

بررسی اثر فرمولاسیون‌های قارچ *Beauveria bassiana* با روغن‌های گیاهی مختلف و ترکیب شیمیایی آن‌ها بر قدرت کشندگی آن در جمعیت شپشه داندانه دار *Oryzaephilus surinamensis* در شرایط تغذیه از خرما

مسعود لطیفیان

عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات خرما و میوه‌های گرمسیری کشور

تاریخ دریافت: ۹۰/۲/۵

تاریخ پذیرش: ۹۱/۲/۱۲

چکیده

جهت تکمیل برنامه کنترل میکروبی شپشه داندانه دار، *Oryzaephilus surinamensis* L. در مدیریت تلفیقی آفات انباری خرما، تعیین فرمولاسیون مناسب قارچ *Beauveria bassiana* Balsamo با استفاده از روغن‌های گیاهی ضروری بود. با توجه به این موضوع ۹ روغن گیاهی تصفیه شده خوراکی تجاری شامل روغن کلزا، سویا، کنجد، ذرت، نارگیل، هسته انگور، زیتون، آفتابگردان و بادام تهیه و جهت فرمولاسیون قارچ مزبور مورد آزمایش قرار گرفتند. براساس نتایج این پژوهش روغن گیاهی کنجد برای فرمولاسیون قارچ پیشنهاد شد زیرا در میان فرمولاسیون‌های روغنی مورد آزمایش، کمترین LC_{50} مربوط به قارچ *B. bassiana* جدایه C ۴۴۱ فرموله شده با روغن کنجد روی حشرات کامل معادل $1/491 \times 10^4$ اسپور در میلی لیتر بود. فرمولاسیون قارچ با روغن گیاهی کنجد باعث کاهش طول دوره وقوع درصدهای مختلف تلفات نسبت به شاهد شد. در میان روغن‌های گیاهی، روغن کنجد و روغن بادام به ترتیب دارای بیشترین اثر سینرژیستی و آنتاگونیستی در خواص زهرآگینی قارچ بوده‌اند. در میان اسید چرب‌های چرب موجود در روغن‌های گیاهی اسیدهای چرب مارگاریک و اوراسیک دارای اثر افزایشی و اسیدهای چرب پالمولیتیک و لینولئیک دارای اثر کاهش‌دهنده در قدرت کشندگی قارچ *B. bassiana* بوده‌اند.

کلید واژه‌ها: *Beauveria bassiana*، *Oryzaephilus surinamensis*، فرمولاسیون، خرما

مقدمه

آلودگی به آفات یکی از مشکلات اساسی تولید و نگهداری خرما می‌باشد (مهاجری، ۱۳۷۳ و لطیفیان، ۱۳۸۲). شپشه داندانه دار (*Oryzaephilus surinamensis* L.) از آفات مهم انباری در جهان است که نه تنها به خرما بلکه به سایر محصولات کشاورزی نیز خسارت وارد می‌سازد (باقری زنوز، ۱۳۷۵، ۱۳۷۳ و لطیفیان، ۱۳۸۲ و تادانا و کایا، ۱۹۹۳).

مطالعات نشان می‌دهد که در استان خوزستان تنها ۸ درصد خرما از نوع درجه ۱ و ۹۲ درصد باقیمانده از نوع درجه ۲ و ۳ می‌باشد. برای خرما درجه ۱ استفاده از

روش‌های گران‌تر نظیر انواع روش‌های بسته بندی، تیمارهای حرارتی، روش‌های اتمسفری و تلفیق آن‌ها قابل پیشنهاد می‌شود. در حالی که برای خرماهای درجه ۲ و ۳ روش‌های ارزان‌تری نظیر سموم میکروبی، گازدهی با سموم شیمیایی مجاز و یا تلفیق آن‌ها به عنوان جایگزین متیل بروماید مناسب می‌باشند (لطیفیان، ۱۳۸۲). در میان عوامل کنترل بیولوژیک، میکروارگانیسم‌ها بیشترین کاربرد را در کنترل آفات انباری دارند (مور و کائودل، ۲۰۰۰؛ استینهاوس، ۱۹۶۷).

توسعه حشره کش‌های قارچی بستگی به انتخاب سویه بیمارگر، تولید انبوه و کافی و فرمولاسیون‌های

۶/۶۸ روز بود. به طور کلی نتایج تحقیقات در فاز آزمایشگاهی که قدم نخست در امکان سنجی کاربرد این قارچ در کنترل میکروبی سوسک شپشه دنداندار خرما می باشد، نشان داد که قارچ عامل بیماریزا از دیدگاه همه گیرشناسی از پتانسیل کاربرد بالایی برخوردار است (لطیفیان، ۱۳۸۷).

هدف از اجرای این پژوهش فرمولاسیون مناسب قارچ *B. bassiana* با استفاده از روغن های گیاهی در ادامه برنامه کنترل میکروبی شپشه دنداندار خرما بوده است.

مواد و روش ها

پرورش شپشه دنداندار

مراحل مختلف رشدی شپشه دنداندار با نمونه برداری از خرماهای آلوده از انبارهای خرما استان خوزستان جمع آوری و به آزمایشگاه حشره شناسی مؤسسه تحقیقات خرما و میوه های گرمسیری کشور انتقال داده شدند. پرورش آفت در دمای 27 ± 5 درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی 60 ± 5 درصد درون اتاقک رشد و درون ظروف پلاستیکی درب دار به ابعاد $8/5 \times 7/5$ سانتی متر که در قسمت درب آن ها سوراخی جهت تهویه در نظر گرفته شده بود، بر روی خرما رقم سایر انجام گرفت. روی سوراخ با پارچه توری که امکان عبور حشره از آن وجود نداشت، پوشیده شده بود. برای اطمینان از اثرات ارقام بر قدرت زیستی آفت عملیات پرورش تا نسل دهم ادامه یافت.

کشت جدایه های قارچی

جدایه IRAN441C در این تحقیق از طریق موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور تهیه گردید (لطیفیان، ۱۳۸۷). پس از آلوده نمودن حشرات کامل به اسپورهای جدایه نسبت به آلوده سازی متوالی و مکرر حشره میزبان به دفعات ۱۰ بار اقدام شد. برای این منظور آن ها را به مدت ۲۰ ثانیه درون سوسپانسیون اسپور فرو برده می شدند (توماس و همکاران^۲، ۱۹۸۷).

