فصلنامه گیاه‌پزشکی
۱۳۹۰ - ۳ (۱) : ۱-۱۳

# ارزیابی توانایی کشندگی قارچ *Metarhizium anisopliae* در مقابل موریانه *Microcerotermes diversus* (Isoptera : Termitidae)

**امیر چراغی*، بهزاد حبیب پور**
*گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران*

## چکیده

مخرب‌ترین موریانه در استان خوزستان گونه *Microcerotermes diversus* (Isoptera : Termitidae) می‌باشد. در این پژوهش توانایی کشندگی قارچ *Metarhizium anisopliae*، جدایه سراوان (DEMI 001) در مقابل موریانه *M. diversus* در آزمون زیست‌سنجی غیرانتخابی به دو روش آغشته‌سازی کاغذ صافی و غوطه‌ورسازی موریانه‌ها در سوسپانسیون اسپور قارچ و همچنین در آزمون زیست‌سنجی انتخابی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمایش‌ها نشان داد که غلظت و زمان کشندگی در روش آغشته‌سازی مقادیر بالاتری را در مقایسه با روش غوطه‌ورسازی دارند. کمترین میزان $LC_{50}$ و $LT_{50}$ مربوط به آزمون زیست‌سنجی غیرانتخابی به روش غوطه‌ورسازی بود که به ترتیب برابر با $۳/۱\times۱۰^{۴}$ اسپور در میلی‌لیتر و ۱/۰۲ روز بودند. میزان تغذیه از کاغذ صافی تیمار شده و تیمار نشده در آزمون انتخابی به خوبی نشان داد که سوسپانسیون اسپور قارچ مورد نظر در غلظت‌های مورد استفاده در این تحقیق برای موریانه هدف دورکنندگی نداشت. در مجموع این پژوهش نشان داد که میزان کشندگی قارچ بیمارگر *M. anisopliae* در مقابل موریانه *M. diversus* با روش ارائه قارچ در جمعیت ارتباط دارد.

**واژه‌های کلیدی :** زیست‌سنجی، قارچ بیمارگر حشرات، کنترل بیولوژیک، موریانه

---

*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی : amircheraghi2009@gmail.com
تاریخ دریافت : ۹۰/۱۲/۱۱، تاریخ پذیرش : ۹۱/۹/۱۸

**مقدمه**

بررسی‌ها نشان می‌دهد که مهم‌ترین و مخرب‌ترین موریانه در استان خوزستان گونه *Microcerotermes diversus* Silvestri (Isoptera: Termitidae) می‌باشد (Habibpour, 1994). این موریانه در کشورهای ایران، عراق، امارات، کویت، عربستان سعودی و عمان انتشار دارد (Edwards & Mill, 1986) و یکی از آفات مهم نخل خرما (*Phoenix dactylifera* L.) در کشورهای ایران، عراق و عربستان سعودی است (Logan & El Bakri, 1990). این گونه در ایران از استان‌های خوزستان، بوشهر، سیستان و بلوچستان و یزد گزارش شده است (Habibpour, 1994). مدیریت معمول موریانه‌های زیرزمینی در ایران شامل استفاده از حشره‌کش‌های خاک کاربرد می‌باشد که به منظور کاهش یا حذف جمعیت جستجوگر موریانه‌ها استعمال می‌شوند (Habibpour, 2006). با این حال استفاده مداوم از موریانه‌کش‌های شیمیایی در محیط زیست نگران کننده است (Verma *et al*., 2009). کنترل بیولوژیک به عنوان یکی از روش‌های جایگزین آفت‌کش‌های موجود در کنترل موریانه‌ها محسوب می‌شود (Bayon *et al*., 2000). مطالعه بیمارگرها برای کنترل موریانه‌ها از اوایل سال ۱۹۶۵ آغاز شد (Wang & Powell, 2004). تمرکز اکثر تحقیقات روی دو گونه قارچ بیمارگر حشرات به نام‌های *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin و *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin بوده است. بیمارگری قارچ مهمترین معیار برای انتخاب و بکارگیری آن جهت کنترل میکروبی موریانه‌هاست (Wang & Powell, 2004). یکی از مشهورترین قارچ‌های بیمارگر حشرات *M. anisopliae* می‌باشد که به عنوان عامل بیماری موسکاردین سبز حشرات، قارچی مهم در کنترل بیولوژیک حشرات آفت محسوب می‌شود. قارچ مذکور پارازیت اختیاری بوده و در غیاب میزبان‌های حساس در خاک باقی مانده و وارد فاز ساپروفیتی می‌شود (Tajick Ghanbalani *et al*., 2009). تحقیقات زیادی در دنیا در زمینه کاربرد قارچ‌های بیمارگر حشرات در مقابل موریانه‌ها انجام گرفته است (Bayon *et al*., 2000; Chouvenc *et al*., 2009; Habibpour *et al*., 2011; Hoe *et al*., 2009; Krutmuang & Mekchay, 2005; Mburu *et al*., 2009; Yanagawa *et al*., 2011). با توجه به این که پژوهش‌های بسیار کمی در مورد تأثیر قارچ *M. anisopliae* روی موریانه *M. diversus* در سطح دنیا صورت گرفته است؛ این پژوهش با هدف بررسی تأثیر کشندگی قارچ ذکر شده در مقابل موریانه مورد نظر انجام گرفت.

