گیاه‌پزشکی (مجله علمی کشاورزی)
جلد ٤٥، شماره۱، بهار ١٤٠١

doi 10.22055/ppr.2021.17246

بررسی بیمارگری جدایه‌های ایرانی قارچ‌های *Akanthomyces lecanii* و *A. muscarius* روی شته‌ی سیاه باقلا (*Aphis fabae* Scopoli)

تهمینه سلطانی[۱]، فاطمه یاراحمدی[۲*]، علی رجب‌پور[۲] و محمد حامد قدوم پاریزی‌پور[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد حشره‌شناسی، گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
۲-* **نویسنده مسوول**: دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
(yarahmadi@asnrukh.ac.ir)
۳- استادیار گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۹/۲۴

چکیده

شته سیاه باقلا یا *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae) از آفات مهم بسیاری از گیاهان کشاورزی و زینتی است. قارچ‌های بیمارگر حشرات از عوامل مهم کنترل زیستی آفات بوده که به عنوان جایگزین مناسب برای سموم شیمیایی شناخته می‌شوند. در این مطالعه، کارایی غلظت‌های مختلف سوسپانسیون اسپور (کنیدیوم) سه جدایه از گونه *Akanthomyces lecanii* (PAL6، PAL7 و PAL8) و یک جدایه از گونه *A. muscarius* (GAM5) روی پوره‌ها و بالغین شته سیاه باقلا مورد ارزیابی قرار گرفت. هر چهار جدایه دارای بیماری‌زایی روی این شته بودند و موجب ۱۰ درصد مرگ و میر شدند. کارایی این جدایه‌ها روی مراحل مختلف رشدی تفاوت معنی‌داری نداشت. مرگ و میر ناشی از این جدایه‌ها با افزایش غلظت (تا ۵۵ درصد) و گذشت زمان (تا ۵۳/۱۳ برابر) به صورت معنی‌داری بیشتر شد. با توجه به تأثیر نسبی این قارچ‌ها در کنترل زیستی شته سیاه باقلا توصیه می‌شود به صورت تلفیقی با سایر روش‌های سازگار نظیر سموم حشره‌کش با منشا طبیعی در برنامه مدیریت تلفیق آفت به کار روند.

کلیدواژه‌ها: جوربالان؛ کنترل زیستی؛ زیست‌سنجی؛ مدیریت تلفیقی آفات؛ مرگ و میر

دبیر تخصصی: دکتر مهدی مهرابی کوشکی

Citation: Soltani, T., Yarahmadi, F., Rajabpour, A., & Ghoddom Parizi Pour, M. H. (2022). Pathogenicity of Iranian isolates of *Akanthomyces lecanii* and *A. muscarius* on the black bean aphid (Aphis fabae Scopoli). Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture), 45(1): 19-28. https://doi.org/ 10.22055/ppr.2021.17246

مقدمه

شته‌ی سیاه باقلا *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae) دارای ۲۰۰ میزبان گیاهی بوده و به عنوان آفت مهم بسیاری از محصولات باغی، زراعی، صیفی، جالیز و زینتی در ایران و جهان شناخته می‌شود (Blackman & Eastop, 2000; Rashedi et al., 2020). افراد بالغ و پوره‌های سنین مختلف این شته بیشتر در سطح پشتی برگ‌های میزبان فعالیت می‌نمایند و به دو روش مستقیم و غیرمستقیم، باعث بروز خسارت در گیاه میزبان می‌شوند. در روش مستقیم، شته‌ها با تغذیه از شیره‌ی گیاهی و تزریق بزاق سمّی، باعث ضعف عمومی میزبان، پیچیدگی و زردی برگ‌ها می‌شوند. در خسارت غیرمستقیم، این آفت، مانند بسیاری از شته‌های دیگر، با ترشح عسلک باعث رشد قارچ دوده و یا جلب گرد و غبار شده که در نتیجه‌ی آن در توانایی فتوسنتز گیاه کاهش چشمگیری رخ می‌دهد. همچنین این شته می‌تواند ویروس‌های گیاهی خطرناکی را مانند ویروس زردی بافت‌مرده باقلا (FBNYV)، ویروس موزاییک زرد لوبیا (BYMV)، ویروس وای سیب‌زمینی (PVY) و ویروس پیچیدگی برگ سیب‌زمینی (PLRV) به میزبان گیاهی خود، منتقل کند (Blackman & Eastop, 2000).