متناسب با شرایط آب و هوایی منطقه دارد (بات و گوتل^۱، ۲۰۰۲). مهمترین عوامل محدود کننده کاربرد این قارچ ها به عنوان یک حشره کش اشعه ماوراء بنفش خورشید، دما، رطوبت محیط و پخش شدن در سطح می باشد (استینهاوس، ۱۹۶۷). مواد موجود در فرمولاسیون ها به ماندگاری بیشتر قارچ در سطح و تماس آن با آفت کمک شایانی می نمایند. به کارگیری فرمولاسیون های روغنی نسبت به فرمولاسیون های آبی مزیت های فراوانی دارد. برای مثال فرمولاسیون های روغنی بوسیله سم پاش های با حجم کم پاشیده می شوند و لذا کمترین ماده مؤثره را علیه آفت هدف می توان بکاربرد. همچنین اسپورهای قارچ را در برابر استرس های دمایی محیط حفظ نموده و چسبندگی و گسترش آن ها را روی سطح آب گریز گیاه و کوتیکول حشرات افزایش می دهند (بات و گوتل، ۲۰۰۲). روغن هایی که در فرمولاسیون قارچ ها به کار می روند شامل دو نوع معدنی و گیاهی می باشند. از مزایای روغن های گیاهی این است که اولاً در وسایل محلول پاشی خوردگی بوجود نمی آورند، ثانیاً نسبتاً ارزان تر از سایر روغن ها بوده و معمولاً راحت تر از روغن های معدنی در دسترس هستند (باقری زنوز، ۱۳۷۵). تحقیقات قبلی نگارنده نشان داده است که جدایه ایرانی قارچ *B. bassiana* بنام IRAN441C کارایی مناسبی برای کاربرد در کنترل میکروبی سوسک شپشه دنداندار به عنوان مهمترین آفت انباری خرماهای خشک دارد (لطیفیان، ۱۳۸۷). به منظور بررسی کارایی جدایه انتخابی قارچ در کنترل میکروبی شپشه دنداندار مطالعات در ۳ محور اثرات عامل بیماریزا، میزبان و محیط در قالب روش مطالعه مثلث همه گیرشناسی پیگیری گردید. نتایج نشان داد که کم ترین و بیش ترین LC₅₀ مربوط به حشره کامل به ترتیب روی رقم زاهدی و دیری و معادل $2/46 \times 10^4$ و $2/69 \times 10^4$ اسپور در میلی لیتر بود. پایین ترین LT₅₀ برای حشره کامل پرورش یافته بر روی رقم سایر و معادل

۰/۱ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال و ۵ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه نموده و با شیکر خوب هم زده شد. ۵ میلی لیتر هگزان به آن افزوده و دوباره با شیکر مخلوط گردید. پس از تشکیل دو فاز، فاز روئی در لوله آزمایش دیگری ریخته شد و در لوله آزمایش اول ۵ میلی لیتر هگزان ریخته و دوباره فاز رویی به لوله آزمایش دوم منتقل شد. هگزان در بن ماری ۷۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. تا نصف حجم آن تبخیر شد. سپس ماده به دست آمده توسط GC/Mass (Hp6890/HpS973) آنالیز و از روی پیک‌های ترسیم شده توسط دستگاه ترکیب اسیدهای چرب شناسایی گردید. دمای تزریق در ستون (Hp-5Ms, 30m * 0.25 mm)، ۲۵۰ درجه سانتی گراد و گاز حامل ۹۹.۹۹۹% He، نحوه تزریق ۱ ml/min و El=70ev در دستگاه Mass بود. دما از ۱۰۰ درجه سانتی گراد شروع و تا ۲۵۰ درجه سانتی گراد رسید و در هر دقیقه دما ۱۰ درجه سانتی گراد افزایش یافت و آزمایش هر نمونه ۱۵ دقیقه طول کشید.

فرمولاسیون قارچ در روغن های گیاهی

فرمولاسیون قارچ با هر روغن گیاهی با افزودن مقدار حجمی روغن به حجم مورد نظر برای رسیدن به غلظت دلخواه انجام شد.

زیست سنجی قارچ در شرایط فرمولاسیون با روغن های گیاهی مختلف

برای این منظور از ۹ روغن گیاهی مورد آزمایش پنج مقدار لگاریتمی شامل مقادیر 10^4 ، 5×10^3 ، 10^4 و 5×10^4 و 5×10^5 اسپور در میلی لیتر تهیه و آزمون های حیاتی با آن ها انجام شد. زیست سنجی ها با حشرات کامل پرورش یافته بر روی خرما در شرایط آزمایشگاهی انجام گردید. برای هر تکرار ۲۰ عدد از مرحله رشدی حشره کامل استفاده شد. آزمایش ها در ۶ تیمار (دژهای مختلف و شاهد) و ۳ تکرار انجام گرفت. برای آلوده سازی حشرات کامل تعداد ۲۰ عدد از آن ها را به مدت ۲۰ ثانیه درون سوسپانسیون اسپوردر فرمولاسیون روغن گیاهی

پس از خالص سازی به روش تک اسپور، جدایه قارچی مورد نظر در محیط غذایی SDAY^۱ کشت گردید. بعد از اسپورزایی کامل (کشت ۱۲-۱۴ روزه) سطح محیط کشت به وسیله سوزن انتقال خراش داده شد. اسپورها در داخل ارلن های جداگانه ای که حاوی ۱۰ سی سی آب مقطر استریل با محلول ۰/۰۵ درصد توئین^۲ ۸۰ بود، جمع آوری گردیدند (توماس و همکاران، ۱۹۸۷). سوسپانسیون فوق به منظور پراکنده شدن یکنواخت اسپورها در داخل آن به مدت ۵ دقیقه به طور پاندولی به هم زده شد. برای افزایش تولید اسپور از محیط کشت SDA+Y استفاده شد. این محیط کشت با دارا بودن شرایط اسیدی (PH=۵/۶) از رشد باکتری های ساپروفیت جلوگیری می نماید (توماس و همکاران، ۱۹۸۷).