**مواد و روش‌ها**

***جمع‌آوری موریانه***

موریانه‌ها در منطقه اهواز در فصل تابستان به وسیله تله‌های تعبیه شده در خاک، از جنس بلوک‌های چوب تجاری مورد علاقه موریانه‌ها، چوب راش (*Fagus orientalis* Lipsky)،

جمع‌آوری و به آزمایشگاه انتقال یافتند. بلوک‌های چوبی در ابعاد ۳×۶×۲۰ سانتی‌متر تهیه گردیدند. موریانه‌های کارگر بالغ در انکوباتور تاریک در دمای ۱±۲۸ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۸۵ درصد نگهداری و برای انجام آزمایش‌ها استفاده شدند.

### جدایه قارچ و تهیه سوسپانسیون اسپور قارچ

در این تحقیق از قارچ *M. anisopliae* جدایه سراوان (DEMI 001) که از سرخرطومی حنایی خرما *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier (Col.: Curculionidae) جمع‌آوری و در کلکسیون بخش تحقیقات حشره‌شناسی کشاورزی مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور وجود دارد، استفاده شد. برای کشت قارچ از محیط کشت SDA+Y[1] استفاده گردید. پتری‌های کشت در انکوباتور در دمای ۱±۲۸ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۸۵ درصد نگهداری گردیدند. قارچ‌های کشت داده شده بعد از ۲ تا ۳ هفته، اسپورزایی مناسبی داشتند و برای انجام آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفتند. سوسپانسیون اسپور قارچ با برش سطح محیط کشت از طرق روش اسکالپینگ[2] و اضافه کردن آن به ارلن حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل و ۰/۰۱ درصد توئین ۸۰[3] تهیه گردید و غلظت سوسپانسیون توسط لام نئوبار[4] تعیین شد. پیش از انجام آزمون‌های زیست‌سنجی، بیمارگری قارچ مورد نظر توسط مراحل مربوط به آزمون کخ بر روی موریانه هدف اثبات شد.

### آزمون غیرانتخابی زیست‌سنجی به روش آغشته‌سازی کاغذ صافی

در این آزمون یک کاغذ صافی واتمن[5] با قطر ۹ سانتی‌متر در پتری دیش پلاستیکی با قطر ۹ سانتی‌متر و ارتفاع یک سانتی‌متر قرار داده شد. یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون اسپور قارچ *M. anisopliae* به وسیله پیپت روی کاغذ صافی به صورت یکنواخت پخش گردید. غلظت‌های مورد استفاده $10^3$، $10^4$، $10^5$، $10^6$ و $10^7$ اسپور در میلی‌لیتر بودند که پس از انجام آزمایش‌های مقدماتی انتخاب گردیدند. سپس ۵۰ موریانه کارگر روی سطح کاغذ صافی قرار داده شد. برای هر تیمار ۴ تکرار در نظر گرفته شد. در تیمار شاهد از محلول توئین ۰/۰۱ درصد استفاده گردید. پتری دیش‌ها درون انکوباتور تاریک در دمای ۱±۲۸ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۸۵ درصد قرار داده شدند. مرگ و میرها به مدت ۱۴ روز ثبت گردیدند.

### آزمون غیرانتخابی زیست‌سنجی به روش غوطه‌ورسازی موریانه‌ها

در روش غوطه‌ورسازی ۵۰ موریانه کارگر در سوسپانسیون تهیه شده برای مدت ۱۰-۱۵ ثانیه غوطه‌ور گردیدند و سپس روی سطح کاغذ صافی واتمن با قطر ۹ سانتی‌متر در پتری

---

[1]- Sabouraud Dextrose Agar yeast extract
[2]- Scalping
[3]- Tween 80® (polysorbate monoleate)
[4]- Haemocytometer
[5]- Whatman No. 1

دیش پلاستیکی با قطر ۹ سانتی‌متر و ارتفاع یک سانتی‌متر منتقل شدند. غلظت‌های مورد استفاده و شرایط آزمون مانند آزمون شرح داده شده در بالا بودند.

***آزمون زیست‌سنجی به روش انتخابی***

در این آزمون از ۲ نیمه کاغذ صافی واتمن استفاده شد که با فاصله یک سانتی‌متری از هم در یک پتری دیش پلاستیکی قرار داده شدند. برای تهیه قطعات کاغذ صافی مورد نیاز در این آزمون، کاغذ صافی واتمن طوری از وسط برش داده شد که در مجموع یک سانتی‌متر وسط کاغذ حذف شد. یک نیمه از کاغذ صافی با آب مقطر استریل آغشته گردید و نیمه دیگر بعد از رنگ آمیزی با محلول رنگی ۰/۲۵ درصد Nile Blue، به وسیله سوسپانسیون اسپور قارچ آغشته گردید. غلظت‌های مورد استفاده $۱۰^{۳}$، $۱۰^{۴}$، $۱۰^{۵}$، $۱۰^{۶}$ و $۱۰^{۷}$ اسپور در میلی‌لیتر بودند که پس از انجام آزمایش‌های مقدماتی انتخاب گردیدند. در تیمار شاهد هر دو نیمه کاغذ صافی با آب مقطر استریل آغشته گردیدند. تعداد ۵۰ موریانه کارگر درون هر واحد آزمایشی قرار داده شد. برای هر تیمار ۴ تکرار در نظر گرفته شد. پتری دیش‌ها درون انکوباتور تاریک در شرایط ذکر شده قبلی قرار داده شدند. مرگ و میرها به مدت ۱۴ روز ثبت گردیدند. همچنین وزن کاغذهای صافی برای بررسی کاهش وزن و پی بردن به اثرات ضد تغذیه‌ای قارچ بیمارگر قبل و بعد از انجام آزمون ثبت گردید.