در بسیاری موارد برای مبارزه با این آفت، از سموم حشره‌کش شیمیایی استفاده می‌شود که با توجه به مشکلات زیست‌محیطی این سموم و محدودیت‌های ناشی از توسعه‌ی مقاومت به حشره‌کش‌های شیمیایی در جمعیت‌های این آفت (Mirza et al., 2020)، استفاده از روش‌های جایگزین مانند کنترل بیولوژیک بسیار اهمیت دارد (Mohammadi et al., 2015; Rashedi et al., 2019). کنترل بیولوژیک با استفاده از عوامل میکروبی (کنترل زیستی) از روش‌های اختصاصی و بالقوه مناسب در مدیریت تلفیقی آفات است (Pedigo, 2002). در میان عوامل مختلف میکروبی بیمارگر حشرات، قارچ‌ها تنها بیمارگرهایی هستند که احتمالاً در مهار آفات مکنده مانند شته‌ها، توانایی زیادی دارند، زیرا آن‌ها به صورت مستقیم می‌توانند در کوتیکول میزبان‌هایشان نفوذ کنند، در حالی که سایر بیمارگرها (مانند باکتری‌ها و ویروس‌ها) باید توسط حشرات خورده شوند تا بتوانند میزبان را بیمار نموده و از پای درآورند (Ortiz-Urquiza & Keyhani, 2013). قارچ‌های بیمارگر حشرات متعلق به آرایه‌های مختلف از جمله راسته Hypocreales در شاخه Ascomycota و Entomophthorales در شاخه Entomophthoromycota هستند (Shah & Pell, 2003). گونه‌های جنس *Akanthomyces* Lebert (Ascomycota: Cordycipitaceae) برای کنترل آفات و بیماری‌های گیاهی در کشاورزی استفاده می‌شوند (Kirk et al., 2008). در طول سه دهه گذشته، گونه‌ها و جدایه‌های مختلف قارچ‌های این جنس به عنوان یک مدل مفید برای مطالعه اختصاصیت میزبانی و همچنین یک مدل فعال به عنوان عامل مهار زیستی آفات گیاهی مطرح بوده است (Liu et al., 2003). این جنس که قبلاً با نام‌های *Verticillium* و *Lecanicillium* شناخته می‌شد، اخیراً بر اساس مطالعات تبارزایی مولکولی به جنس *Akanthomyces* انتقال یافت و شامل گونه‌های مختلف *A. attenuatus* (Zare & W. Gams) Spatafora, Kepler & B. Shrestha، *A. lecanii* (Zimm.) Spatafora, Kepler & B. Shrestha، *A. muscarius* (Petch) Spatafora, Kepler & B. Shrestha، *A. dipterigenus* (Petch) Spatafora, Kepler, Zare & B. Shrestha، *A. sabanensis* (Chir-Salom., S. Restrepo & T.I. Sanjuan) Chir.-Salom., T.I. Sanjuan & S. Restrepo، *A. tuberculatus* (Lebert) Spatafora, Kepler & B. Shrestha و *A. coccidioperitheciatus* (Kobayasi & Shimizu) Spatafora, Kepler & B. Shrestha است (Kepler et al., 2017).

میزبان‌های این قارچ‌های بیمارگر شامل طیف گسترده‌ای از گونه‌های بندپایان، نماتدها، گیاهان و قارچ‌ها

است. جدایه‌های مختلف قارچ‌های این جنس روی راسته‌های گوناگونی از حشرات بیماری‌زا هستند. حداقل پانزده محصول بیولوژیک تجاری بر پایه جدایه‌های گونه‌های جنس *Akanthomyces* وجود دارد که با نام‌های تجاری مختلف، بر علیه آفات گیاهی گوناگون در کشورهای متعددی استفاده می‌شوند (Goettel et al., 2008). جداسازی جدایه‌های بومی و بررسی امکان به کارگیری آن برای کنترل آفات، یکی از اولین گام‌ها برای توسعه کنترل میکروبی در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات است (Ortiz-Urquiza & Keyhani, 2013). اگرچه در تحقیقات محدودی، کارایی برخی جدایه‌های قارچ‌های این جنس روی برخی شته‌های آفت گیاهی مانند *Myzus persicae* Sulzer، *Macrosiphum euphorbiae* Thomas، *Aulacorthum solani* Kaltenbach (Kim *et al*., 2007) و *Aphis gossypii* Glover (Kim, 2007) بررسی شده است، با این حال، تاکنون مطالعه‌ای درخصوص ارزیابی جدایه‌های ایرانی قارچ‌های این جنس روی شته‌های آفت منتشر نشده است. در این پژوهش، کارایی سه جدایه ایرانی از گونه *A. lecanii* (PAL6، PAL7 و PAL8) و یک جدایه از گونه *A. muscarius* (GAM5) در کنترل شته سیاه باقلا برای اولین بار مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

پرورش شته

کلنی اولیه شته‌ی سیاه باقلا، از آزمایشگاه گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز تهیه شد. این شته‌ها روی گیاهان باقلا (*Vicia faba* L.) رقم شوشتری پرورش یافتند. گلدان‌های حاوی بوته‌های باقلای آلوده به این آفت، درون قفس‌های پرورش توری با ابعاد ۱×۱×۰/۶ متر و در محیط کنترل شده با دمای ۲ ± ۲۵ درجه سلسیوس، دوره‌ی ۱۶ ساعت روشنایی: ۸ ساعت تاریکی در گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، قرار داده شدند. برای حفظ کلنی شته، به صورت هفتگی، ۵ گلدان غیر آلوده به قفس‌های پرورش اضافه شد.

قارچ‌های بیمارگر

سه جدایه از *A. lecanii* (PAL6، PAL7 و PAL8) و یک جدایه از *A. muscarius* (GAM5) از گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان تحویل گرفته شدند که قبلاً به ترتیب از بالشک مرکبات یا *Pulvinaria aurantii* Cock. (Hemiptera: Coccidae) و شته پنبه یا *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae)، جداسازی و شناسایی شده بوند (Broumandnia et al., 2021). کشت جدایه‌ها روی محیط سیب‌زمینی دکستروز آگار (PDA) در ژرمیناتور با دمای ۱±۲۳ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۴۳ درصد و ساعات روشنایی: تاریکی ۱۶:۸ انجام شد.

