مقاله پژوهشی

علوم و تکنولوژی محیط زیست، دوره بیست و پنجم، شماره سه، خرداد ماه ۱۴۰۲(۱۰۲-۹۱)

سازگاری برخی از عصاره‌های گیاهی و آفت‌کش‌های شیمیایی با قارچ بیمارگر حشرات، *Beauveria bassiana*

نسیم عمرانی [۱]

منیژه جمشیدی [۲*]

ma.jamshidi@yahoo.com

سویل نعمت الهی [۲]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۷/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۹/۲۳

چکیده

زمینه و هدف: سازگاری عوامل کنترل بیولوژیک با آفت‌کش‌های مورد استفاده از اهمیت بالایی در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات برخوردار است. قارچ *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill یکی از بیمارگرهای حشرات است. زنده‌مانی میسیلیوم‌ها ممکن است در اثر آفت‌کش های شیمیایی تغییر کند. در این پژوهش سازگاری عصاره‌های گیاهی بومادران، *Achillea millefolium* L. و پونه، *Memtha pulegium* L.، و آفت‌کش‌های فیپرونیل، فوزالون، گوگرد و بنومیل با *B. bassiana* مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش بررسی: آزمایش در سال ۱۳۹۷ و در آزمایشگاه حشره‌شناسی دانشگاه آزاد تبریز در قالب طرح کاملا تصادفی با بررسی اثر غلظت‌های عصاره و آفت‌کش‌ها در مقادیر ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر محیط کشت روی پارامتر رشد میسیلیوم قارچ انجام شد. گیاهان مورد استفاده با استفاده از حلال متانول و استون عصاره‌گیری شد. محیط عاری از ترکیبات تیماری به عنوان شاهد در نظر گرفته شد.

یافته ها: در غلظت ۲۵۰ و ۵۰۰ میکرولیتر بر لیتر، بنومیل بیشترین اثر بازدارندگی در رشد رویشی میسیلیوم داشت. در غلظت ۷۵۰ میکرولیتر بر لیتر درصد بازدارندگی رشد میسیلیوم به صورت عصاره‌ی بومادران< عصاره پونه< سولفور و فیپرونیل< فوزالون و بنومیل بود. در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر آفت‌کش‌ها بیشترین بازدارندگی اثر را بر رشد رویشی داشتند. در هر دو گیاه بومادران و پونه رشد میسیلیوم قارچ در محیط کشت حاوی عصاره‌ی متانولی و استونی فاقد اختلاف معنی‌دار بود.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج عصاره‌های پونه، بومادران و فیبرونیل در غلظت‌های پایین ترکیبات انتخابی برای *B. bassiana* بودند. به نظر می‌رسد استفاده از این ترکیبات در غلظت مشخص در تحقیق اخیر در تلفیق با قارچ بیمارگر در برنامه‌های مدیریتی مناسب‌تر باشد.

واژه‌های کلیدی: بازدارندگی، بیمارگر حشرات، آفت‌کش، عصاره‌ی استونی، عصاره‌ی متانولی.

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد گروه گیاه پزشکی واحد تبریز دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.

۲- استادیار، گروه گیاه پزشکی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.*(مسوول مکاتبات)

J. Env. Sci. Tech., Vol 25, No. 3, July, 2023

Compatibility of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* with some plant extracts and chemical pesticides

Nasim Omrani [1]
Manizheh Jamshidi [2*]
ma.jamshidi@yahoo.com
Sevil Nematollahi[2]

Admission Date: December 14, 2023 Date Received: July 19, 2022

Abstract

Background & Objective: The compatability of biological control agents with pesticides is a central concern in integrated pest management programs. *Beauveria bassiana* (Bals.) Vull is one of the entomopathogenics fungus. The fungal vegetative growth might change due to chemical pesticides that are used for protect of plants. The aim of this study was to evaluate the compatibility of *Achillea millefolium* L. and *Metha pulegium* extracts with fipronil, phosalone, sulfur and benomyl pesticides with *B. bassiana*.

Material and Methodology: The experiment was done based on a complete randomized design at Tabriz Azad University Iran, during 2018. PDA fungal cultivation medium was amended with plant extracts and chemical pesticides at concentrations of 250, 500, 750 and 1000 µl/l and the fungal vegetative growth was evaluated. Extraction was done by using acetone and methanol as solvents. Medium without pesticide and extract was used as control treatment.

Findings: The highest inhibition in fungal mycelium development was observed in 250 and 500 µl/l of benomyl. Inhibition in fungal mycelium development in 750 µl/l was as follows: phosalone and benomyl > sulfur and fipronil >*M. pulegium* > *A. millefolium* extract. In 1000 µl/l pesticides had the highest inhibition in its development. The fungal vegetative growth showed that no significant difference between the acetonic and methanolic extracts of *A. millefolium* and *M. pulegium.*

Discussion and conclusion: The results showed that extracts of *A. millefolium*, *M. pulegium* and fipronil in low concentration were compatible whit *B. bassiana* and it seemed that using of them with the defined concentration along the Entomopathogenic fungi could be propper in management integrated program.

Keywords: Entomopathogenic, Asetonic extract, Inhibition, Methanol extract, Pesticides.