***تجزیه و تحلیل داده‌ها***

آزمون‌ها در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شدند. غلظت‌های کشنده ($LC_{50}$ و $LC_{90}$) و زمان مرگ و میر ($LT_{50}$ و $LT_{90}$) به وسیله آنالیز پروبیت توسط نرم‌افزار SAS(9.1) تعیین شدند. برای مقایسه اثر غلظت سوسپانسیون اسپور قارچ روی موریانه مورد نظر از روش آنالیز واریانس (ANOVA) و جهت مقایسه میانگین از آزمون LSD در سطح ۵٪ استفاده شد. نمودارها به وسیله نرم افزار Excel 2007 رسم گردیدند.

## نتایج

با توجه به جدول یک میزان $LC_{50}$ و $LC_{90}$ برای آزمون زیست‌سنجی غیرانتخابی به روش آغشته‌سازی کاغذ صافی با سوسپانسیون اسپور قارچ، به‌ترتیب برابر $۱/۲\times۱۰^{۵}$ و $۲/۶\times۱۰^{۶}$ اسپور در میلی‌لیتر به دست آمدند. همچنین میزان $LC_{50}$ و $LC_{90}$ برای آزمون زیست‌سنجی غیرانتخابی به روش غوطه‌ورسازی موریانه‌ها در سوسپانسیون اسپور قارچ، به‌ترتیب برابر $۳\times۱۰^{۴}$ و $۴\times۱۰^{۵}$ اسپور در میلی‌لیتر بدست آمدند. با توجه به جدول دو کمترین میزان $LT_{50}$ و $LT_{90}$ در آزمون زیست‌سنجی غیرانتخابی در غلظت $۱۰^{۷}$ اسپور در میلی‌لیتر بدست آمد. این مقادیر برای روش آغشته‌سازی به‌ترتیب برابر با ۳/۶۴ و ۵/۹۸ روز و برای روش غوطه‌ورسازی به‌ترتیب

برابر با ۱/۰۲ و ۱/۰۳ روز بدست آمدند. جدول یک همچنین مقادیر $LC_{50}$ و $LC_{90}$ برای آزمون زیست‌سنجی انتخابی تاثیر سوسپانسیون اسپور قارچ *M. anisopliae* در مقابل موریانه‌های کارگر *M. diversus* را نشان می‌دهد. میزان $LC_{50}$ برابر با $۱/۷\times۱۰^{۷}$ اسپور در میلی‌لیتر و $LC_{90}$ برابر با $۱/۱\times۱۰^{۱۰}$ (اسپور در میلی‌لیتر) به‌دست آمد. همچنین مطابق جدول دو در آزمون انتخابی با توجه به این که تنها در غلظت $۱۰^{۷}$ اسپور در میلی‌لیتر میانگین کل مرگ و میر بیشتر از ۵۰ درصد بود بنابراین تنها در این غلظت مقادیر $LT_{50}$ و $LT_{90}$ بدست آمدند.

**جدول ۱**- مقادیر غلظت‌های کشنده برای آزمون‌های زیست‌سنجی غیرانتخابی به روش آغشته‌سازی و غوطه‌ورسازی و آزمون زیست‌سنجی انتخابی

**Table 1.** The values of lethal concentrations for no- choice bioassay test by method of smeary and immersion methods and choice bioassay test

| Bioassay tests | $LC_{50}$ (95% Fiducial limits) | $LC_{90}$ (95% Fiducial limits) | $X^2$ | Estimate ±SE |
|---|---|---|---|---|
| **Non-choice (Smeary)** | $1.2\times10^{5}$ ($6\times10^{4} – 2.2\times10^{5}$) | $2.6\times10^{6}$ ($1.1\times10^{6} – 9.8\times10^{6}$) | 74 | 0.94±0.11 |
| **Non-choice (Immersion)** | $3\times10^{4}$ ($1.6\times10^{4} – 5.4\times10^{4}$) | $4\times10^{5}$ ($1.9\times10^{5} – 1.1\times10^{6}$) | 71 | 1.5±0.14 |
| **Choice** | $1.7\times10^{7}$ ($4.3\times10^{6} – 2.2\times10^{8}$) | $1.1\times10^{10}$ ($6.3\times10^{8} – 5.8\times10^{12}$) | 68 | 0.45±0.07 |

- مقادیر $LC_{50}$ و $LC_{90}$ بر حسب اسپور در میلی‌لیتر هستند.

- $LC_{50}$ and $LC_{90}$ values are based on spores per ml.