طراحی آزمایش

براساس آزمایش‌های اولیه، غلظت‌های 10^4، 10^5، 10^6، 10^7 و 10^8 سوسپانسیون اسپور (کنیدیوم در میلی‌لیتر) هر جدایه برای آزمایش بررسی بیمارگری روی شته‌ی سیاه باقلا، انتخاب شد. برای تهیه سوسپانسیون، حدود ۱۵-۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون شده حاوی ۰/۰۵٪ توین ۸۰، روی محیط کشت ۱۵ روزه، ریخته شد. با استفاده از پیپت پاستور سترون الِ-شکل سطح محیط کشت پارو شد تا کنیدیوم‌ها از کنیدیوفورها جدا شوند و سپس با ورتکس تکان شدید داده شد. برای جدا شدن میسلیوم‌های قارچ همراه کنیدیوم‌ها از پارچه ململ سترون شده استفاده شد. غلظت سوسپانسیون های پایه با استفاده از لام گلبول شمار (هموسایتومتر) تعیین و با استفاده از فرمول $C_1V_1 = C_2V_2$ غلظت های مورد نیاز بدست آمد. برای اطمینان از زنده بودن کنیدیوم‌ها، یک قطره سوسپانسیون حاوی کنیدیوم های هر قارچ روی لایه‌ی نازکی از محیط کشت PDA پخش شد و جوانه‌زنی کنیدیوم در زیر استریومیکروسکوپ بررسی گردید. در صورتی‌که جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها بیش از ۸۰٪ بود، در آزمایش‌های زیست‌سنجی استفاده شدند (Castillo et al., 2000).

از پوره‌های سن آخر و ماده‌های بالغ تا دو روزه برای انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی استفاده شد. جهت هم‌سن‌سازی، یک شته ماده بالغ را به مدت ۲۴ ساعت بر روی برگ باقلا مستقر کرده پس از پوره‌زایی آن، حشره بالغ حذف شد. پوره‌های متولد شده بعد از ۵ تا ۷ روز به پوره سن آخر و پس از ۸ تا ۹ روز به مرحله بلوغ رسیده و با استفاده از یک سوزن نازک تعداد ۱۰ پوره سن آخر یا بالغ را زنده نگه داشته و برای آزمایش‌های زیست‌سنجی استفاده شدند. بعد از تهیه سوسانسیون با غلظت‌های فوق، تعداد ۱۰ عدد پوره سن آخر و همچنین ۱۰ عدد شته سیاه باقلا در معرض سوسپانسیون‌ها قرار داده شدند. از یک محلول‌پاش دستی که در فاصله ۱۰ سانتی‌متری دیسک برگی به قطر ۲/۵ سانتی‌متر قرار داشت، برای تیمار شته‌ها استفاده شد. آزمایش‌های اولیه نشان داد که محلول‌پاش مقدار ۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون را در ۷ بار اسپری روی سطح دیسک‌های برگی قرار می‌دهد. در تیمار شاهد، دیسک برگی با آب مقطر حاوی ۰/۰۵٪ توین ۸۰ محلول‌پاشی شد. دیسک‌های برگی تیمار شده برای حفظ شادابی در مدت زمان طولانی‌تر، روی محیط آب-آگار ۲ درصد (WA) درون ظروف پتری با قطر ۱۰ سانتی‌متر قرار داده شدند. ظروف پتری در ژرمیناتور با دمای ۱±۲۳ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۷۰ درصد و ساعات روشنایی: تاریکی ۱۶:۸ قرار داده شد. ظروف پتری حاوی شته‌های تیمار شده به صورت روزانه تا ۷ روز پس از تیمار (DAT) مورد بررسی قرار گرفته و تعداد شته‌های کشته شده در زیر استریومیکروسکوپ ثبت شدند. تغییر رنگ شته‌ها، رشد ریسه‌ها در سطح بدن یا عدم حرکت حشره در هنگام لمس با سوزن، به عنوان شاخص مرگ و میر در نظر گرفته شد.

تجزیه و تحلیل آماری

مرگ و میر مشاهده شده برای هر تیمار قبل از تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از فرمول ابوت تصحیح شد (Abbott, 1925). همچنین نرمال بودن توزیع داده‌ها با آزمون Shapiro–Wilk بررسی شد و از تبدل داده‌ها به $\sqrt{X+1}$ برای نرمال‌سازی استفاده شد. از آزمون فاکتوریل (شامل جدایه قارچ بیمارگر در ۴ سطح × مرحله نموی حشره در ۲ سطح × غلظت در ۵ سطح به عنوان اثرات اصلی) در قالب طرح کاملاً تصادفی با استفاده از روش GLM، به منظور بررسی تأثیر اثرات اصلی و برهمکنش آن‌ها در مرگ و میر رخ داده توسط قارچ‌های بیمارگر، استفاده شد. مقایسه میانگین توسط آزمون LSD انجام شد. کلیه تجزیه و تحلیل‌های آماری فوق با نرم افزار SAS نسخه 9.2 صورت پذیرفت. هر آزمون شامل ۷ تکرار بود.

نتایج و بحث

نتایج آزمون تحلیل واریانس فاکتورهای اصلی و برهمکنش بین آن‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. این آزمون نشان داد که اختلاف معنی‌داری در میزان مرگ و میر ایجاد شده با جدایه‌های مختلف مورد آزمایش وجود نداشت (جدول ۱). میزان مرگ و میر ایجاد شده از ۸/۹۴ درصد (در جدایه GAM5) تا ۹/۲۸ درصد (در جدایه PAL6) متغیر بود (شکل ۱).