در آزمایش های انجام شده نیاز به تهیه غلظت های متفاوتی از سوسپانسیون قارچ بود. برای رسیدن به یک غلظت مشخص چنانچه مقدار آن از غلظت سوسپانسیون پایه تهیه شده کمتر بود، از طریق رقیق سازی پی در پی و با استفاده از میکروپیت مدرج با دقت تشخیص ۱ میکرو لیتر انجام می شد. اما در صورت بالاتر بودن غلظت مورد نیاز از دستگاه سانتریفوژ با قدرت ۱۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه استفاده می گردید (توماس و همکاران^۳، ۱۹۸۷).

روغن های آزمایش شده

روغن های گیاهی تصفیه شده خوراکی تجاری که شامل روغن کلزا، سویا، کنجد، ذرت، نارگیل، هسته انگور، زیتون و بادام بود از بازار خریداری گردید.

تعیین ترکیب اسیدهای چرب

ابتدا روغن مورد نظر باید متیله می شد. برای این منظور لوله آزمایش دارای ۵ قطره روغن، یک میلی لیتر تولوئن و ۲ میلی لیتر سدیم متوکساید ۰/۵ نرمال به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری ۵۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت.

1 - Suberbed Dextrose Agar

2 - Toein

3 - Thomas *et al*

شد (لطیفیان، ۱۳۸۷). به منظور بررسی اثرات سینرژیستی از فرمول زیر استفاده شد. پارامترهای این فرمول مشابه روابط قبل تعریف می گردد.

$$V = \frac{C_r \cdot V_f}{C}$$

نتایج و بحث

مقایسه اسیدهای چرب موجود در روغن های گیاهی مورد آزمایش

نوع و مقدار اسیدهای چرب موجود در روغن های گیاهی متفاوت بوده و این تفاوت منجر به بروز خواص مختلفی برای آن ها می گردد. نتایج تجزیه واریانس میانگین فراوانی اسیدهای چرب در ۹ نوع روغن های گیاهی مورد بررسی در جدول ۱ درج گردیده است. همان طور که در جدول ۱ ملاحظه می گردد بین میانگین اسیدهای چرب موجود در نوع روغن گیاهی مورد بررسی از نظر مقدار تفاوت معنی داری وجود دارد.

با این که هیدروکربن های موجود در روغن خام و بعضی از اسیدهای چرب با زنجیره طولانی منبع کربن - انرژی خوبی برای تندش هاگ های قارچ هستند اما سایر ترکیبات موجود در روغن نیز بر سرعت رشد رویشی قارچ اثر می گذارند. مثلاً ترکیبات غیر صابونی منحصر به فرد سزامون، سزامین و سزامولین در روغن کنگد می توانند یکی از عوامل بازدارنده رشد رویشی قارچ باشد. روغن پنبه نیز با دارا بودن ماده گوسپیل^۶ می تواند برای قارچ ها مضر باشد (کانسولو و همکاران^۷، ۲۰۰۳). بر اساس نظریه آنتی اکسیدان ها و اکسیده شدن روغن ها باید از تماس روغن ها با نور، هوا، اکسیژن و دمای بالا ممانعت شود تا روغن پیوند محکم خود را حفظ نموده و از فعالیت مقدار ناچیز مس، آهن و اسیدهای چرب اکسید شده که مثل کاتالیزور عمل می کنند، جلوگیری گردد (مور و همکاران، ۲۰۰۴).

فرو برده شد و پس از خروج درون انکوباتور با مای ۱±۲۵ درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی ۵±۸۵ درصد و دوره روشنایی: تاریکی (۱۲: ۱۲) برای دو روز نگهداری شدند. برای روزهای بعد در رطوبت نسبی ۴۰ درصد و دوره روشنایی: تاریکی (۱۲: ۱۲) در قفس های مخصوص که کف آن ها برای تغذیه خرما قرار داده شده بود، قرار گرفتند و به داخل اتاقک رشد منتقل گردیدند. مرگ و میر حشرات هر روز و به مدت ۸ روز ثبت و جدول مرگ و میر تجمعی آن ها تهیه شد (لطیفیان، ۱۳۸۷).

اصل کلی در مدل های زیست سنجی بدین صورت است که ارتباط رگرسیونی بین لگاریتم غلظت در مقابل پروبیت درصد مرگ و میر محاسبه شود. درصد مرگ و میر بر اساس نسبت تعداد افراد پاسخ داده به دُز مورد نظر (r) به تعداد کل جمعیت مورد بررسی (n) محاسبه می گردد. البته این درصد در مقایسه با شاهد و به کمک رابطه آبوت به صورت رابطه زیر تصحیح گردید.

$$\text{درصد اثر} = (1 - \text{Ta/Ca}) \times 100$$

در این رابطه Ta و Ca به ترتیب میزان مرگ و میر در تیمار و شاهد می باشند. سپس از داده های آن در مدل زیست سنجی استفاده گردید. به طور کلی ۸ نوع مدل زیست سنجی در این تحقیق مورد استفاده قرار گرفته است که ۴ نوع آن ها از گروه همه یا هیچ^۱ و ۴ نوع آن ها از نوع ترجیحی^۲ می باشند

برای تعیین دُزهای کشنده از نرم افزار پریپروبیست^۳ استفاده شد. برای رسم خط رگرسیون، داده هایی که توسط نرم افزار اخیر پردازش شده بودند، به نرم افزار اکسل^۴ منتقل و منحنی های خطی و سیگموئید مربوطه رسم گردید. LT₅₀ جدایه در فرمولاسیون روغن های گیاهی مختلف با کمک نرم افزار کرواکسپرت^۵ محاسبه

- 1- Nothing or all
- 2- Preference
- 3- Probit (1998-2000)
- 4- Excel
- 5- Curve Expert 1.3

6 - Gosypol
7 - Consolo

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس میانگین اسپدهای چرب موجود در ۹ نوع روغن گیاهی مورد بررسی

