & Hafiz (1983) روی حشرات کامل بوده، در حالی که در مطالعه‌ی حاضر از لاروهای *A. sarta* استفاده شده است. به هر حال این قارچ در لاروهای سوسک شاخک‌بلند سارتا مرگ و میر قابل توجهی ایجاد نموده و نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر با نتایج به دست آمده از کاربرد این قارچ بیمارگر علیه سایر آفات چوب‌خوار متعلق به خانواده‌ی Cerambycidae تقریباً مطابقت دارد. در نتیجه این قارچ می‌تواند به عنوان یک عامل بیمارگر سوسک شاخک‌بلند سارتا و برخی دیگر از سوسک‌های شاخک‌بلند مطرح باشد.

قارچ بیمارگر *M. anisopliae* به عنوان یک عامل کنترل بیولوژیک علیه آفات چوب‌خوار و به ویژه سوسک‌های شاخک‌بلند مطرح می‌باشد و مطالعات زیادی درباره‌ی ارزیابی

آزمایشگاهی و صحرایی آن انجام شده که به برخی از آنها در بالا اشاره شد. نتایج به دست آمده از مطالعات فوق با نتایج حاصل از تحقیق حاضر تقریباً مطابقت داشته و این قارچ در شرایط آزمایشگاهی در لاروهای سوسک شاخک‌بلند سارتا مرگ و میر بالایی (تا ۷۹٪) ایجاد نمود. به نظر می‌رسد که این قارچ بیمارگر می‌تواند در مدیریت کنترل *A. sarta* مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

نگارندگان از همکاران بخش‌های مختلف مؤسسه‌ی تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، مسئولین محترم سازمان پارک‌ها و فضای سبز شهرداری تهران و اصفهان به خاطر همکاری خوب و بی‌دریغ‌شان صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

Alam, M. Z. (1962) *Insecta and non-insect pests of fruits and fruit trees in East Pakistan and their control*. 115 pp. Department of Agriculture, East Pakistan, Decca.

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.

Ambethgar, V., Lakshmanan, V., Dinakaran, D. & 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.

Arshad, M. & Hafiz, I. A. (1983) Microbial trials of a pathogenic fungus, *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. against the adults of *Aeolesthes sarta* Solsky (Coleoptera: Cerambycidae). *Pakistan Journal of Zoology* 15(2), 213-215.

Barson, G. (1976) Laboratory studies on the fungus *Verticillium lecanii* a larval pathogen of the Elm Bark Beetle. *Annals of Applied Biology* 83, 207-214.

Campadelli, G. & Sama, G. (1993) *Arhopalus syriacus* Reitter (Coleoptera, Cerambycidae). *Informatore Fitopatologico* 43(8), 35-37.

Dubois, T., Hajek, A. E., Jiafu, H. & 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. & Hu, Y. (1988) Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* and its use in forest pest control. *Chinese Journal of Biological Control* 4(1), 29-32.

Farashiani, M. E. (2005) Integrated control management of Sart longhorn beetle, *Aeolesthes sarta* (Col.: Cerambycidae). Final report, Research Institute of Forest and Rangeland, Tehran, 76 pp. [In Persian].

Forschler, B. T. & Nordin, G. L. (1989) Impact of *Beauveria bassiana* on the cottonwood borer *Plectrodera scalator* (Coleoptera: Cerambycidae), in a commercial cottonwood nursery. *Journal of Entomological Science* 24(2), 186-190.

Gemma, J. N., Hartmann, G. C. & Wasti, S. S. (1984) Inhibitory interactions between *Ceratocystis ulmi* and several species of entomogenous fungi. *Mycologia* 76(2), 256-260.

Gersun, M. S. & Kim, N. G. (1966) Control of *Aeolesthes sarta* larvae. *Bjulleten Glavnogo Botaniceskogo Sada, Moskva* 62, 86-88.

Houle, C., Hartmann, G. C. & Wasti, S. S. (1987) Infectivity of eight species of entomogenous fungi to the larvae of the elm bark beetle, *Scolytus multistriatus* (Marsham). *Journal of the New York Entomological Society* 95(1), 14-18.

Huang, J. S. (1995) Study on the occurrence and integrated management of *Euzophera batangensis*. *Scientia Silvae Sinicae* 31(5), 421-427.

Huang, J. S., He, Y. L. & Lin, Q. Y. (1990) Use of a new paste preparation of *Beauveria bassiana* in the forest to control *Zeuzera multistrigata* (Lep.: Cossidae). *Chinese Journal of Biological Control* 6(3), 121-123.

Kashio, T. & Grey, G. (1996) Microbial control of the white spotted longicorn beetle, *Anoplophora malasiaca*, by the entomogenous fungus, *Beauveria brongniartii* in citrus orchards in Japan; biological pest control in systems of integrated pest management. *Proceedings of the International Symposium on "The use of Biological Control Agents under Integrated Pest Management*", 106-112.