**جدول ۲**- مقادیر زمان کشندگی بدست آماده برای آزمون‌های زیست‌سنجی غیرانتخابی به روش آغشته‌سازی و غوطه‌ورسازی و آزمون زیست‌سنجی انتخابی

**Table 2.** Lethal time values to get ready for non- choice bioassay test by smeary and immersion methods and choice bioassay test.

| Bioassay tests | Concentration | $LT_{50}$ (95% Fiducial limits) | $LT_{90}$ (95% Fiducial limits) | $X^2$ | Estimate ± SE |
|---|---|---|---|---|---|
| **Non-choice (Smeary)** | $10^{6}$ | 5.26 (4.66 – 5.82) | 13 (11.34 – 15.62) | 53.6 | 3.26 ± 0.27 |
| | $10^{7}$ | 3.64 (3.51 – 3.77) | 5.98 (5.75 – 6.25) | 40.4 | 5.95 ± 0.24 |
| **Non-choice (Immersion)** | $10^{5}$ | 4.5 (3.64 – 5.25) | 17.96 (14.16 – 26.1) | 52.2 | 2.13 ± 0.24 |
| | $10^{6}$ | 1.71 (1.53 – 1.87) | 3.12 (2.94 – 3.34) | 43.1 | 4.93 ± 0.41 |
| | $10^{7}$ | 1.02 (1.01 – 1.31) | 1.03 (1.02 – 1.45) | 41.4 | 5.87 ± 0.36 |
| **Choice** | $10^{7}$ | 8.76 (7.31 – 11) | 72 (34 – 230) | 32.2 | 1.4 ± 0.21 |

- مقادیر زمان کشندگی بر اساس روز هستند.

- Lethal time values are based on day.

با توجه به جدول سه میانگین کل مرگ و میر در روش آغشته‌سازی در غلظت‌های مختلف تفاوت معنی‌داری داشت و بیشترین میزان مرگ و میر در غلظت $۱۰^{۷}$ اسپور در میلی‌لیتر

بدست آمد که برابر با ۱۰۰٪ بود. در غلظت $10^6$ اسپور در میلی‌لیتر میانگین مرگ و میر برابر با ۸۶٪ بدست آمد که با غلظت $10^7$ اسپور در میلی‌لیتر و غلظت‌های پایین‌تر از خودش تفاوت معنی‌دار داشت. میانگین مرگ و میر در غلظت $10^3$ اسپور در میلی‌لیتر برابر با ۹/۵٪ شد که با تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار نداشت (P<۰/۰۰۰۱، F=۳۳، df=۵). همچنین با توجه به جدول سه میانگین مرگ و میر در روش غوطه‌ورسازی در غلظت‌های مختلف تفاوت معنی‌دار داشت. بیشترین میزان مرگ و میر در غلظت‌های $10^6$ و $10^7$ اسپور در میلی‌لیتر بدست آمد که برابر با ۱۰۰٪ جمعیت موجود در آزمایش بود. میانگین مرگ و میر در غلظت $10^5$ اسپور در میلی‌لیتر ۸۱/۵٪ که با غلظت‌های بالاتر و پایین‌تر از خودش تفاوت معنی‌دار داشت. میانگین مرگ و میر در غلظت $10^3$ اسپور در میلی‌لیتر برابر با ۹/۵٪ شد که با تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار نداشت (P<۰/۰۰۰۱، F=۳۴، df=۵). همچنین جدول ۳ میانگین درصد مرگ و میر موریانه‌های کارگر *M. diversus* در آزمون انتخابی تاثیر سوسپانسیون اسپور قارچ *M. anisopliae* در مقابل موریانه‌های کارگر *M. diversus* را نشان می‌دهد. بیشترین میزان مرگ و میر در غلظت $10^7$ اسپور در میلی‌لیتر به‌دست آمد که بعد از گذشت ۱۴ روز ۶۰٪ از جمعیت موریانه‌های موجود در آزمایش از بین رفتند. در غلظت‌های پایین‌تر از $10^7$ اسپور در میلی‌لیتر میزان مرگ و میر به طور مشخص کمتر از ۲۰٪ بود که تفاوت معنی‌داری با غلظت $10^7$ اسپور در میلی‌لیتر داشت. میزان مرگ و میر در تیمار شاهد پایین‌تر از سایر تیمارها بود و با آنها تفاوت معنی‌دار داشت (P <۰/۰۰۰۱، F=۲۹، df=۵).

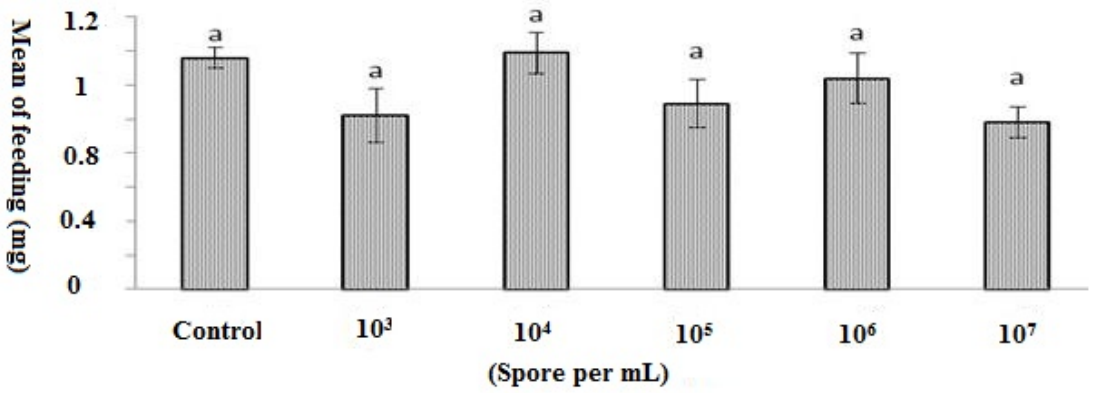
**جدول۳**- میانگین کل مرگ و میر در آزمون‌های زیست‌سنجی غیرانتخابی به روش آغشته‌سازی و غوطه‌ورسازی و آزمون زیست‌سنجی انتخابی بعد از ۱۴ روز