1- M.Sc. Graduate, Department of Plant Protection, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
2- Assistant Professor, Department of Plant Protection, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran.
*(*Corresponding Author*)

مقدمه

تعدد کاربرد حشره‌کش‌های شیمیایی با طیف اثر وسیع (فسفره و کاربامات) برای کنترل آفات، باعث بروز عوارض منفی زیادی در محیط زیست و موجودات غیر هدف گشته و سلامت مصرف کنندگان را به خطر انداخته است (۱). بر این اساس روی آوردن به سایر روش‌های کنترلی حائز اهمیت می‌باشد. پایه مدیریت تلفیقی آفات استفاده از روش‌های بیولوژیکی می‌باشد. کنترل بیولوژیکی حشرات آفت با استفاده از بیمارگرهای قارچی می‌تواند به عنوان یک جایگزین مناسب یا حداقل مکمل آفت‌کش‌ها مورد استفاده قرار گیرد (۲). استفاده از میکروارگانسیم‌های مفید نظیر باکتری، قارچ و یا ویروس در کنترل حشرات آفت تحت نام حشره‌کش های میکروبی طبقه‌بندی می‌شود (۴ و ۳). قارچ‌های بیمارگر یا آنتاگونیست حشرات مزیت بیشتری نسبت به سایر عوامل کنترل میکروبی دارند، زیرا آنها قادر به آلودگی تمام مراحل زندگی حشرات از جمله مرحله شفیرگی هستند (۵). به همین علت ارزیابی قارچ‌های آنتاگونیست به عنوان عوامل کنترل بیولوژیکی در بسیاری از کشورها رایج شده است (۶). قارچ‌های بیمارگر یا آنتاگونیست حشرات با داشتن ویژگی‌هایی از قبیل شدت بیمارگری زیاد، قدرت نفوذ کوتیکولی، طیف میزبانی وسیع و در عین حال بی‌خطر بودن برای انسان و جانوران اهلی جایگاه ویژه‌ای در کنترل آفات داشته و می‌تواند به‌عنوان یکی اجزای مدیریت تلفیقی آفات مورد استفاده قرار گیرد (۴).

*Beauveria*یک جنس آنامورفیک همه جازی از قارچ‌های بیمارگر بندپایان است که برخی از گونه‌های آن در کنترل بیولوژیکی آفات حشره‌ای به‌عنوان حشره‌کش‌های قارچی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۷). جدایه‌های مختلف جنس *Beauveria* توسط محققان از منابع مختلف (خاک و میزبان‌های مختلف) جداسازی و بیماریزایی آن‌ها علیه آفات مختلف آزمایش شده است (۸). قارچ Vuill (Bals.) *Beauveria bassiana* روی راسته‌های گوناگون حشرات، کنه‌ها، و سایر بندپایان بیماری ایجاد می‌کند، با وجود این بین جدایه‌های آن تخصص میزبانی قابل توجهی دیده می‌شود (۹). میزبان اصلی *B. bassiana* را حشرات راسته‌های بالپولکداران، سخت‌بالپوشان و ناجوربالان تشکیل می‌دهد اما ممکن است روی راسته‌های دوبالان و بال‌غشائیان هم بیماری ایجاد کند (۱۰). آزمایش‌های انجام شده توسط Ngumbi (2011) نشان داد که جدایه‌هایی از این قارچ قادر به کنترل صد در صد تخم ساقه‌خوار ذرت، *Chilo partellus* (Swinhoe)، بودند. قارچ *B. bassiana* برای کاهش جمعیت آفات مکنده زیادی به کار گرفته شده است و فن‌آوری تولید انبوه و فرموله کردن آن به سرعت در حال پیشرفت است (۱۱). پرورش آسان و تولید انبوه با هزینه پایین از دلایل اصلی این امر است (۱۲). تحقیقات انجام شده روی دشمنان طبیعی و حشرات سودمند از جمله کفشدوزک هفت‌نقطه‌ای، *Coccinella septempunctata* L.، سن شکارگر *Dicyphus tamaninii* Wanger و بالتوری *Chrysoperla carnea* (Stephens) نشان داد که به قارچ *B. bassiana* حساسیت ندارند (۱۳).

در سال‌های اخیر، تلاش‌های زیادی برای استفاده از قارچ بیمارگر *B. bassiana* در کنترل آفات صورت گرفته است. این قارچ با اغلب آفت‌کش‌های شیمیایی دارای سازگاری می‌باشد (۱). نشان داده شده است که قارچ *B. bassiana* در تلفیق با آفت‌کش‌های سنتتیک و یا گیاهی طیف وسیعی از آفات کلیدی مانند پسیل معمولی پسته، *Aganiscena Pistaciae* Burck.، و سفید بالک برگ نقره‌ای، *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring، را کنترل نموده است (۸). استفاده از ترکیبات حشره‌کش‌های بر پایه گیاهی از نظر کارآمدی و امنیت بیشترین توجه را در بین روش‌های مدیریتی به خود جلب کرده و آن‌ها را به آفت‌کش‌های مناسب برای کشاورزی پایدار تبدیل کرده است (۱۲). امروزه فرمولاسیون‌هایی بر پایه اسانس رزماری، دارچین و بذر چریش تولید شده و علیه آفات مختلف استفاده می‌شود (۱۴). پونه با نام علمی *Mentha pulegium* L. دارای مواد شیمیایی گوناگون با خاصیت آفت‌کشی و اثر دورکنندگی بوده و باعث کاهش میزان تولید مثل و کاهش تفریخ تخم هستند. بومادران با نام علمی *Achillea millefolium* L. یکی دیگر

از گیاهان دارای اثر آفت‌کشی است (۳). پژوهش‌های انجام شده اثرات مطلوب آفت‌کشی عصاره این گیاه را علیه آفاتی مانند برگخوار پنبه، *Spodoptera littoralis* (Boisd.)، و بید سیب‌زمینی، *Phthorimaea operculella* Zeller، اثبات کرده است (۱۵).