نوع روغن	میانگین مربعات										خطا	تکرار	اثر اسپد چرب	ضرب واریانس		
	آراشیدیک	لینولیک	اولئیک	استاریک	هیپاد کامونیک	پالمونیک	پالمیک	مرستیک	نزونیک	اروسیک					لیگنوسرئیک	بیتنیک
۰/۰۰۳	۰/۰۰۴	۰/۰۰۶	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۰	۰	۰/۰۲	۰	۰	۰	۰	۰	۰
۶۷۸/۵۳	۱۰۱۹۲/۴**	۴۸۹/۹**	۲/۹۲**	۰/۰۱**	۰/۰۴**	۲۰/۲۶**	۷۲/۰۷**	۰/۰۴**	۰/۹۸**	۰/۰۶*	۰/۸**	۰/۷**	۰/۷**	۰	۰	۰
۰/۲۵	۰/۰۲۴	۰/۰۰۳	۰/۰۲	۰/۰۰۱	۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰	۰	۰/۰۲	۰	۰	۰	۰	۰	۰
۸۰۰۶	۰/۱۱	۰/۱۸	۰/۸۸	۶/۳۲	۵/۶۳	۰/۳۶	۱/۹۸	۱/۴۵	۳/۵۱	۱/۱۱	۳/۷۴	۳/۲۷	۳/۲۷	۰	۰	۰

** نشان دهنده معنی دار بودن در سطح احتمال یک درصد * نشان دهنده معنی دار بودن در سطح احتمال ۵ درصد

مقایسه قدرت کشندگی قارچ *B. bassiana* بر روی جمعیت حشره کامل شیشه‌دنداندار در شرایط فرمولاسیون با روغن‌های گیاهی مختلف

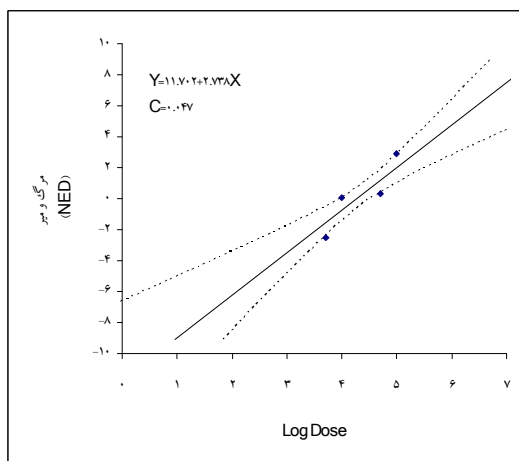
در مورد داده‌های حاصل از کاربرد فرمولاسیون‌های مختلف روغن‌های گیاهی جدایه انتخابی بر روی شیشه‌دنداندار پرورش یافته بر روی رقم خرمای سایر کمترین AICها از ترکیب پراکنش لجستیک با مدل ترجیحی با پاسخ طبیعی حاصل گردید (جدول ۲).

در میان فرمولاسیون‌های مورد آزمایش کمترین LC50 مربوط به جدایه C ۴۴۱ روی حشرات کامل تیمار شده با فرمولاسیون روغن کنجد معادل $1/491 \times 10^4$ اسپور در میلی‌لیتر بود. بیشترین مقدار LC50 روی حشرات کامل تیمار شده با فرمولاسیون روغن بادام معادل $3/345 \times 10^4$ اسپور در میلی‌لیتر بود. بنابراین دُز کشنده بسته به نوع روغن گیاهی مورد استفاده در فرمولاسیون متفاوت بود (شکل ۱).

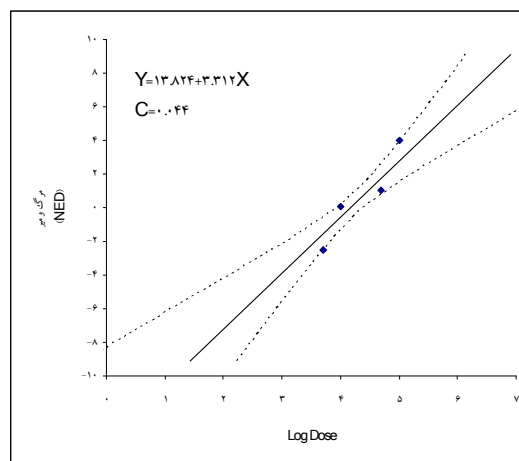
نوع فرمولاسیون روغن گیاهی همچنین اثرات معنی‌داری بر دوره تلفات ۵۰ درصد در مراحل رشدی حشره کامل داشت (شکل ۲).

همان‌طور که در شکل ۲ ملاحظه می‌گردد، نوع روغن گیاهی مورد استفاده در فرمولاسیون دارای اثرات مشخصی بر طول دوره تلفات حشره کامل شیشه‌دنداندار بود. به طوری که در روغن‌های گیاهی کنجد، سویا، کلزا، آفتابگردان، ذرت، هسته انگور و نارگیل کاهش و در روغن‌های گیاهی بادام و زیتون افزایش طول دوره برای زمان‌های وقوع درصدهای مختلف تلفات نسبت به شاهد ثبت شد.

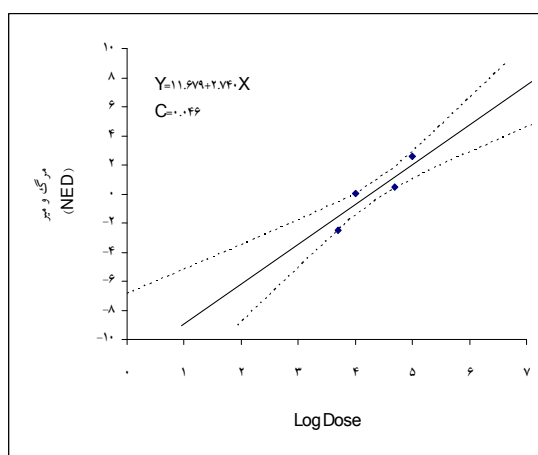
لطیفیان: بررسی اثر فرمولاسیون های قارچ...