**Tabl 3.** Average of total mortality in no- choice bioassay test by smeary and immersion methods and choice bioassay test after 14 days.

| Bioassay tests | | Non-choice test (Smeary of filter paper) | Non-choice test (Immersion of termites) | Choice test |
|---|---|---|---|---|
| | | Mean of mortality (%) ± SE | Mean of mortality (%) ± SE | Mean of mortality (%) ± SE |
| Concentration | Control | 4.5 ± 0.63$^{e*}$ | 4 ± 0.22$^{d}$ | 3 ± 0.64$^{c}$ |
| | $10^3$ | 9.5 ± 0.85$^{e}$ | 9.5 ± 0.47$^{d}$ | 11 ± 1.25$^{b}$ |
| | $10^4$ | 20.5 ± 0.59$^{d}$ | 24.5 ± 0.95$^{c}$ | 12.5 ± 1.03$^{b}$ |
| | $10^5$ | 45.5 ± 0.56$^{c}$ | 81.5 ± 0.64$^{b}$ | 12.5 ± 0.94$^{b}$ |
| | $10^6$ | 86 ± 0.87$^{b}$ | 100 ± 0$^{a}$ | 19 ± 1.5$^{b}$ |
| | $10^7$ | 100 ± 0$^{a}$ | 100 ± 0$^{a}$ | 60 ± 1.02$^{a}$ |

* مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون LSD و در سطح ۵٪ انجام گرفت. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار هستند. مقایسه‌ها باید در هر ستون صورت بگیرند. بین ستون‌ها نباید مقایسه صورت بگیرد.

* Mean comparison LSD test was performed at the 5% level. Similar letters indicate no significant differences are. Comparisons should be carried out in each column. Between the columns cannot be compared.

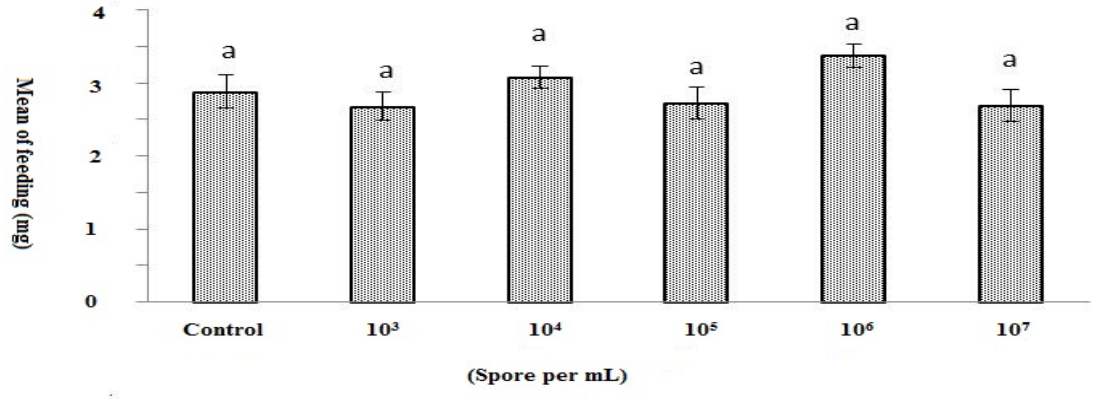



* برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح ۵٪ استفاده شد. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار هستند.

* For mean comparison, LSD test at 5% level was used. Similar letters indicate no significant differences are.

**شکل ۱**- میانگین تغذیه از کاغذ صافی تیمار شده (آبی رنگ) در آزمون زیست‌سنجی انتخابی تأثیر سوسپانسیون اسپور قارچ *M. anisopliae* در مقابل موریانه *M. diversus*

**Figure 1.** Average of feeding from treated filter paper (blue) at choice bioassay test of effect of spore suspension of *M. anisopliae* against termites *M. diversus*




* برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح ۵٪ استفاده شد. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار هستند.

* For mean comparison, LSD test at 5% level was used. Similar letters indicate no significant differences are.