ترکیبات گیاهی برای موجودات غیر هدف اثرات سوء کمی دارند. ولی این گفته به معنی بی‌خطر بودن آن‌ها نیست. توجه به این موضوع و اهمیت عصاره‌های گیاهی و ناشناخته بودن تاثیر این مواد روی قارچ *B. bassiana* از یک سو و این که کاربرد قارچ‌های بیمارگر حشرات در کنترل آفات اغلب به تنهایی کافی نبوده و استفاده از آفت‌کش‌های سازگار همراه با فرمولاسیون قارچی ممکن است اثرات قارچ را بهبود بخشد (۱۶) از سوی دیگر، منجر به انجام این تحقیق شد. در این مطالعه سعی شده است میزان سازگاری برخی عصاره‌های گیاهی و آفت‌کش‌های شیمیایی رایج با قارچ *B. bassiana* بررسی شود. پرسش‌هایی که در این مطالعه پاسخ داده می‌شوند، این است که آیا این عصاره‌ها روی قارچ بیمارگر *B. bassiana* تاثیر دارند؟ مقایسه اثر عصاره‌ها نسبت به آفت‌کش‌های رایج به چه صورت است؟

روش تحقیق

تهیه‌ی جدایه‌ی قارچ *B. bassiana* و کشت آن در محیط کشت

این مطالعه در سال ۱۳۹۷ و در آزمایشگاه حشره‌شناسی دانشگاه آزاد تبریز در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. جدایه‌ی بومی قارچ *B.bassiana* با کد DEBI 007 از آزمایشگاه قارچ شناسی دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه اورمیه تهیه گردید و پس از اثبات بیمارگری آن روی *Ephestia kuehniella* L. (Lep: Pyralidae) از کنیدی‌های تشکیل شده در سطح بدن لاشه های *E. kuehniella* برای کشت در محیط PDA[1](ساخت شرکت بیولایف ایران) استفاده شد. برای تهیه‌ی محیط کشت ۹/۵ گرم از پودر PDA با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شد. فلاسک‌های حاوی محیط کشت PDA پس از اتو کلاو در دمای اتاق قرار داده شد تا دمای آن‌ها به ۴۲ تا ۴۵ درجه سلسیوس تنزل یابد. سپس در زیر هود محیط‌های حاصل درون ظروف پتری استریل به مقدار تقریبی۱۰ تا ۱۵ میلی‌لیتر ریخته شد. پس از جامد شدن محیط کشت قارچ مذکور به محیط کشت اضافه و در انکوباتور با شرایط دمایی ۲ ± ۲۵ درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی ۵ ± ۵۵ درصد و دوره‌ی روشنایی ۸ : ۱۶ نگهداری شد تا به طور کامل اسپورزایی انجام شود. پس از گذشت سه هفته، از قارچ‌های کشت شده برای انجام آزمایش استفاده شد (۱۷).

عصاره‌گیری

پس از جمع‌آوری گیاهان بومادران و پونه و تشخیص گونه عصاره‌گیری انجام شد. برای این منظور ابتدا گیاهان خشک شده با استفاده از آسیاب برقی پودر گردید. سپس۲۰ گرم از پودر گیاهی به همراه ۱۲۰ میلی‌لیتر متانول به مدت ۲۴ ساعت روی شیکر مغناطیستی با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. در ادامه با استفاده از صافی عصاره‌گیری انجام و توسط دستگاه روتاری در خلاء حلال آن جدا شد. در این آزمایش از دو نوع حلال متانول و استون برای عصاره‌گیری استفاده شد (۱۸).

بررسی برهم‌کنش قارچ و تیمارهای آزمایشی

برای بررسی سازگاری عصاره‌های متانولی و استونی استخراج شده از گیاهان پونه و بومادران و آفت‌کش‌های فیپرونیل، فوزالون، بنومیل و سولفور روی رشد میسیلیوم قارچ *B.bassiana* از روش اختلاط عصاره و آفت‌کش با محیط کشت استفاده شد. برای این منظور غلظت‌های آفت‌کش‌ها و عصاره‌های به دست آمده، در مقادیر ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر محیط کشت به درون پتری‌ها اضافه و به هم زده شد تا امولسیون یکنواخت به وجود آید. سپس اجازه داده شد که محیط‌ها جامد گردند. در ادامه از کشت‌های جوان *B. bassiana* دیسک‌های قارچی به قطر ۵ میلی‌متر توسط چوب‌پنبه سوراخ‌کن برداشته و وسط ظروف پتری حاوی محیط کشت قرار داده و اطراف پتری با پارافیلم مسدود شد. برای هر یک از غلظت‌ها ۴ تکرار در نظر

1- Potato Dexterose Agar

گرفته شد. پتری‌های مایه‌زنی شده به داخل انکوباتور با شرایط ذکر شده منتقل شد. در این آزمایش از محیط کشت بدون عصاره و آفت‌کش به عنوان شاهد استفاده شد. زمانی که سطح محیط کشت پتری‌های شاهد توسط قارچ به طور کامل اشغال شد (پس از گذشت سه هفته) اندازه‌گیری قطرهای رشد میسیلیومی هر یک از تیمارها با کولیس انجام شد. سپس درصد بازدارندگی رشد قارچ با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (۱۷).

$$IP = C-T / C.100$$

IP= درصدبازدارندگی، C= میانگین قطر هاله قارچ در شاهد و T= میانگین قطر هاله قارچ در تیمارها.