دو گونه قارچی *A. lecanii* و *A. muscarius* به عنوان عوامل مهم میکروبی علیه سفیدبالک‌ها شناخته می‌شوند (Osborne & Landa, 1992; Faria & Wraight, 2001; Cuthbertson et al., 2005; Ren et al., 2010). در مطالعه‌های قبلی بیماری‌زایی این جدایه‌ها روی سفید بالک پنبه *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Hemiptera: Aleyrodidae) و شپشه آرد *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) گزارش شده است. در سفیدبالک پنبه بیشترین و کمترین کُشندگی به ترتیب با *A. muscarius* (AGM5) و *A. lecanii* (PAL6) مشاهده شد (Broumandnia et al., 2021). روی شپشه آرد نیز بیشترین کُشندگی با *A. muscarius* (AGM5) ایجاد شد درحالی که کمترین مرگ و میر متعلق به *L. lecanii* (PAL6) بود (Broumandnia & Rajabpour, 2020). اگرچه این اولین بررسی جدایه ایرانی قارچ‌های *Akanthomyces* روی شته سیاه باقلا می‌باشد، با این حال، کارایی برخی جدایه‌های

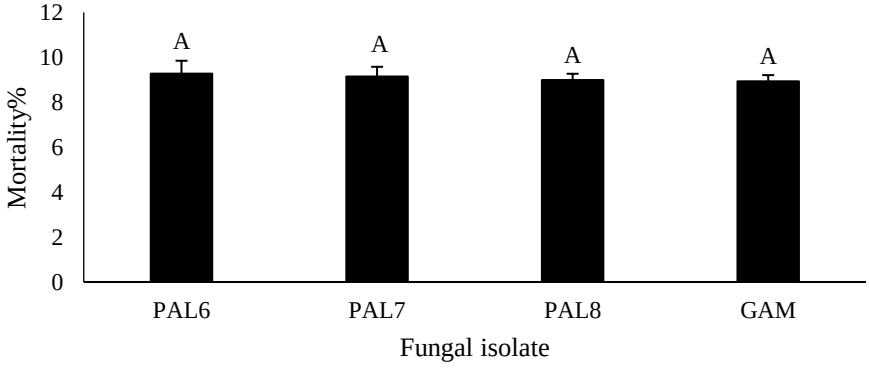
دیگر این جنس روی این شته مورد بررسی قرار گرفت. برای مثال، جدایه‌های گونه‌های *A. lecanii* و *A. muscarius* که از روی سن *Palomena prasina* L. (Hemiptera: Pentatomidae) در باغات فندق ترکیه جداسازی شدند، هفت روز پس از تیمار (DAT) موجب مرگ و میر ۱۰۰ درصدی شته سیاه باقلا شدند (Saruhan et al., 2015). جدایه عراقی قارچ *A. muscarius* به طور متوسط ۳۰ درصد تلفات در شته سیاه باقلا ایجاد کرده است (Mohammed, 2018). به طور مشخص، میزان مرگ و میر جدایه ایرانی کمتر از جدایه‌های ذکر شده بود که این می‌تواند به دلیل تفاوت در نوع جدایه و یا اختلاف در شرایط آزمایش باشد.

جدول ۱- فراسنجه‌های آزمون تحلیل واریانس برای اثرات اصلی دخیل در مرگ و میر ناشی از قارچ‌های بیمارگر حشرات مورد آزمایش و برهمکنش آن‌ها (داده‌ها قبل از تجزیه و تحلیل به $(X+1)^{0.5}$ تبدیل شده است؛ درجه آزادی ۱۶۸).

Table 1. ANOVA parameters for main effects and interactions for *Aphis fabae* mortality by the entomopathogenic fungi (data were $(X+1)^{0.5}$ transformed prior to analysis; error df=168)

Source	df	Mean Square	F value	P-value
EFS*	3	8.31	0.25	0.8609
ADS	1	72.29	2.18	0.1402
C	4	3582.91	107.98	<0.0001
DAT	6	8495.80	256.04	<0.0001
EFS × ADS	3	8.81	0.27	0.8502
EFS × C	12	10.73	0.33	0.9850
EFS × DAT	18	54.25	1.64	0.0449
ADS × C	4	43.06	1.30	0.2688
ADS × DAT	6	239.66	7.22	<0.0001
C × DAT	24	210.95	6.36	<0.0001
EFS × ADS × C	12	26.63	0.80	0.6480
EFS × ADS × C	18	15.97	0.48	0.9666
ADS × C × DAT	24	35.11	1.06	0.3860
EFS × C × DAT	72	27.69	0.93	0.8359
EFS × ADS × C × DAT	72	42.87	1.29	0.539

*EFS: Entomopathogenic fungal species; ADS: Aphid developmental stage; C: Concentration; DAT: Day after treatment