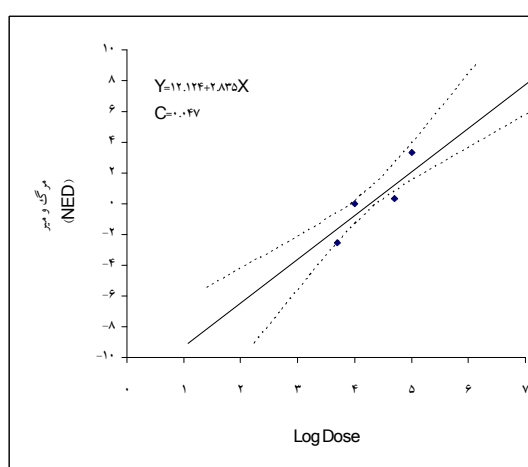
د) روغن آفتاب گردان



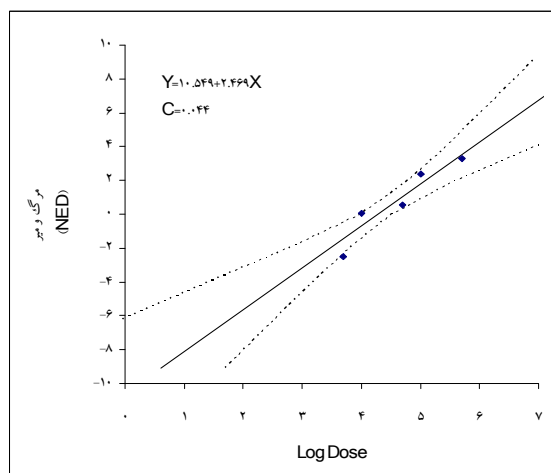
الف) روغن کنجد



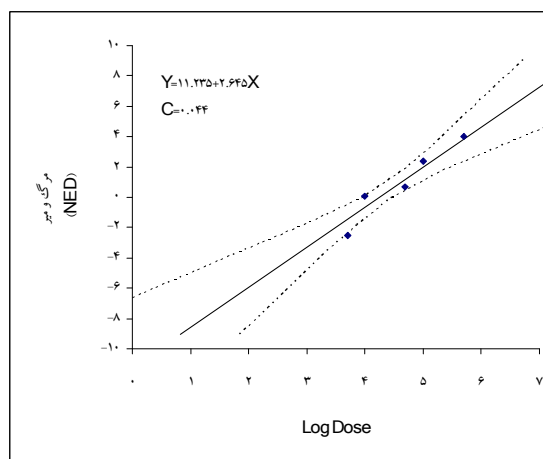
ح) روغن ذرت



ب) روغن سویا

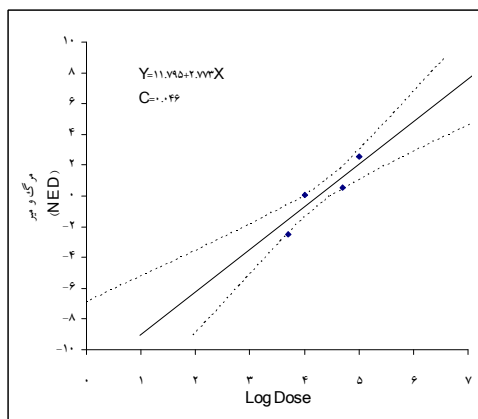


و) روغن هسته انگور

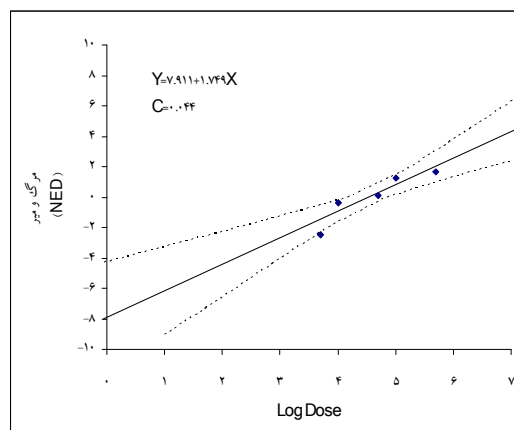


ج) روغن کلزا

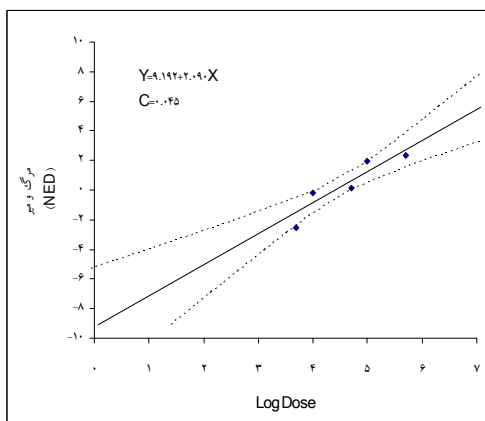
شکل ۱- نمودار دز- مرگ و میر جدایه IRAN 441C قارچ *B. bassiana* با فرمولاسیون روغن های گیاهی مختلف و شاهد روی جمعیت حشره کامل *O. surinamensis* در رقم خرماي سایر



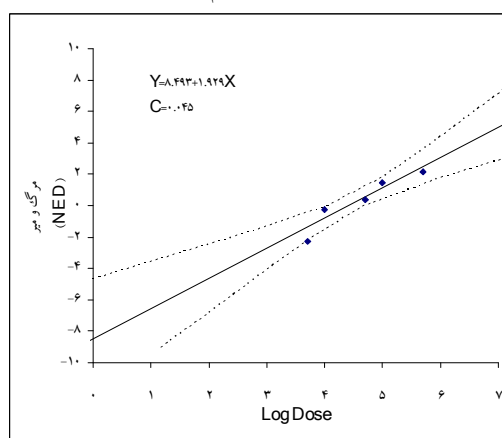
ل) روغن نارگیل



ز) روغن بادام

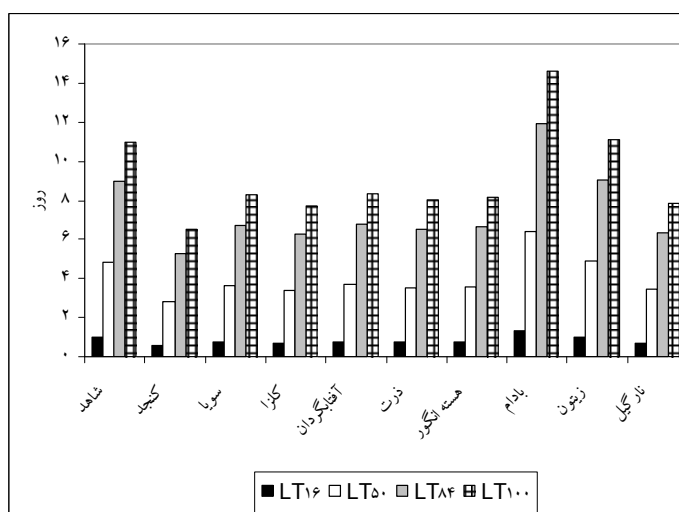


م) شاهد



ک) روغن زیتون

ادامه شکل ۱- نمودار دُز- مرگ و میر جدایه IRAN 441C قارچ *B. bassiana* با فرمولاسیون روغن های گیاهی مختلف و شاهد روی جمعیت حشره کامل *O. surinamensis* در رقم خرمای سایر