محاسبات آماری

آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی و با چهار تکرار انجام شد. تجزیه‌ی آماری داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم-افزار SPSS و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد. آزمون نرمال بودن و تبدیل داده‌ها انجام شد و در صورت معنی‌دار شدن اختلافات بین تیمارها مقایسه و گروه‌بندی میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

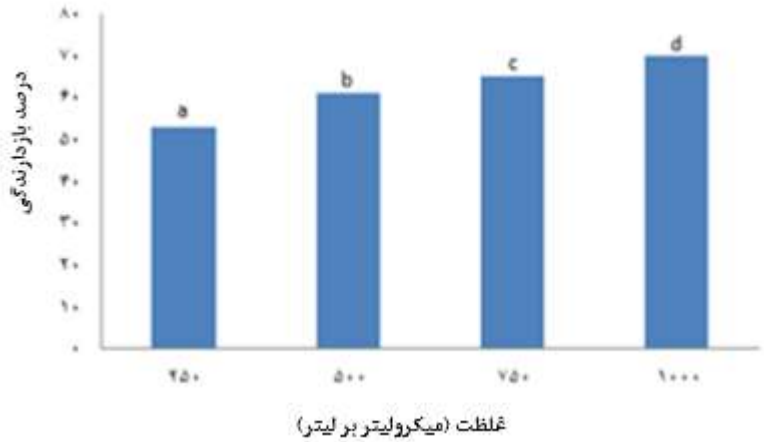
یافته‌ها

اثر بازدارندگی عصاره‌های گیاهی روی رشد قارچ *B.bassiana*

مقایسه‌ی میانگین اثر بازدارندگی عصاره‌ها روی رشد قارچ *B.bassiana* نشان داد که عصاره استونی گیاهان مورد استفاده در مقایسه با عصاره‌ی متانولی آنها اثر بازدارندگی بیشتری داشت. در مقایسه بین دو گیاه نیز عصاره‌های به دست آمده از بومادران درصد بازدارندگی کمتری روی قارچ داشت (نمودار۱). عصاره‌ی متانولی بومادران دارای کم‌ترین درصد بازدارندگی در ر شد قارچ بود. ترتیب صعودی بازدارندگی سایر عصاره‌ها به صورت عصاره‌ی استونی بومادران، عصاره‌ی متانولی پونه و عصاره‌ی استونی پونه بود. تمامی عصاره‌ها در غلظت ۲۵۰ میکرولیتر بر لیتر کمترین اثر را دا شته و با افزایش غلظت اثر بازدارندگی نیز افزایش یافت (نمودار۲).

نمودار ۱- مقایسه‌ی میانگین اثر عصاره‌ها بر بازدارندگی از رشد میسیلیوم *B. bassiana* با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن

Figure1. Mean comparison of extracts in inhibition mycelium development of *B. bassiana* using Duncan New Multiple Range Test (DNMRT)

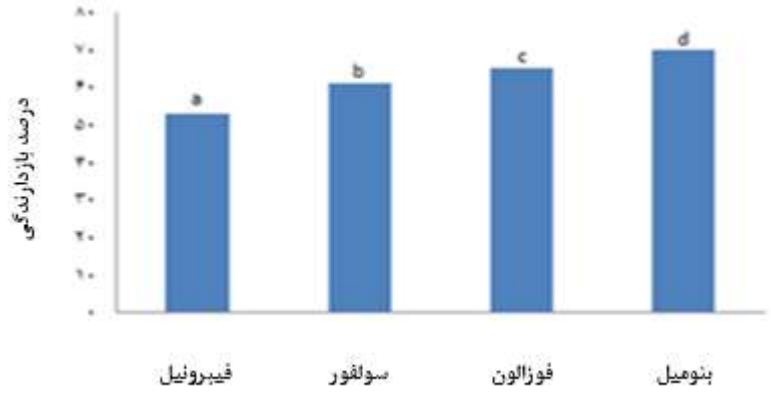


نمودار۲- مقایسه‌ی میانگین اثر غلظت‌های مختلف عصاره‌ها بر بازدارندگی از رشد میسیلیوم *B. bassiana* با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن

Figure 2. Mean comparison of different concentretions of extracts in inhibition mycelium development of *B. bassiana* using Duncan New Multiple Range Test (DNMRT)

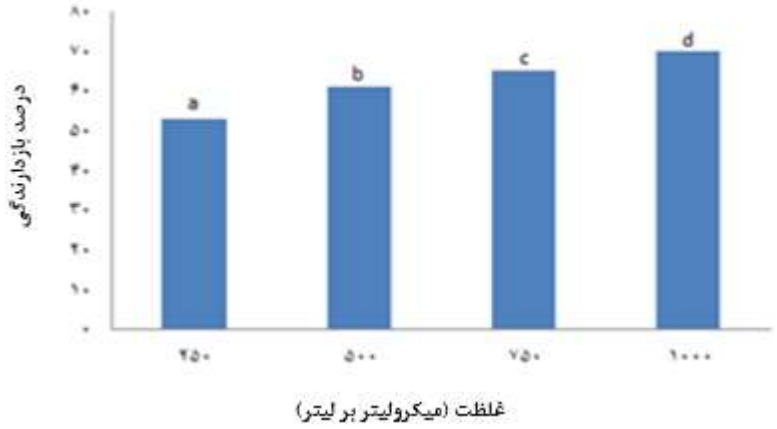
اثر بازدارندگی آفت‌کش‌ها روی رشد قارچ *B.bassiana*

در مطالعه سازگاری آفت‌کش‌های بنومیل، فوزالون، سولفور و فیپرونیل با *B. bassiana* مشخص شد فیپرونیل کم‌ترین و بنومیل بیشترین درصد بازدارندگی را در رشد میسیلیوم قارچ داشته (نمودار۳) و با افزایش غلظت درصد بازدارندگی در تمامی آفت‌کش‌ها افزایش یافت (نمودار۴).



نمودار۳- مقایسه‌ی میانگین اثر آفت‌کش‌ها بر بازدارندگی از رشد میسیلیوم *B. bassiana* با استفاده از آزمون چند دامنه-ای دانکن

Figure 3. Mean comparison of pesticides in inhibition mycelium development of *B. bassiana* using Duncan New Multiple Range Test (DNMRT)



نمودار۴- مقایسه‌ی میانگین اثر غلظت‌های مختلف آفت‌کش‌ها بر بازدارندگی از رشد میسیلیوم *B. bassiana* با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن

Figure 4. Mean comparison of different concentrations of pesticides in inhibition mycelium development of *B. bassiana* using Duncan New Multiple Range Test (DNMRT)

اثر عصاره و آفت‌کش‌ها روی رشد میسیلیوم قارچ *B. bassiana* به تفکیک غلظت

نتایج تجزیه واریانس اثر محیط کشت حاوی عصاره و آفت‌کش ها روی رشد میسیلیوم *B.bassiana* نشان داد بین تیمارهای آزمایشی در سطح احتمال پنج درصد (p< ٪۵) اختلاف معنی‌دار وجود داشت. داده‌های مربوط با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد گروه‌بندی شده و در جدول ۱ آورده شده است.