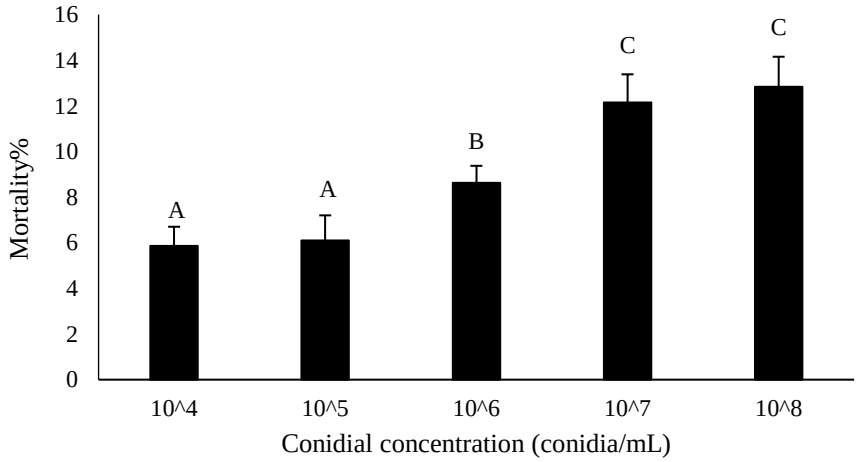
شکل ۱- میانگین مرگ و میر ایجاد شده در شته سیاه باقلا با جدایه‌های مختلف قارچ جنس *Akanthomyces*. حروف متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است (آزمون LSD).

Figure 1. Mean of mortality in *Aphis fabae* by different isolates of genus *Akanthomyces*. Different letters indicate significant difference at 0.05 (LSD post-hoc test)

میزان تأثیر هیچ کدام از جدایه‌ها روی ماده‌های بالغ و پوره‌های سن آخر متفاوت نبود. با این حال، مرگ و میر ایجاد شده با غلظت‌های مختلف کنیدیوم و یا در روزهای مختلف پس از تیمار (DAT)، اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۱). مرگ و میر ایجاد شده در شته‌های سیاه باقلا در غلظت 10^8 کنیدی در هر میلی‌لیتر (۵/۸۶ درصد) حدود ۵۵ درصد بیشتر از غلظت 10^4 کنیدی در هر میلی‌لیتر (۱۲/۸۳ درصد) بود (شکل ۲).

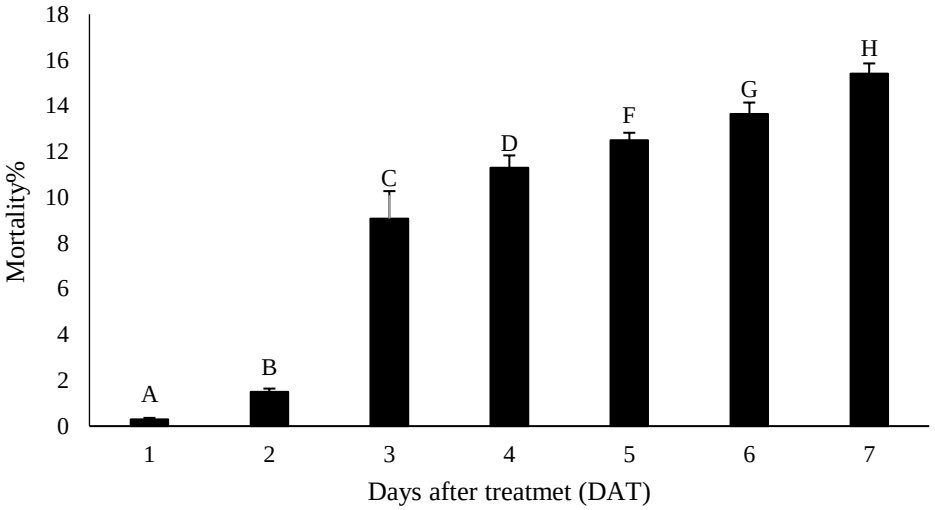
همچنین، زمان تأثیر معنی‌داری در کارایی جدایه‌های مورد آزمایش داشت. میزان مرگ و میر در هر DAT به صورت معنی‌داری بیشتر از DAT قبل بوده به صورتی‌که در ۷ DAT میزان مرگ و میر ۵۳/۱۳ برابر بیشتر از ۱ DAT بود. به طور کلی، فرآیند مرگ در اثر قارچ‌های بیمارگر شامل چندین مرحله بوده و انجام آن‌ها زمان‌بر می‌باشد. مراحل بیماری‌زایی و کشتار این عوامل شامل: ۱- اتصال کنیدی‌های قارچی به لایه کوتیکولی؛ ۲- جوانه زدن کنیدی قارچ و تشکیل آپرسوریوم؛ ۳- حمله و رخنه به داخل بدن حشره؛ ۴- ورود قارچ به داخل هموسل بدن حشره و تشکیل ساختارهای هیفی شکل؛ ۵- گسترش بیماری داخل بدن و در نهایت مرگ حشره و هم‌چنان بعد از مرگ حشره اکثر قارچ‌ها به صورت ساپروفیت درون میزبان قرار دارند (Amnuaykanjanasin et al., 2012).