**شکل۲**- میانگین تغذیه کل (تغذیه ازکاغذ صافی تیمار شده و تیمار نشده) در آزمون زیست‌سنجی انتخابی تأثیر سوسپانسیون اسپور قارچ *M. anisopliae* در مقابل موریانه *M. diversus*

**Figure 2.** average of total feeding (feeding from treated and untreated filter paper) at choice bioassays test of the effect of spore suspension of *M. anisopliae* against termite *M. diversus*

شکل یک میانگین تغذیه از کاغذ صافی تیمار شده (آبی رنگ) در آزمون انتخابی تأثیر سوسپانسیون اسپور قارچ *M. anisopliae* در مقابل موریانه *M. diversus* را نشان می‌دهد. به

طور کلی بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌دار وجود نداشت (P=۰/۲۲۷۲، F=۱/۵۵، df=۵). شکل دو میانگین تغذیه کل یعنی تغذیه از کاغذ صافی تیمار شده و کاغذ صافی تیمار نشده در آزمون انتخابی تاثیر سوسپانسیون اسپور قارچ *M. anisopliae* در مقابل موریانه‌های کارگر *M. diversus* را نشان می‌دهد. با توجه به این نمودار تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای مختلف با تیمار شاهد وجود نداشت (P=۰/۰۳۱، F=۳/۲۴، df=۵).

## بحث

مقایسه مقادیر $LC_{50}$ و $LC_{90}$ بین آزمون زیست‌سنجی غیرانتخابی به روش آغشته‌سازی کاغذ صافی و غوطه‌ورسازی موریانه‌ها و آزمون زیست‌سنجی انتخابی به خوبی نشان داد که اعداد بدست آمده به عنوان $LC_{50}$ و $LC_{90}$ در آزمون انتخابی بزرگتر از آزمون غیرانتخابی هستند. از طرفی مقایسه مقادیر $LC_{50}$ و $LC_{90}$ بین دو روش آغشته‌سازی کاغذ صافی و غوطه‌ورسازی موریانه‌ها نشان می‌دهد که مقادیر بدست آمده برای روش غوطه‌ورسازی کوچکتر از روش آغشته‌سازی کاغذ صافی هستند. این نتایج و مقایسه‌ها به خوبی بیان می‌کنند که روش ارائه اسپورهای قارچ در بین جمعیت موریانه‌ها روی کمیت‌های مختلف (غلظت و زمان کشندگی و میزان مرگ و میر) مؤثر می‌باشد. از طرفی در آزمون غیرانتخابی به روش غوطه‌ورسازی موریانه‌ها، حشره در سوسپانسیون اسپور قارچ غوطه‌ور گشته و سطح بدن آن مملو از اسپورهای قارچ بیمارگر می‌شد. این در حالی است که در آزمون غیرانتخابی به روش آغشته‌سازی کاغذ صافی، حشره روی سطحی قرار می‌گرفت که دارای اسپورهای قارچ بیمارگر بود و با فعالیت روی این سطح به مرور اسپورهای قارچ بیمارگر را دریافت می‌کرد. همین شرایط برای آزمون اتنخابی نیز وجود داشت با این تفاوت که سطح حاوی اسپورهای قارچ بیمارگر کمتر شده بود و از طرفی سطوح بدون اسپورهای قارچ بیمارگر هم در واحدهای آزمایشی وجود داشتند که امکان دریافت اسپورهای قارچ بیمارگر را کاهش می‌داد. بنابراین با کاهش احتمال دریافت اسپورهای قارچ بیمارگر، همانطور که انتظار می‌رفت اعداد بدست آمده برای $LC_{50}$ و $LC_{90}$ بزرگتر شدند. مقایسه مقادیر $LT_{50}$ و $LT_{90}$ بین آزمون غیرانتخابی به روش آغشته‌سازی کاغذ صافی و غوطه‌ورسازی موریانه‌ها و آزمون انتخابی نیز روندی مشابه با تغیرات $LC_{50}$ و $LC_{90}$ نشان داد. بیشترین میزان $LT_{50}$ و $LT_{90}$ مربوط به آزمون انتخابی بود. به‌عبارت دیگر مدت زمان لازم برای از بین رفتن ۵۰٪ یا ۹۰٪ از جمعیت موجود در آزمایش در آزمون انتخابی بیشتر از آزمون‌های غیرانتخابی بود. به عنوان مثال میزان $LT_{50}$ در غلظت $10^7$ اسپور در میلی‌لیتر در آزمون غیرانتخابی به روش غوطه‌ورسازی موریانه‌ها برابر با ۱/۰۲ روز، در آزمون غیرانتخابی به روش آغشته‌سازی کاغذ صافی برابر با ۳/۶۴ روز و در آزمون انتخابی برابر با ۸/۷۶ روز شد. اختلاف مقدار $LT_{50}$ در آزمون غیرانتخابی به روش غوطه‌ورسازی موریانه‌ها با آزمون