در این آزمایش غلظت ۲۵۰ میکرولیتر بر لیتر از عصاره‌های گیاهی و فیپرونیل کمترین و بنومیل بیشترین اثر بازدارندگی در رشد رویشی میسیلیوم داشت. در غلظت ۵۰۰ میکرولیتر بر لیتر عصاره بومادران کمترین و بنومیل بیشترین تاثیر را داشت. در غلظت ۷۵۰ میکرولیتر بر لیتر درصد بازدارندگی رشد میسیلیوم در تیمارهای اعمال شده به صورت عصاره‌ی بومادران< عصاره پونه و فیپرونیل< فوزالون و بنومیل بود. در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر عصاره‌های گیاهی در یک گروه بوده و کمترین اثر را بر رشد رویشی میسیلیوم داشته در حالیکه آفت‌کش‌ها در گروه دیگر قرار داشته و بیشترین اثر را بر رشد رویشی داشتند. در هر دو گیاه بومادران و پونه رشد میسیلیوم قارچ در محیط کشت حاوی عصاره‌ی متانولی و استونی فاقد اختلاف معنی‌دار بود. روند نزولی رشد میسیلیوم در محیط کشت حاوی آفت‌کش‌ها به ترتیب فیپرونیل، سولفور، فوزالون و بنومیل بود. با توجه به نتایج می‌توان چنین نتیجه گرفت که ترکیبات گیاهی سازگاری بیشتری در مقایسه با آفت‌کش‌های شیمیایی با قارچ *B.bassiana* داشتند، از طرفی کیفیت آفت‌کش‌های شیمیایی به گونه‌ای بود که کلیه غلظت‌های مورد آزمایش به غیر از غلظت ۲۵۰ میکرولیتر بر لیتر فیپرونیل برای اختلاط با قارچ *B. Bassiana* سازگاری نداشتند.

جدول۱- اثر عصاره و آفت‌کش‌های استفاده شده روی رشد میسیلیوم قارچ *B.bassiana* به تفکیک غلظت

Table 1. Effect of used extract and pesticides on mycelial growth of *B. bassiana* in different concentrations

	رشد میسیلیوم			
	غلظت (میکرولیتر عصاره‌های گیاهی و آفت‌کش در لیتر محیط کشت)			
تیمار	۲۵۰	۵۰۰	۷۵۰	۱۰۰۰
شاهد	۳۹/۳ ± ۵/۷ a	۳۹/۳ ± ۵/۷ a	۳۹/۳ ± ۵/۷ a	۳۹/۳ ± ۵/۷ a
عصاره‌ی متانولی بومادران	۲۹/۸ ± ۲/۱۸ b	۲۹/۲ ± ۶/۱ b	۱۷/۲ ± ۶/۲ b	۹/۱ ± ۹/۴ b
عصاره‌ی استونی بومادران	۲۹/۲ ± ۲/۸ b	۲۸/۱ ± ۱/۱ b	۱۷/۱ ± ۱/۱۲ b	۹/۲ ± ۱/۳ b
عصاره‌ی متانولی پونه	۲۸/۱ ± ۴/۲ b	۲۳/۲ ± ۱/۲ c	۱۳/۰ ± ۳/۵۶ c	۷/۲ ± ۵/۲ b
عصاره‌ی استونی پونه	۲۷/۱ ± ۱/۵ b	۲۲/۱ ± ۱/۱ c	۱۳/۲ ± ۱/۱ c	۷/۲ ± ۳/۱ b
فیپرونیل	۲۶/۲ ± ۲/۱۱ b	۲۱/۲ ± ۷/۳ c	۱۳/۳ ± ۸/۲ c	۵/۳ ± ۱/۳ c
سولفور	۲۲/۱ ± ۳/۱۴ c	۱۹/۲ ± ۹/۱ c	۱۳/۷ ± ۱/۲ c	۴/۲ ± ۲/۲ c
فوزالون	۲۰/۱ ± ۷/۱۲ c	۱۶/۱ ± ۱/۲ d	۱۲/۳ ± ۱/۲ d	۳/۱ ± ۱/۱ c
بنومیل	۱۴/۱ ± ۴/۲۲ d	۱۳/۲ ± ۱/۲ e	۱۱/۲ ± ۱/۲ e	۲/۲ ± ۱/۲ d

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد عصاره‌های بومادران و پونه سازگاری بهتری نسبت به آفت‌کش‌های مورد مطالعه بر روی قارچ داشتند. هر چند تفاوت سازگاری دو عصاره بومادران و پونه نزدیک بود ولی در کل عصاره بومادران سازگاری بالاتری داشت. مطالعات زیادی در ارزیابی سازگاری قارچ‌های بیمارگر حشرات با آفت‌کش‌ها انجام شده است (۲۱). بیشتر قارچ‌های بیمارگر حشرات با نفوذ از طریق کوتیکول و منافذ تنفسی حشره، به طور مستقیم حشره را مورد حمله قرار می‌دهند (۱۹). ورود قارچ به داخل هموسل بدن حشره و تشکیل ساختارهای هیفی سبب گسترش بیماری در داخل بدن و نهایت مرگ حشره می‌شود. بلافاصله بعد از مرگ میزبان و در شرایط مطلوب، هیف‌ها بر سطح لاشه ظاهر شده و فرایند تولید اسپور بر سطح میزبان اتفاق می‌افتد و کنیدیوم‌ها آزاد گشته و عامل بیماری پراکنده می‌شود (۲۰). لذا برای استفاده موفقیت‌آمیز و افزایش اثربخشی قارچ‌های بیمارگر در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات توجه به اثرات بازدارندگی ترکیبات آفت‌کش روی رشد میسیلیوم قارچ ضروری است.