در بین برهمکنش‌های مختلف بین فاکتورهای اصلی، برهمکنش بین جدایه‌های مختلف قارچی با DAT، مراحل مختلف رشدی شته با DAT و غلظت‌های مختلف سوسپانسیون کنیدی با DAT، اثری معنی‌دار در میزان مرگ و میر ایجاد شده داشتند (جدول ۱). در برهمکنش بین جدایه‌ها و DAT مختلف، بیشترین مرگ و میر در جدایه GAM5 در ۶ DAT (۱۶/۸۳ درصد) و کمترین آن در جدایه PAL7 در ۱ DAT (۰/۱۶ درصد) مشاهده شد (شکل ۳). در میان برهمکنش بین مراحل مختلف رشدی و DAT مختلف، بیشترین تأثیر در ایجاد مرگ و میر در بالغین در ۶ DAT (۱۵/۴۱ درصد) و کمترین باز هم در بالغین و در ۱ DAT (۰/۲۵ درصد) ثبت شد (شکل ۴). در بین مرگ و میر ناشی از غلظت‌های مختلف سوسپانسیون کنیدی در DAT گوناگون، بیشترین مرگ و میر ایجاد شده روی شته‌ی سیاه باقلا مربوط به غلظت 10^8 در ۵ DAT و کمترین آن مربوط به غلظت 10^7 در ۱ DAT بود (حدود ۱۰۲ برابر تفاوت).



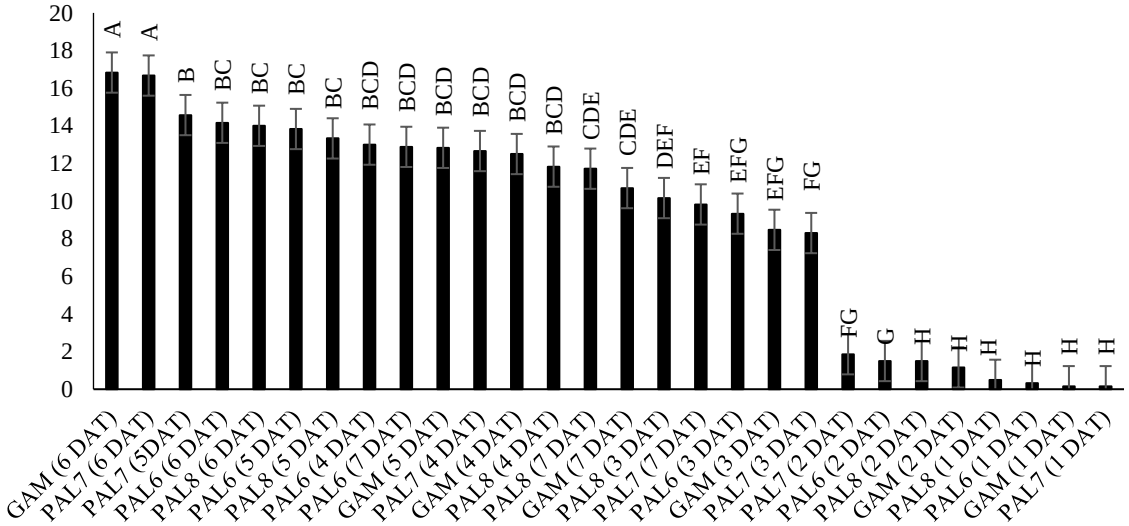
شکل ۲- میانگین مرگ و میر ایجاد شده در شته سیاه باقلا با غلظت‌های مختلف سوسپانسیون کنید قارچ جنس *Akanthomyces*. حروف متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است (آزمون LSD).

Figure 2. Mean of mortality in *Aphis fabae* at different conidial suspension concentrations by genus *Akanthomyces* . Different letters indicate significant difference at 0.05 (LSD post-hoc test)



شکل۳- میانگین مرگ و میر ایجاد شده در شته سیاه باقلا توسط روزهای مختلف بعد از تیمار (DAT) مختلف قارچ جنس *Akanthomyces* حروف متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است (آزمون LSD)

Figure 3. Mean of mortality in *Aphis fabae* at different days after treatments (DAT) by genus *Akanthomyces* . Different letters indicate significant difference at 0.05 (LSD post-hoc test)



شکل٤- میانگین مرگ و میر ایجاد شده در شته سیاه باقلا در هم‌کنش بین جدایه‌های مختلف قارچ جنس *Akanthomyces* و روزهای مختلف بعد از تیمار (DAT). حروف متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است (آزمون LSD).

Figure 4. Mean of mortality in *Aphis fabae* in interaction between the isolates of genus *Akanthomyces* and different days after treatments (DAT). Different letters indicate significant difference at 0.05 (LSD post-hoc test)

به نظر می‌رسد متغیر زمان در تعیین میزان کارایی جدایه‌های مورد آزمایش و مرگ و میر ناشی از آن‌ها در شته سیاه باقلا بسیار اهمیت داشت. به صورتی‌که میزان مرگ و میر ناشی از غلظت پایین در ۶ یا ۷ DAT به مراتب بیشتر از مرگ و میر شته‌ها در غلظت‌های بالا (10^7 یا 10^8 کنیدی در هر میلی‌لیتر) ولی در زمان‌های کمتر نظیر ۲ یا

۳ DAT بود. عملاً مرگ و میر ناشی از این قارچ‌ها در روز بعد از تیمار (DAT۱) بسیار ناچیز بود. بررسی‌های قبلی صورت گرفته روی جدایه‌های مورد تحقیق روی سفیدبالک پنبه (Broumandnia et al., 2021) و شپشه آرد (Broumandnia & Rajabpour, 2020) نشان داد که مرگ و میر از روز سوم پس از تیمار شروع می‌شود و به نظر می‌رسد روند مرگ و میر روی شته سیاه باقلا یک روز زودتر آغاز می‌گردد. با توجه به تأخیر در تأثیر مطلوب این جدایه‌ها، به‌کارگیری زودهنگام‌تر (تا ۳ روز) برای جلوگیری از بروز خسارت اقتصادی توصیه می‌گردد. همچنین با توجه به عدم کارایی برای کنترل کامل (۱۰۰ درصدی) شته سیاه باقلا و تأخیر زمانی ذکر شده، به نظر می‌رسد استفاده از این جدایه‌ها در کنار سموم کم‌خطر و سازگار یکی دیگر از گزینه‌های کشاورزان برای استفاده در برنامه مدیریت تلفیقی این شته باشد. البته قبل از هرگونه توصیه عملی، لازم است کارایی این جدایه‌ها در مقیاس مزرعه‌ای یا گلخانه‌ای نیز مورد مطالعه قرار گیرد.