انتخابی در غلظت $۱۰^{۷}$ اسپور در میلی‌لیتر حدود ۷/۷۴ روز بود. شاید مهمترین عاملی که در اینجا به عنوان دلیل این اختلافات بتوان ذکر کرد همان تفاوت در روش ارائه اسپورهای قارچ در بین جمعیت موریانه‌های موجود در آزمایش باشد. توجه به مقایسه میانگین مرگ و میر در آزمون غیرانتخابی به دو روش آغشته‌سازی کاغذ صافی و غوطه‌ورسازی موریانه‌ها و آزمون انتخابی نشان می‌دهد که تفاوت زیادی در میزان مرگ و میر موریانه‌ها در یک غلظت مشخص وجود دارد. بطور مثال در غلظت $۱۰^{۶}$ اسپور در میلی‌لیتر در آزمون غیرانتخابی به روش غوطه‌ورسازی موریانه‌ها، میزان مرگ و میر برابر با ۱۰۰٪ بود. در حالی که در آزمون غیرانتخابی به روش آغشته‌سازی کاغذ صافی، در غلظت $۱۰^{۶}$ اسپور در میلی‌لیتر این میزان برابر با ۸۶٪ بود. میزان تلفات در آزمون انتخابی در غلظت $۱۰^{۶}$ اسپور در میلی‌لیتر بسیار کمتر از دو روش قبل و برابر با ۱۹٪ بود. حداکثر میزان مرگ و میر در آزمون انتخابی برابر با ۶۰٪ بود که در غلظت $۱۰^{۷}$ اسپور در میلی‌لیتر اتفاق افتاد. این درحالی است که در همین غلظت و در هر دو روش مربوط به آزمون غیرانتخابی میزان مرگ و میر برابر با ۱۰۰٪ بود. بنابراین روش ارائه قارچ بیمارگر در بین جمعیت حشرات از لحاظ میزان تلفات دارای اهمیت می‌باشد و آزمایش‌ها باید به گونه‌ای طراحی شوند که جنبه کاربردی داشته و به شرایط طبیعی نزدیکتر باشند. مقایسه میانگین تغذیه (تغذیه از کاغذ صافی تیمار شده و تغذیه کل) در آزمون انتخابی تفاوت معنی‌داری در بین تیمارهای مختلف را نشان نداد. در واقع این آزمون به خوبی نشان داد که سوسپانسیون اسپور قارچ مورد نظر در غلظت‌های مورد استفاده در این تحقیق برای موریانه هدف دورکنندگی نداشت. Bayon *et al.* (2000) در تحقیقی که در مورد موریانه *Reticulitermes santonensis* Feytaud (Iso.: Rhinotermitidae) و قارچ‌های بیمارگر *M. anisopliae* و *B. bassiana* انجام دادند بیان داشتند که مصرف کاغذهای تیمار شده و تیمار نشده تفاوت معنی‌داری نشان نداد و قارچ‌ها برای موریانه دورکننده نبودند. نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیق آنها مطابقت داشت. Krutmuang & Mekchay (2005) بیمارگری قارچ *M. anisopliae* را در مقابل موریانه‌های *Coptotermes* sp. و *Microcerotermes* sp. مورد بررسی قرار دادند. آنها بیان داشتند درصد مرگ و میر موریانه‌ها به غلظت سوسپانسیون اسپور قارچ و جدایه *M. anisopliae* بستگی دارد. نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیق این محققان مطابقت داشت. آنها همچنین اضافه کردند کنترل بیولوژیک به وسیله قارچ‌های بیمارگر نوید جایگزینی کنترل شیمیایی را برای موریانه‌های زیرزمینی داده است. کنترل بیولوژیک بوسیله بیمارگرهای قارچی ضمن دوام و پایداری بیشتر هیچگونه خسارتی را به محیط زیست و موجودات غیر هدف وارد نمی‌کند. *M. anisopliae* یکی از چندین عامل طبیعی است که برای کنترل طیف وسیعی از حشرات از طریق نفوذ مستقیم به درون کوتیکول میزبان عمل می‌کند. Mburu *et al.* (2009) ارتباط بین بیمارگری و دورکنندگی را در مورد جدایه‌های قارچ‌های بیمارگر