بررسی‌ها نشان داده است عصاره‌های گیاهی می‌توانند جایگزین مناسبی برای حشره‌کش‌ها و علف‌کش‌های رایج امروزی باشند (۲۳ و ۲۲). عصاره‌ها و ترکیبات گیاهی به علت دارا بودن سمیت تنفسی، تماسی، دورکنندگی، ضد تغذیه‌ای و نیز ایمن بودن برای محیط زیست و انسان و به عنوان یک جایگزین مناسب آفت-کش‌های شمیایی، از جایگاه ویژه ای درکنترل آفات برخوردارند (۲۴). در مقایسه اثر عصاره‌ها مشخص شد عصاره استونی پونه قوی‌تر عمل کرده و بازدارندگی بیشتری داشت. با توجه به منابع عصاره‌ی گیاه پونه در حدود ۵۰ درصد حاوی تیمول است (۲۵). تیمول یک جزء ضد قارچی بسیار موثر در اغلب روغن‌های گیاهی است. امروزه فرمولاسیون تجاری تیمول با نام Apilife VARTM در مدیریت تلفیقی آفات استفاده می‌شود (۲۶). مطالعات پژوهشگران قبلی نشان داده است که دو عصاره‌ی گیاهی بومادران و پونه در مقایسه با آفت‌کش‌های شمیایی سازگاری بالاتری با قارچ *B. bassiana* داشت (۲۷). در مرحله زیست‌سنجی نتایج نشان داد تیمارهای آزمایشی بازدارندگی متفاوتی در رشد میسیلیوم قارچ در غلظت‌های مختلف داشتند. توجه به این مهم می‌تواند در تصمیم‌گیری‌های کنترلی بسیار با

اهمیت باشد. از طرف دیگر بررسی عوامل تاثیرگذار در رشد رویشی قارچ و در نتیجه زهرآگینی، در روشن‌شدن روند کنترل آفات می‌تواند مفید باشد. بدیهی است تعیین غلظت مناسب ترکیبات آفت‌کش و بررسی اثر آن روی عامل کنترل بیولژیک در آزمایشگاه از عوامل موثر در استفاده موفق از آفت‌کش در برنامه-های کنترل تلفیقی است. نتایج به دست آمده نشان داد که نه تنها رشد رویشی نسبت به عصاره‌ها با توجه به منشاء گیاهی و غلظت متفاوت می‌باشد بلکه این رشد بسته به حلال مورد استفاده نیز متفاوت است همسو با نتایج این تحقیق در بررسی-های انجام شده توسط جمشیدی (۱۴۰۱) عصاره‌های متانولی و استونی به دست آمده از یک گیاه دارای عملکرد یکسان نبود. است دلیل این امر به قابلیت هر حلال در استخراج طیف مختلفی از ترکیبات گیاهی بستگی دارد که بسته به قطبیت باعث می‌شود متابولیت‌های متفاوتی ازگیاهان مورد نظر استخراج شود (۱۸). متابولیت‌های ثانویه با خاصیت قارچ‌کشی اغلب از انواع ترکیبات آلی اشباع شده یا آروماتیک هستند لذا حلال‌های الکلی توانایی بیشتری نسبت به آب در استخراج این ترکیبات از بافت‌های گیاهی دارد (۲۸). چندین گزارش از تاثیر عصاره‌های گیاهی استخراج شده با حلال‌های مختلف در کارآیی قارچ *B. bassiana* وجود دارد (۱۷ و ۲۹). در مطالعات انجام شده توسط Sokmen و همکاران اثر ضد میکروبی عصاره متانولی بومادران گونه‌ی *Achillea sintenisii* روی ۱۲ گونه باکتری و دو گونه مخمر در مقلیسه با عصاره آبی و اسانس آن بیشتر بود (۳۰). در تحقیق دیگری که برای ارزیابی اثر عصاره‌ی چند گونه-ی گیاهی روی جوانه‌زنی اسپور قارچ‌های *Fusarium oxysporum* و *Penicillium digitatum* انجام شد، مشخص شد عصاره‌های الکلی این گیاهان از اثرات ضد قارچی بالاتری برخوردار بودند (۳۱).

آفت‌کش‌ها تحت تاثیر عواملی مانند فرمولاسیون و یا عوامل محیطی می‌توانند کارائی قارچ‌های بیمارگر را تحت تاثیر قرار دهند. عدم توجه به این مورد می‌تواند در کیفیت کنترل موثر واقع شود (۲۶). با توجه به اهمیت قارچ‌های بیمارگر در کنترل آفات استفاده از آفت‌کش‌های سازگار با این عوامل و به عبارت دیگر انتخابی در موفقیت برنامه‌های مدیریت تلفیقی ضروری است (۳۰). با توجه به نتایج به دست آمده آفت‌کش فیپرونیل در مقایسه با بنومیل، سولفور و فوزالون قابلیت استفاده‌ی تلفیقی بیشتری با قارچ *B. bassiana* در غلظت‌های پایین داشت. در خصوص دو آفت‌کش سولفور و فوزالون اگرچه اثرات منفی آن‌ها روی رشد رویشی قارچ بیمارگر به اندازه بنومیل نبود ولی جزء آفت‌کش‌های سازگار با قارچ محسوب نشدند. به طوری که با افزایش غلظت هر دو آفت‌کش رشد میسیلیومی بـه شـدت کاهش یافت. بنـومیل دارای بیشترین اثـر منفـی در رشـد رویشـی *B. bassiana* بود. این آفت‌کش با بیش از ۹۷ درصد بازدارندگی در رشد میسیلیوم قابلیت استفاده تلفیقی با قارچ را نداشت. مشابه چنین نتیجه‌ای در مطالعه‌ی فرجی و همکاران در سال ۱۳۹۵ حاصل گردید. آن‌ها سازگاری قارچ بیمارگر حشرات *B. bassiana* را با تعدادی از آفت‌کش‌ها مطالعه کردند و بیشترین اثر بازدارندگی رشد رویشی را در قارچ‌کش بنومیل به دست آوردند (۳۳). نتایج تحقیق حاضر مبنی بر خاصیت بازدارندگی بنومیل روی *B. bassiana* و نتایج Olmert & Kenneth مطابقت دارد (۳۴). در مورد سایر قارچ های بیمارگر نیز نتایج مشابهی وجود دارد. تلفیق قارچ *Metarhizium anisopliae* Metsch با آفت‌کش‌های مختلف اثرات متفاوتی بر رشد میسیلیوم آن داشته است (۲۰ و ۳۵).