سپاس‌گزاری

بدینوسیله از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان برای حمایت مالی و از آقای دکتر سیروس آقاجان‌زاده و مرکز تحقیقات مرکبات و میوه‌های نیمه گرمسیری کشور برای حمایت‌های فنی‌شان، سپاسگزاری به عمل می‌آید.

References

Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, *18*(2), 265-267.

Amnuaykanjanasin, A., Jirakkakul, J., Panyasiri, C., Panyarakkit, P., Nounurai, P., Chantasingh, D., Eurwilaichitr, L., Cheevadhanarak, S., & Tanticharoen, M. (2012). Infection and colonization of tissues of the aphid *Myzus persicae* and cassava mealybug *Phenacoccus manihoti* by the fungus *Beauveria bassiana*. *BioControl*, *58*(3), 319–330.

Blackman, R. L., & Eastop, V. F. (2000). Aphids on the world's crops: an identification and information guide (No. Ed. 2). John Wiley & Sons Ltd.

Broumandnia, F., & Rajabpour, A. (2020). Efficacies of some isolates of *Lecanicillium lecanii* to control *Tribolium castaneum* (Col., Tenebrionidae). *Journal of Plant Diseases and Protection*, *127*(5), 625–631.

Broumandnia, F., Rajabpour, A., Ghodoum Parizipour, M. H., & Yarahmadi, F. (2021). Morphological and molecular identification of four isolates of the entomopathogenic fungal genus *Akanthomyces* and their effects against *Bemisia tabaci* on cucumber. *Bulletin of Entomological Research*, 1–9. DOI: https://doi.org/10.1017/S0007485321000298

Castillo, M. A., Moya, P., Hernández, E. & Primo-Yufera, E. (2000). Susceptibility of *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) to entomopathogenic fungi and their extracts. *Biological Control*, *19*(3), 274–282.

Faria, M., & Wraight, S.P. (2001). Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi. *Crop Protection*, *20*(9), 767–778.

Goettel, M.S., Koike, M., Kim, J.J., Aiuchi, D., Shinya, R., & Brodeur, J. (2008). Potential of *Lecanicillium* spp. for management of insects, nematodes and plant diseases. *Journal of Invertebrate Pathology, 98*(3), 256–261.

Kepler, R. M., Luangsa-ard, J. J., Hywel-Jones, N. L., Quandt, C. A., Sung, G.H., Rehner, S. A., Aime, M. C., Henkel, T. W., Sanjuan, T., Zare R., Chen, M. J., Li, Z. Z., Rossman, A. Y., Spatafora, J. W., Shrestha, B. (2017). A phylogenetic-based nomenclature for Cordycipitaceae (Hypocreales). *IMA FUNGUS, 8*(2), 335–353.

Kim, J. J. (2007). Influence of *Lecanicillium attenuatum* on the development and reproduction of the cotton aphid, *Aphis gossypii*. *BioControl, 52*(6), 789–799.

Kim, J. J., Goettel, M. S., & Gillespie, D. R. (2007). Potential of *Lecanicillium* species for dual microbial control of aphids and the cucumber powdery mildew fungus, *Sphaerotheca fuliginea*. *Biological Control, 40*(3), 327–332.

Kirk, P. M., Cannon, P. F., Minter, D. W., & Stalpers, J. A. (2008). *Dictionary of the fungi*. Wallingford. *UK: CABI*, 599.

Liu, B., Lan., P. M., Kao., Y. M., Tzeng, T., & Feng, C. (2003). Production of chitinase from *Verticillium lecanii* F091 using submerged fermentation. *Enzyme and Microbial Technology, 33*, 410–415.

Mirza, F. K., Yarahmadi, F., Jalal-Abadi, A. L., & Meraaten, A. A. (2020). Enzymes mediating resistance to chlorpyriphos in *Aphis fabae* (Homoptera: Aphididae). *Ecotoxicology and Environmental Safety, 206*, 111335.

Mohammed, A. A. (2018). *Lecanicillium muscarium* and *Adalia bipunctata* combination for the control of black bean aphid, Aphis *fabae*. *BioControl, 63*(2):277–287.

Mohammadi, Z., Rasekh, A., Kocheli, F., & Habibpour. B. (2015). The foraging behavior of a sexual population of *Lysiphlebus fabarum* in different host instars of *Aphis fabae* Scopoli. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture), 37*(4): 103–114 (In Farsi with English summary).

Ortiz-Urquiza, A., & Keyhani, N.O. (2013). Action on the surface: entomopathogenic fungi versus the insect cuticle. *Insects, 4*(3), 357–374.