شکل ۲- مقایسه زمان کشندگی فرمولاسیون روغن های گیاهی قارچ *B. bassiana* در جمعیت حشره کامل شیشه دندانه دار (LT_x= زمان کشندگی (روز) x درصد)

جدول ۲- مقدار کشنده جدایه ۴۴۱C قارچ *B. bassiana* به تفکیک برای فرمولاسیون های مختلف روغن های گیاهی روی حشره کامل در رقم سایر

مدل رگرسیونی	تابع پراکنش	LC ₉₉ (اسپور در میلی لیتر) و حدود بالا و پایین در سطح ۹۵ درصد	LC ₅₀ (اسپور در میلی لیتر) و حدود بالا و پایین در سطح ۹۵ درصد	کای اسکویر	AIC	نوع روغن گیاهی
۶	Logestic	$3/64 \times 10^5$ ($1/43 \times 10^5$ و $2/74 \times 10^6$)	$1/49 \times 10^4$ ($8/73 \times 10^3$ و $2/39 \times 10^4$)	۰/۴۱	۸۷/۴۷	کنجد
۶	Logestic	$7/88 \times 10^5$ ($2/56 \times 10^5$ و $8/51 \times 10^6$)	$1/49 \times 10^4$ ($9/53 \times 10^3$ و $2/48 \times 10^4$)	۰/۴۶	۹۷/۷۶	سویا
۶	Logestic	$9/67 \times 10^5$ ($3/9 \times 10^5$ و $1/91 \times 10^7$)	$1/76 \times 10^4$ ($9/35 \times 10^3$ و $3/03 \times 10^4$)	۰/۴۷	۱۰۰/۷۵	کلزا
۶	Logestic	$8/91 \times 10^5$ ($2/87 \times 10^5$ و $1/67 \times 10^6$)	$3/49 \times 10^3$ ($4/06 \times 10^2$ و $1/62 \times 10^4$)	۰/۶۹	۱۴۴/۹۳	آفتابگردان
۶	Logestic	$8/71 \times 10^5$ ($2/9 \times 10^5$ و $9/69 \times 10^6$)	$1/84 \times 10^4$ ($9/69 \times 10^3$ و $3/01 \times 10^4$)	۰/۴۷	۹۹/۲۷	ذرت
۶	Logestic	$1/36 \times 10^6$ ($3/99 \times 10^5$ و $2/09 \times 10^7$)	$1/87 \times 10^4$ ($9/56 \times 10^3$ و $3/24 \times 10^4$)	۰/۴۹	۱۰۴/۸۲	هسته انگور
۶	Logestic	$1/42 \times 10^7$ ($2/14 \times 10^6$ و $1/76 \times 10^9$)	$3/34 \times 10^4$ ($1/44 \times 10^3$ و $6/9 \times 10^4$)	۰/۵۹	۱۲۴/۸۹	بادام
۶	Logestic	$6/09 \times 10^6$ ($1/18 \times 10^6$ و $1/03 \times 10^7$)	$2/52 \times 10^4$ ($1/14 \times 10^3$ و $4/84 \times 10^4$)	۰/۵۷	۱۱۹/۲۳	زیتون
۶	Logestic	$8/13 \times 10^5$ ($2/68 \times 10^5$ و $1/03 \times 10^7$)	$1/49 \times 10^4$ ($8/73 \times 10^3$ و $4/66 \times 10^4$)	۰/۴۱	۸۷/۴۷	نارگیل
۶	Logestic	$3/96 \times 10^6$ ($8/92 \times 10^5$ و $1/32 \times 10^8$)	$2/51 \times 10^4$ ($1/18 \times 10^4$ و $4/66 \times 10^4$)	۰/۵۵	۱۱۵/۵۳	شاهد

6: Preference with Natural Preference

هسته‌انگور و نارگیل دارای اثرات سینرژستی و دو روغن گیاهی بادام و زیتون دارای اثرات آنتاگونیستی بر قدرت کشندگی جدایه انتخابی قارچ *B. bassiana* در جمعیت حشره کامل شپشه‌دندانه‌دار در شرایط تغذیه از خرماي رقم سایر بوده‌اند (شکل ۴). روغن‌های کنجد و زیتون به ترتیب دارای بیشترین اثر سینرژستی و بیشترین اثر آنتاگونیستی بوده‌اند.

با توجه به نتایج به دست آمده از اثرات فرمولاسیون قارچ *B. bassiana* با روغن‌های گیاهی مختلف می‌توان استنباط نمود که اکثر روغن‌های گیاهی با دامنه نوسانات محدودی اثرات مثبت بر توانایی کنترل میکروبی قارچ مورد بررسی داشته‌اند. این اثرات سینرژستی بوده و نسبت به تیمار بدون روغن منجر به افزایش قدرت کشندگی قارچ گردیده‌اند. بدون این که ترکیبات موجود در آن‌ها در القاء خواص ناگیرایی در بدن میزبان (شپشه‌دندانه‌دار) چندان مؤثر بوده باشند. این موضوع مربوط به توانایی قارچ *B. bassiana* در تجزیه ساختارهای هیدروکربنی مشابه هیدروکربن‌های موجود در بدن حشره میزبان می‌باشد. قارچ *B. bassiana* دارای این توانایی بوده و از آن برای تولید انرژی استفاده می‌کند. اولین مانع در برابر تماس شیمیایی یا بیولوژیکی قارچ *B. bassiana* جلد بدن حشره میزبان است. حجم عمده جلد را پروتئین و کیتین و یک لایه لیپیدی شامل انواع چربی‌های اشباع با زنجیره هیدروکربنی بلند، اسیدهای چرب آزاد، استرها و گلیسیریدها (که از نظر ساختار به روغن‌های گیاهی شباهت دارند) تشکیل می‌دهد. این لیپیدها به جذب مواد شیمیایی در خلال فرایندهای ارتباط شیمیایی و تنظیم فعالیت میکروارگانیسم‌ها کمک می‌کنند. روغن‌های گیاهی با داشتن ساختاری مشابه و از طریق مکانیسمی شبیه به مراحل فوق به فعالیت بیماری‌زایی قارچ کمک می‌کنند (آلیکانادا و پاتراشیا^۱، ۲۰۰۶). نوع اسیدهای چرب موجود در روغن‌های گیاهی دارای رشته‌های پلی