نتیجه‌گیری کلی

براساس نتایج پژوهش حاضر و بر مبنای رشد رویشی میسیلیوم عصاره‌های گیاهی پونه، بومادران و فیبرونیل در غلظت‌های پایین به عنوان ترکیبات انتخابی برای قارچ *B. bassiana* بوده و استفاده از آن‌ها در کنترل تلفیقی با قارچ بیمارگر قابل توصیه است.

Reference

1. Khoobdel. M. Pourian. H. R. Alizadeh. M. 2019. Bio-efficacy of the indigenous entomopathogenic fungus, Beauveria bassiana in conjunction with desiccant dust to control of coleopteran

stored product pests. Journal of invertebrate pathology, Vol.168, pp.107-117.

2. Christos. G. Athanassiou Nickolas. G. Kavallieratos Christos. I. Rumbos, Demetrius. C. .2017. Influence of Temperature and Relative Humidity on the Insecticidal Efficacy of Metarhizium anisopliae against Larvae of Ephestia kuehniella (Lep: Pyralidae) on Wheat. Journal of Insect Science, Vol. 17(1), pp.1-7.
3. Nakhaie Bahrami. M. Mikani. A. Moharramipour, S. 2018. Effect of Achillea mille-folium and Teucrium polium extracts on nutritional indices and α-amylase and protease activities of Egyptian cotton leafworm, Spodoptera littoralis (Lepidoptera: Noctuidae). Journal of Crop Protection, Vol. 7, pp. 183-190.
4. Chandler, D. 2017. Basic and applied research on entomopathogenic fungi. pp. 69-89 in Lacey, L. A. (Ed) Microbial Control of Insect and Mite Pests from Theory to Practice. Elsevier Inc. UK. 461 pp.
5. Pedrini. N. 2018. Molecular interactions between entomopathogenic fungi (Hypocreales) and their insect host: perspectives from stressful cuticle and hemolymph battlefields and the potential of dual RNA sequencing for future studies. Fungal Biology, Vol. 122, pp. 538-545.
6. Khan. M.A. Ahmad. W. 2015. The Management of Spodopteran Pests using Fungal Pathogens, Sree, K.S.,Varma, A, Eds., Biocontrol of Lepidopteran Pests, Use of Soil Microbes and their Metabolites. Soil Biology, Springer. Vol. 43, pp. 123-160.
7. Lacey, L. A. 2017. Entomopathogens used as microbial control agents. pp. 3-12 in Lacey, L. A. (Ed) Microbial Control of Insect and Mite Pests from Theory to Practice. Elsevier Inc. 461 pp.
8. Ngumbi. P.M. Irungu. L.W. Ndegwa. P.N. Maniania. N.K. 2011. Pathogenicity of Metarhizium anisopliae (Metch.) Sorok. and Beauveria bassiana (Bals.) Vuill. to adult Phlebotomus duboscqi (Neveu-Lemaire) in the laboratory. Journal of Vector Borne Diseases, Vol.48, pp. 37-40.
9. Herlinda. S. 2010. Spore density and viability of entomopathogenic fungal isolates from Indonesia, and their virulence against Aphis gossypii Glover (Homoptera: Aphididae). Tropical Life Science Research, Vol. 21(1), pp. 11-19.
10. Wright. M. S. Alan. R. L. 2016. Improved mortality of the Formosan subterranean termite by fungi, when amended with cuticle-degrading enzymes or eicosanoid biosynthesis inhibitors." Folia microbiologica, Vol. 61(1), pp. 73-83.
11. Wraight. S.P. Ramos. M. E. Avery. P. B. Jaronski. S.T. Vandenberg. J.D. 2010. Comparative virulence of Beauveria bassiana isolates against lepidopteran pests of vegetable crops. Journal of Invertebrate Pathology,Vol. 103, pp. 186-199.
12. Lodhi. S. Vadnere. G. P. Sharma. V. K. Usman. M. R. 2017. Marrubium vulgare L.: A review on phytochemical and pharmacological aspects. Journal

of Intercultural Eth-nopharmacology, Vol. 6, pp. 429-452.