Osborne, L.S., & Landa, Z. (1992). Biological control of whiteflies with entomopathogenic fungi. *Florida Entomologist, 75*, 456–456.

Pedigo, L.P. (2002). *Entomology and pest management*. Iowa University Press, NY.

Rashedi, A., Rajabpour, A., Rasekh, A., & Zandi-Sohani, N. (2019). Interactions between host plant, Aphis fabae, and its natural enemies, *Orius albidipennis* and *Lysiphlebus fabarum* in a tritrophic system. *Journal of Asia-Pacific Entomology, 22*(3), 847–852.

Rashedi, A., Rajabpour, A., Sohani, N. Z., & Rasekh, A. (2020). Prey stage preference and functional response of *Orius albidipennis* (Hetetroptera, Anthocoridae) to *Aphis fabae* (Homomoptera, Aphididae). *International Journal of Tropical Insect Science, 40*(1), 13–19.

Saruhan, I., Erper, I., Tuncer, C., & Akca, I. (2015). Efficiency of some entomopathogenic fungi as biocontrol agents against *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae). *Pakistan Journal of Agricultural Science, 52*(2), 273–278.

Shah, P. A., & Pell, J. K. (2003). Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Applied Microbiology and Biotechnology, 61*(5), 413–423.

Cuthbertson, A.G., Walters, K.F., & Northing, P. (2005). The susceptibility of immature stages of *Bemisia tabaci* to the entomopathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* on tomato and verbena foliage. *Mycopathologia, 159*(1), 23–29.

Ren, S.X., Ali, S., Huang, Z., & Wu, J.H. (2010). *Lecanicillium muscarium* as microbial insecticide against whitefly and its interaction with other natural enemies. *Microbiology and Microbial Biotechnology, 27*, 339–348.

© 2022 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/

Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)

45(1), Spring, 2022

doi 10.22055/ppr.2021.17246

Pathogenicity of Iranian isolates of *Akanthomyces lecanii and A. muscarius* on the black bean aphid (*Aphis fabae* Scopoli)

T. Soltani[1], F. Yarahmadi[2*], A. Rajabpour[2] and M.H. Ghoddom Parizi Pour[3]

1. M.Sc. Student of Entomology, Department of Plant Protection; Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
2. ***Corresponding Author:** Associate professor, Department of Plant Protection; Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran (yarahmadi@asnrukh.ac.ir)
3. Assistant professor, Department of Plant Protection; Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

Received: 21 October 2021 Accepted: 15 December 2021

Abstract

Background and Objective

The Black bean aphid (BBA), *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae), is an important pest of agricultural and ornamental plants. Entomopathogenic fungi are important factors in the microbiological control of pests that are considered a good alternative for chemical insecticides. Isolation of novel potential IPF and evaluation of their efficacy against pests are primary steps for achieving a successful microbiological control program. In this study, the efficacies of three Iranian isolates of *Akanthomyces lecanii* (PAL6, PAL7, and PAL8) and an Iranian isolate of *A. muscarius* (GAM5) which had been isolated from two hemipteran pests, *Pulvinaria aurantii* Cock. and *Aphis gossypii* Glover, respectively, in citrus orchards of west Mazandaran (North of Iran), were evaluated against BBA.

Materials and Methods

Mortalities of the BBA nymphs and adults caused by different conidial concentrations (10^4, 10^5, 10^6, 10^7 10^8 conidia/ mL) of each fungal isolate during other days after treatment (DAT), 1–7 DAT, were determined under laboratory conditions.

Results

All isolates were pathogenic to the aphid causing about 25% mortality. The efficiency of the isolates was not significantly different among the aphid life stages. When the isolate concentrations (up to 55%) and DAT (up to 53.13 times) increased, their effects increased significantly. The highest and lowest mortality rates were observed at concentrations 108 (12.83%) and 104 (5.86%) conidia/ mL, respectively. The highest effectiveness was recorded in seven DAT for all isolates, 15.14% mortality. At one DAT, the isolates caused about 1% mortality in the aphid population with the lowest effectiveness. The highest mortalities were observed for GAM and PAL7 isolates at six DAT, i.e., 16.83 and 16.67%, respectively. Furthermore, the lowest effectiveness was recorded for the isolates GAM and PAL7, at one DAT (<0.1% mortality), respectively.

Discussion

The isolates had some potentials for microbiological control of the BBA. Time and conidial concentrations, are the critical factors determining the efficacies of the entomopathogenic fungi. The highest effectiveness can be achieved before six DATs. When the conidial concentrations increased, the obtained mortality by the isolates was enhanced. Due to the relatively low efficacies of the EPF and a lag time for getting sufficient mortality, integrated applications of the entomopathogenic fungi with other compatible control agents with faster effects such as biorational insecticides are recommended. However, the laboratory results should be supported with field or semi-field studies before recommending applications of the entomopathogenic fungi against the BBA aphids in greenhouse or field crops.

Keywords: Hemipterans; Biological control; Bioassay; IPM; Mortality

Associate editor: M. Mehrabi-Koushki (Ph.D.)

Citation: Soltani, T., Yarahmadi, F., Rajabpour, A., & Ghoddom Parizi Pour, M. H. (2022). Pathogenicity of Iranian isolates of *Akanthomyces lecanii* and *A. muscarius* on the black bean aphid (Aphis fabae Scopoli). Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture), 45(1): 19-28. https://doi.org/ 10.22055/ppr.2021.17246