Lai, Y. X., Liu, J. D., Xu, Q. Y., Wang, Y. H. & Zhou, C. M. (2003) Trials on the parasitism of *Beauveria bassiana* or *Verticillium lecanii* on larvae of *Monochamus alternatus* Hope. *Journal of Jiangsu Forestry Science and Technology* 30(4), 7-9.

Li, G. W., Shao, G. Y. & Yu, B. N. (1986) A preliminary observation on *Monochamus alternatus* Hope. *Insect Knowledge* 23(4), 169-170.

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.

Maehara, N. & Futai, K. (1997) Effect of fungal interactions on the numbers of the pinewood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* (Nematoda: Aphelenchoididae), carried by the Japanese pine sawyer, *Monochamus alternatus* (Coleoptera: Cerambycidae). *Fundamental and Applied Nematology* 20(6), 611-617.

Marletto, O. O. & Menardo, R. (1984) Micromycetes isolated from *Corythucha ciliata* Say. *Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria 'Filippo Silvestri'* 41, 183-187.

Marshall, R. K., Lester, M. T., Glare, T. R. & Christeller, J. T. (2003) The fungus, *Lecanicillium muscarium*, is an entomopathogen of passionvine hopper (*Scolypopa australis*). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 31(1), 1- 7.

Ogawa, S. (1988) Biological and physical control of the pine wilt disease. *Bulletin of the Fukuoka ken Forest Experiment Station* 35, 56-73.

Sheikh, A. G. (1979) Insect and non-insect pests of nut fruits in Kashmir and their control. *Proceedings of the First Symposium on Possible Improvements in Temperate Fruit Culture in Jammu and Kashmir State, Srinagar*, 59-77.

Sheikh, A. G. (1985) Insect pest of temperate fruits and their management. *Proceedings of National Workshop-cum-seminar on temperate fruits, Skuast, Malangpora, Kashmir*, 95-98.

Sheikh, A. G. & Bhat, A. A. (1991) Management of stem borer, *Aeolesthes sarta* (Solsky), infesting walnut trees in Kashmir. *Indian Journal of Forestry* 14(2), 138-141.

Shimazu, M. (1987) Microbial control of the pine sawyer, *Monochamus alternatus*. *Extension Bulletin ASPAC Food and Fertilizer Technology Center for the Asian and Pacific Region, Taiwan* 257, 36-37.

Shimazu, M., Kushida, T., Tsuchiya, D. & Mitsuhashi, W. (1992) Microbial control of *Monochamus alternatus* Hope. (Coleoptera: Cerambycidae) by implanting wheat bran pellets with *Beauveria bassiana* in infested tree trunks. *Journal of the Japanese Forestry Society* 74(4), 325-330.

Shimazu, M., Mitsuhashi, W., Hashimoto, H. & 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.

Shimazu, M., Sato, H. & Maehara, N. (1997) Microbial control of *Monochamus alternatus* using *Beauveria bassiana*. *Proceedings of International Symposium on Sustainability of Pine Forests in Relation to Pine Wilt and Decline, Tokyo*, 200-204.

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.

Tsutsumi, T., Sakaguchi, N., Totogawa, S. & Yamanaka, M. (1998) Pathogenicity of entomogenous fungus, cerambycid parasitic type of *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch, isolated from yellow spotted longicorn beetle, *Psacothea hilaris* (Pascoe), to adult honeybee, *Apis mellifera* (L.), carabid beetles, *Apotomopterus japonicus* Motschulsky and *Apotomopterus dehaani* Chaudior. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology* 42(3), 163-165.

Tsutsumi, T. & Yamanaka, M. (1996) Effects of nonwoven fabric sheet containing entomogenous fungus, *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch. GSES, on adult yellow spotted longicorn beetle, *Psacothea hilaris* (Pascoe) (Coleoptera: Cerambycidae) on fig trees. *Japanese Journal of Applied Entomology and Zoology* 40(2), 145-151.

Vetrova, V. P., Matrenina, R. M., Polyakova, G. G. & Pashenova, N. V. (1995a) Metabolites of the wood staining pathogenic micromycetes as inducers of conifer defence responses. *Mikologiyai Fitopatologiya* 29(2), 33-38.

Vetrova, V. P., Polyakova, G. G., Pashenova, N. V. & Osipov, V. I. (1995b) Protective reaction to infection an indicator of the resistance of *Abies sibirica* to *Monochamus urussovi* and micromycetes associated with it. *Lesovedenie* 6, 34-42.

Zhang, B., Shimaza, M., Jiro, I. & Bai, Y. (1999) Microbial control of *Anoplophora glabripennis* adults by application of non woven fabric strips with *Beauveria bassiana* and *B. brongniartii*. *Journal of Northwest Forestry College* 14(1), 68 -72.

Zhang, X. H., He, Y. C., Wang, J. M., Zhang, Z. G. & Li, W. Y. (2001) A preliminary study on pathogenicity to *Verticillium lecanii* (Zimn) Viegas to insect pests. *Plant Protection* 27(1), 44-46.