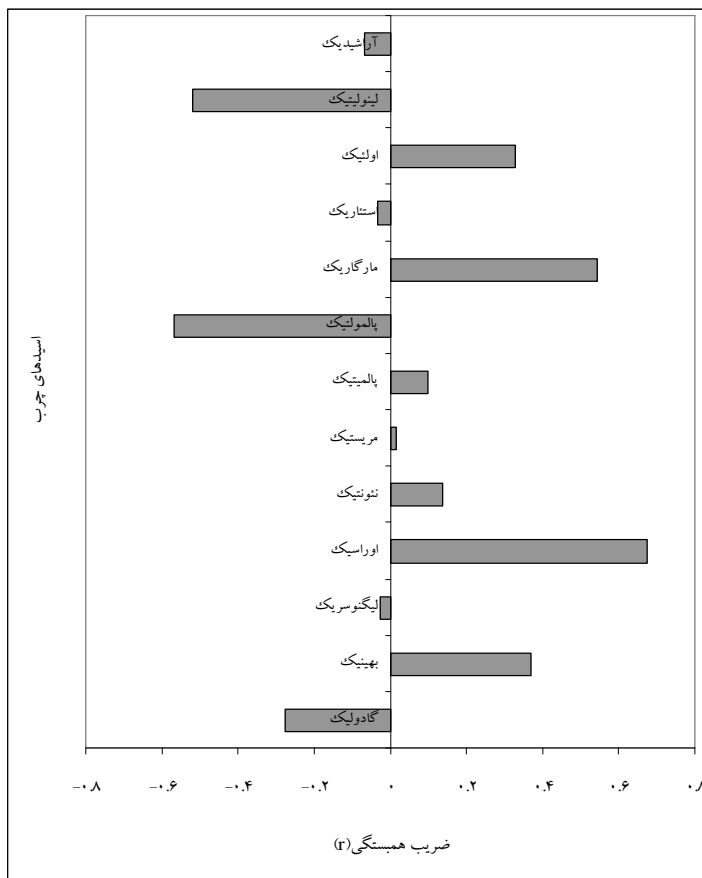
اثرات اسیدهای چرب مختلف بر قدرت کشندگی قارچ *B. bassiana* بر روی جمعیت حشره کامل شپشه‌دندانه‌دار در شرایط فرمولاسیون با روغن‌های گیاهی مختلف

به منظور بررسی اثرات اسیدهای چرب مختلف بر قدرت کشندگی قارچ باواریا از روش آنالیز همبستگی بین غلظت اسیدهای چرب موجود در روغن‌های گیاهی ۹ گانه مورد بررسی با قدرت کشندگی اسپور قارچ *B. bassiana* در هر روغن استفاده شد که نتایج این بررسی در شکل ۳ درج گردیده است. همان‌طور که در شکل ۳ ملاحظه می‌گردد، در میان ۱۴ اسید چرب مورد بررسی، اسیدهای چرب اوراسیک، پالمولیتیک، مارگاریک و لینولئیک دارای اثرات معنی‌دار در قدرت کشندگی قارچ *B. bassiana* بوده‌اند که در میان آن‌ها مارگاریک و اوراسیک دارای اثر افزایشی و پالمولیتیک و لینولئیک دارای اثر کاهش‌ی بوده‌اند.

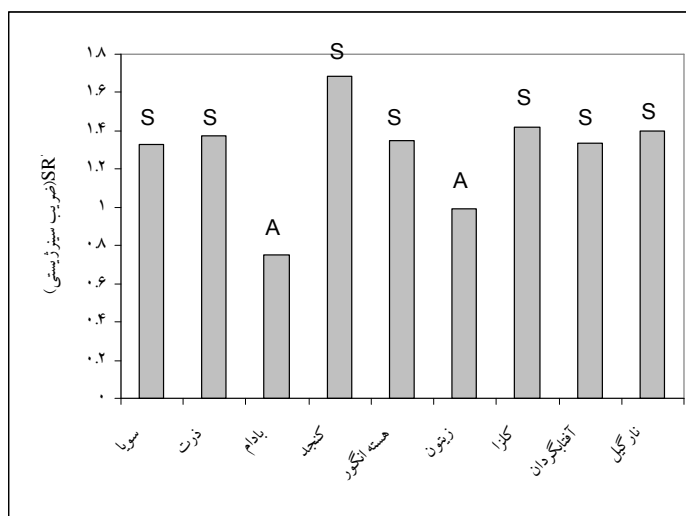
مقایسه اثرات سینرژستی و آنتاگونیستی روغن‌های گیاهی بر قدرت کشندگی قارچ *B. bassiana*

به منظور بررسی اثرات سینرژستی یا آنتاگونیستی روغن‌های گیاهی مورد مطالعه بر قدرت کشندگی جدایه انتخابی قارچ *B. bassiana* در جمعیت حشره کامل شپشه‌دندانه‌دار در شرایط تغذیه از خرماي رقم سایر، نرخ شدیدکنندگی با محاسبه نسبت کشندگی متوسط قارچ در حالت فرمولاسیون با روغن گیاهی نسبت به شاهد ارزیابی شد که نتایج آن در شکل ۴ ملاحظه می‌گردد. لازم به ذکر است که چنانچه مقدار ضریب برای روغن گیاهی بزرگتر از ۱ باشد، دارای اثر سینرژستی و چنانچه کوچکتر از ۱ باشد، فرمولاسیون روغن گیاهی دارای اثرات آنتاگونیستی بر قدرت کشندگی جدایه انتخابی قارچ *B. bassiana* در جمعیت حشره کامل شپشه‌دندانه‌دار بوده است. بنابراین، در میان روغن‌های گیاهی مورد استفاده برای فرمولاسیون قارچ روغن‌های کنجد، سویا، کلزا، آفتابگردان، ذرت،

لطیفیان: بررسی اثر فرمولاسیون های قارچ...