*M. anisopliae* و *B. bassiana* را در مقابل موریانه *Macrotermes michaelseni* Sjostedt (Iso.: Termitidae) بررسی کردند. آنها بیان داشتند که واکنش موریانه‌ها در برابر قارچ‌ها ارتباط مستقیمی با میزان خطر قارچ‌ها برای آنها دارد. این موضوع‌ها می‌توانند در مطالعات بعدی در شرایط آزمایشگاهی و صحرایی در مورد موریانه *M. diversus* نیز مورد بررسی قرار گیرند. Chouvenc *et al*. (2009) حساسیت ۷ گونه موریانه را به قارچ بیمارگر *M. anisopliae* بررسی کردند. آنها بیان کردند تنوع زیادی بین حساسیت گونه‌های مختلف به قارچ بیمارگر ذکر شده وجود دارد و دلیل آن را مکانیسم‌های مقاومتی متفاوت در بین گونه‌های مختلف دانستند. بنابراین توجه به انتخاب جدایه قارچ بیمارگر و حساسیت موریانه هدف به آن، دارای اهمیت می‌باشد. Hoe *et al*. (2009) در تحقیقی که در مورد تأثیر قارچ *M. anisopliae* روی موریانه *Coptotermes curvignathus* Holmgren (Iso.: Rhinotermitidae) انجام دادند بیان کردند این قارچ قابلیت توسعه به عنوان آفت‌کش زیستی را برای کنترل موریانه *C. curvignathus* دارد. نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیق آنها مطابقت داشت. Yanagawa *et al*. (2011) مطالعه‌ای را در مورد تغییرات رفتاری در موریانه زیرزمینی *C. formosanus* Shiraki که با ۶ جدایه از قارچ‌های *M. anisopliae*، *B. brongniartii* (Saccardo) Petch و *Isaria fumosorosea* Wize تلقیح شده بودند انجام دادند. مطالعات قبلی بیشتر روی تغییر رفتار موریانه‌ها در مقابل بیمارگرهایی با بیمارگری بالا تمرکز داشتند. اما ایشان ۶ جدایه از قارچ‌های بیمارگر حشرات، که دارای سطوح بیماریزای متفاوت بودند را انتخاب کردند. آنها بیان داشتند که رفتارهای جلوگیری کننده و بازدارنده[1] موریانه‌ها ارتباطی با بیمارگری قارچ بیمارگر ندارد در حالی که بیمارگری قارچ بیمارگر با میزان انتقال افقی در جمعیت ارتباط دارد. بنابراین در انتخاب جدایه قارچ بیمارگر باید به این مسئله توجه کرد. به طور کلی این پژوهش نشان می دهد که باید در مورد روش ارائه قارچ در بین جمعیت موریانه تصمیم‌گیری درستی صورت گیرد. هر اندازه میزان تماس قارچ بیمارگر با موریانه‌ها بیشتر باشد به همان نسبت کارآیی آن در کنترل موریانه‌ها افزایش می‌یابد. این مسئله به خوبی از مقایسه نتایج حاصل از این پژوهش مشخص می‌شود. همچنین مشخص گردید که قارچ *M. anisopliae* روی موریانه *M. diversus* تأثیرگذار بوده و قابلیت توسعه در مدیریت تلفیقی این آفت را دارد. بنابراین باید سعی شود که در برنامه‌های تحقیقاتی آینده به جایگاه و نقش قارچ‌های بیمارگر حشرات برای کنترل موریانه‌ها بیشتر توجه شود؛ تا ضمن کاربردی کردن آنها، در زمینه کاهش مصرف سموم شیمیایی نیز قدم مؤثری برداشته شده باشد.

[1]- Pathogen- prevention behaviors

## سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به خاطر فراهم آوردن بخشی از امکانات مالی و اجرایی این تحقیق صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

## منابع

Bayon, I.L., Ansard, D., Brunet, C., Girardi, S. & Paulmier, I. 2000. *Biocontrol of Reticulitermes santonensis by entomopathogenic fungi improvement of the contamination process*. The International Research Group on Wood Protection, IRG/WP/DOC 00-10359.

Chouvenc, T., Su, N.Y. & Robert, A. 2009. Susceptibility of seven termite species (Isoptera) to the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Sociobiology*, 54(3): 723-748.

Edwards, R. & Mill, A.E. 1986. *Termites in buildings: Their biology and control*. Rentokil Limited, London.

Habibpour, B. 1994. *Termites (Isoptera) fauna, economic importance and their biology in Khuzestan, (Iran).* M.Sc. Thesis, College of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran.

Habibpour, B. 2006. *Laboratory and field evaluation of bait-toxicants for suppression of subterranean termite populations in Ahvaz*. Ph. D. Thesis, College of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran.

Habibpour, B., Cheraghi, A. & Mossadegh, M.S. 2011. Evaluation of cellulose substrates treated with *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin as a biological control agent against the termite *Microcerotermes diversus* Silvestri (Isoptera: Termitidae). *Journal of Entomological & Acarological Research*, 43(2): 269-275.

Hoe, P.K., Bong, C.F.J., Jugah, K. & Rajan, A. 2009. Evaluation of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycete) isolates and their effects on subterranean termite Coptotermes curvignathus (Isoptera: Rhinotermitidae). *American Journal of Agricultural & Biological Science*, 4(4): 289-297.

Krutmuang, P. & Mekchay, S. 2005. Pathogenicity of entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* against termites. *Conference on International Agricultural Research for Development*, 11-13 October, Tropentag.

Logan, J.W.M. & El Bakri, A. 1990. Termite damage to date palms (*Phoenix dactylifera* L.) in Northern Sudan with particular reference to the Dongola District. *Tropical Science*, 30: 95-108.

Mburu, D.M., Ochola, L., Maniania, N.K., Njagi, P.G.N., Gitonga, L.M., Ndungu, M.W., Wanjoya, A.K. & Hassanali, A. 2009. Relationship between virulence and repellency of entomopathogenic isolates of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to the termite *Macrotermes michaelseni*. *Journal of Insect Physiology*, 55(9): 1-7.

Tajick Ghanbalani, M.A., Asgharzadeh, A., Hadizadeh, A.R. & Mohammadi Sharif, M. 2009. A quick method for *Metarhizium anisopliae* isolation from cultural soils. *American Journal of Agriculture & Biological Science*, 4(2): 152-155.

Verma, M., Sharma, S. & Prasad, R. 2009. Biological alternatives for termite control: A review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 63: 959-972.

Wang, C. & Powell, J.E. 2004. Cellulose bait improves the effectiveness of *Metarhizium anisopliae* as a microbial control of termites (Iso.: Rhinotermitidae). *Biological Control*, 30: 523-529.

Yanagawa, A., Fujiwara-Tsujii, N., Akino, T., Yoshimura, T. & Yanagawa, T. 2011. Behavioral changes in the termite, *Coptotermes formosanus* (Isoptera), inoculated with six fungal isolates. *Journal of Invertebrate. Pathology*, 107(2): 100-106.