13. Thungrabeab. M. Tongma. S. 2007. Effect of entomopathogenic fungi, Beauveria bassiana (Balsam) and Metarhizium anisopliae (Metsch) on non-target insects. Current Applied Science and Technology,Vol. 7, pp. 8-12.
14. Miresmailli. S. Isman. M. B. 2006. Efficacy and persistence of rosemary oil as an acaricide against two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) on greenhouse tomato. Journal of Economic Entomology, Vol. 99, pp. 2015-2023.
15. Mahin Allahverdizade. N. Mohammadi. D. 2016. Bioactivity of Marrubium vulgare and Achillea millefolium leaf extracts on potato tuber moth Phthorimaea operculella Zeller. Munis Entomology and Zoology, Vol. 1, pp.114-122.
16. Ying, S. H. Feng. M. G. Xu. S. T. 2003. Field efficacy of emulsifiable suspensions of Beauveria bassiana conidia for control of Mysus persicae population on cabbage. China Journal Applied Entomology, vol. 14, pp. 545-548.
17. Samie. M.A. Alizadeh. A. Eizadi. H. 2010. Effect of some Plant Extracts and Pesticides on Entomopathogenic Fungus, Beauveria bassiana under Laboratory Conditions. Plant Protection Sdince, Vol. 41(2), pp. 327-336.
18. Jamshidi. M. 2022. Comparative effects of two tomato extract on Bracon hebetor Say. Journal of Vegetables Sciences, Spring and Summer 2022, Vol.6 (1), pp. 1-15. (In Persian)
19. Leger. R.S. Cooper. R.M. Charnley. A.K. 1991. Characterization of chitinase and chitobiase produced by the entomopathogenic fungus Metarhizium anisopliae. Journal of Invertebrate Pathology, Vol. 58(3), pp.415-426.
20. Amnuaykanjanasin. A. Jirakkakul. J. Panyasiri. C. Panyarakkit. P. Nounurai. P. Chantasingh. D. Eurwilaichitr. L. Cheevadhanarak. S. Tanticharoen. M. 2013. Infection and colonization of tissues of the aphid Myzus persicae and cassava mealybug Phenacoccus manihoti by the fungus Beauveria bassiana. BioControl, Vol. 58(3), pp.379-391.
21. Paula. A. R. Carolino. A. T. Paula. C. O. Samuels. R. I. 2011. The combination of entomopathogenic fungus Metarhizium anisopliae with the insecticide imidacloprid increases virulence against the dengue vector Aedes aegypti (Diptera: Culicidae). Parasites and Vector. Vol. 4, pp. 1-8.
22. Beltran. N. P. S. Cruz. S. R. Chávez, L. A. C. Alvarado. M. I. E. az, J. O..Mata, M. A. L.. Sánchez. C. L. D. T. J. Zavala. F. A. RíosE. M. 2015. Total Phenolic, Flavonoid, Tomatine, and Tomatidine Contents and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Extracts of Tomato Plant. International Journal of Analytical Chemistery, Vol. 20, pp. 314-321.
23. Kaplan. I. Carrillo. J. Garvey. M. Ode. P. J. 2016. Indirect plant-parasitoid interactions mediated by changes in herbivore physiology. Insect Sci, Vol. 14, pp. 112–119.
24. Malekan. N. Hatami. B. Ebadi. R. Akhavan. A. 2010. Effect of imidacloprid on the germination of

conidia and mycelial growth of Beauveria bassiana and Lecanicillium muscarium under laboratory conditions. Applied Entomology and Phytopathology, Vol.78(1), pp.113-117. (In Persian)

25. Liu. C. H. Mishra. A.K. Tan. R. X. Tange. C. Yang. H. Shen. Y.F. 2006. Repellent and insecticidal activities of essential oils from Artemisia princeps and Cinnamomum Camphora and their effect on Seed germination of Wheat and broad bean. Bioresource Technology, Vol. 97, pp.1969-1973.
26. Isman. M.B. Machial. C.M. 2006. Pesticides based on plant essential oils: From traditional practice to commercialization. In Rai M, Carpinella MC (eds.), Naturally Occurring Bioactive Compounds, Elsevier, BV., Pp. 29–44.
27. Rajendran. S. 2020. Insect Pest Management in Stored Products. Outlooks Pest Manag, vol.31, pp.24–35.
28. Abdolmaleki. M. Salari. M. Bahraminejad. S. Panjekeh. N. Abassi. S. 2008. Antifungal activity of cinnamon (Cinnamomum zelanicum) crude extracts against some phytopathogenic fungi. Iranian Journal of Plant Pathology, Vol. 44, pp. 255-26.
29. Bahrampour. M. 2008. Effect of some Plant Extracts on Beauveria bassiana in control of Anagasta kuehniella L under Laboratory Conditions. Journal of Plant Protection, Vol. 52, pp. 126-137. (In Persian)
30. Sokmen. A. Sokmen. M. Daferera. 2004. The in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil and methanol extraxts OA Achillea biebersteini Afan. (Astraceae). Phytother Res, Vol.18(6), pp. 451-6.
31. Diba. K. Shoar. M.G. Shabatkhori. M. Khorshivand. Z. 2011. Antifungal activity of alcoholic extract of Peganum harmala seeds. Journal of Medicinal Plant Research, Vol. 5(23), pp.55-64.
32. Neves. P. M. O. J. Hirose. E. Tchujo. P. T. Alcides Monio. A. Jr. 2001. Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoid insecticides. Neotropical Entomology, Vol. 30(2), pp. 263-268.
33. Faraji. S. Derakhshan Shadmehri. A. Mehrvar. A. 2016. Compatibility of entomopathogenic fungi Beauveria bassiana and Metarhizium anisopliae with some pesticides. Journal of Entomological Society of Iran, Vol. 36(2), pp. 137 - 146. (In Persian)
34. Olmert. I. Kenneth. R. G. 1974. Sensitivity of entomopathogenic fungi, Beauveria bassiana, and Verticillum sp. to fungicides and insecticides. Environmental Entomology, Vol. 3, pp.33-38.
35. Russell. C. W. Ugine. T. A. Hajek. A. E. 2010. Interaction between imidacloprid and Metarhizium brunneum on adult Asian longhorned beetles (Anoplophora glabripennis (Motschulsky)) (Coleoptera: Cerambycidae). Journal of Invertebrate Pathology, Vol. 105, pp. 305-311.