شکل ۳- کولوگرام ارتباط بین غلظت اسیدهای چرب موجود در روغن های گیاهی با قدرت کشندگی قارچ *B. bassiana*



شکل ۴ - مقایسه ضریب سینرژیستی فرمولاسیون قارچ *B. bassiana* در روغن های گیاهی مختلف S (سینرژیست) و A (آنتاگونیست)

های مختلف از جمله قارچ *M. bassiana*، *Erynia spp.* و *anisopliae* دخالت داشته و اسپورسازی را تحریک می کنند (پولار و همکاران^۲، ۲۰۰۵). در تحقیق حاضر نیز اثرات این اسیدهای چرب در تشدید قدرت کشندگی جدایه انتخابی قارچ *B. bassiana* روی شپشه دندانه دار در شرایط تغذیه از خرماي رقم سایر به اثبات رسید.

کربنی متفاوتی با زنجیره هایی با اندازه متفاوت هستند و در نتیجه تشابه روغن ها را با لیپیدهای سطح جلد حشرات تحت تأثیر قرار می دهند. هر چه تشابه زنجیره های هیدروکربنی با لیپیدهای سطح جلد بدن بیشتر باشد، به همان نسبت کمک بیشتری به قارچ برای نفوذ به بدن حشره میزبان نموده و بر قدرت کشندگی آن می افزاید (آلیکانادا و پاتراشیا، ۲۰۰۶). برخی دیگر از محققین مکانیسم های تکمیلی ارائه نموده اند. نتایج تحقیقات آن ها نشان داده است که کنیدی های هوازی قارچ *B. bassiana* به صورت ضعیف به سطوحی نظیر کوتیکول حشرات که قطبیت کمی دارند اتصال پیدا می کنند و از سطوح آبگریزی نظیر جلد بدن حشرات به سرعت شسته می شوند. در چنین شرایطی اسپورها به زمان بیشتری برای انکوباسیون و بیماری زایی نیاز دارند. روغن های گیاهی مختلف با ایجاد پل ارتباطی بین اینو کولوم اولیه قارچ و کنیدی منجر به بهبود عملکرد اختصاصی قارچ و افزایش قدرت کشندگی آن می گردند. البته ترکیب روغن های گیاهی مختلف متفاوت بوده و بسته به نوع اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع و سایر خصوصیات بیوشیمیایی موجود در آن ها قدرت آن ها در بهبود شرایط عملکردی قارچ در سطح بدن حشره تحت تأثیر قرار می گیرد (فنگ و همکاران^۱، ۲۰۰۸).

برتری اثر روغن گیاهی کنجد بر جدایه انتخابی قارچ *B. bassiana* برای کنترل شپشه دندانه دار در شرایط تغذیه از خرماي رقم سایر به علت اثرات سینرژیستی آن است.

مهمترین ترکیبات موجود در روغن های گیاهی را اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع تشکیل می دهند. این اسیدهای چرب منبع انرژی و کربن برای رشد قارچ *B. bassiana* می باشند. آزمایش های انجام شده توسط سایر محققین نشان داده است که مریستیک، پالمولتیک و اولئیک در تشکیل لوله تندش برای قارچ

منابع

۱. باقری زنور، ا. ۱۳۷۵. آفات فرآورده های انباری و روش های مبارزه، جلد اول، سخت بالپوشان زیان آور محصولات غذایی و صنعتی. چاپ دوم. انتشارات مرکز نشر سپهر، تهران. ۳۰۹ ص.
۲. مهاجری، م. ا. ۱۳۷۳. جمع آوری و شناسایی آفات انباری شهرستان های جیرفت، کهنوج و بم. گزارش پژوهشی طرح تحقیقاتی. انتشارات مرکز تحقیقات کشاورزی جیرفت و بم. ۳ ص.
۳. لطیفیان، م. ۱۳۸۲. تکنولوژی مبارزه با آفات انباری خرما. انتشارات آهنگ قلم، مشهد. ۱۰۰ ص.
۴. لطیفیان، م. ۱۳۸۷. همه گیرشناسی قارچ *Beauveria bassiana* در جمعیت شپشه دنداندار در شرایط انبارداری ارقام مهم خرما خشک و تجاری. پایان نامه دکتری تخصصی. دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز. ۳۵۰ ص.
5. Aliconada, T.M. and Patrica, M.J. 2006. Acyl-coA Oxidase activity from *Beauveria bassiana* an entomopathogenic fungus. *Journal of basic microbiology*, 46(6): 435-443.
6. Butt, T.M., and Goettel, M.S. 2000. Bioassay of entomogenous fungi. In: (eds.) Navon, A. and K.R.S. Ascher. *Bioassay of entomopathogenic microbes and nematodes*. CABI publishing, U. K., pp: 141-195.
7. Consolo, V.F., Salerno, G.L., and Beron, C.M. 2003. Pathogenecity formulation and storage of insect pathogenic hyphomycetous fungi tested against *Diabrotica speciosa*. *Biocontrol*, 48: 705-712.
8. Fang, W., Scully, L.R., Zang, L., Pei, Y., and Bidochka, M.J. 2008. Implication of a regulator of G protein signalling in condation and conodial thermotolerance of insect pathogenic fungus *Beauveria bassiana*, *Journal of Invertebrate Pathology*, 279: 146-156.
9. Moore, D., and Caudell. R.W. 2000. Formulation of entomopathogens for control of locusts and grasshopper. *Memoires of entomological society of Canada*, 171: 49-76.
10. Moore, D., Edgington, S., Kutuk, H., sadar, H., and Bochsini, M., El 2004. The development of a mycoinsecticide for the biological control of sunn pest. *Procce dings of second inter national conference on sunn pest, Aleppo, Syria*.
11. Polar, P., Kario, M.T.K., Moore, D., Pegram, R., and John, S.A. 2005. Comparison of water, oils and emulsifiable adjuvant oils as formulating agents for *Metarhizium anisopliae* for use in control *Boophilus*. *Mycopathologia*, 160: 151-157.
12. Steinhaus, E.A. 1967. *Insect microbiology*. New York and London: Hafner Publishing, Co. 763 p.
13. Tanada, Y., and Kaya. H.K. 1993. *Insect Pathology*. Academic Press, London. 666 pp.

14. Thomas, K.C., Khachatourians, G.G., and Langedew, W.M. 1987. Production and properties of *Beauveria bassiana* conidia cultivated in submerged culture. Canadian Journal of Microbiology, 33: 12-20.