

بررسی بیماری قارچ *Metarhizium anisopliae* بر روی شته سبز هلو *Myzus persicae*

سلیمان امیری^{۱*}، زهرا شریفی^۲، ساناز گلجانیان^۱ و زینب سادات مشرعی^۳

۱- پژوهشگر گروه میکروبیولوژی کاربردی، سازمان جهاد دانشگاهی تهران.

۲- فارغ تحصیل کارشناسی ارشد، دانشگاه شهید بهشتی تهران.

۳- مربی گروه میکروبیولوژی کاربردی، سازمان جهاد دانشگاهی تهران.

*مسئول مکاتبه s.amiri.microbiology@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۴/۶/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۵/۶/۳۱

چکیده

یکی از مشهورترین قارچ‌های بیماری‌گر حشرات، *Metarhizium anisopliae* می‌باشد که در خاک وجود داشته و از قابلیت بیمار کردن آفات گیاهی و جانوری برخوردار می‌باشد. شته‌ی سبز هلو (*Myzus persicae*) در کلیه‌ی مناطق ایران وجود داشته و به درختان هلو، مرکبات، سبزیجات و گیاهان زینتی گلخانه‌ای خسارت می‌زند. در این مطالعه مرگ و میر شته‌ی سبز هلو توسط قارچ *Metarhizium anisopliae* مورد بررسی قرار گرفت. از دو جدایه *Metarhizium anisopliae* به نام های A3 و M1 موجود در گروه میکروبیولوژی سازمان جهاد دانشگاهی تهران استفاده شد. تست زیست‌سنجی علیه شته‌ی سبز هلو در داخل ظروف پتری ۱۸ سانتیمتری با غلظت‌های 1×10^3 ، 1×10^5 و 1×10^7 کنیدی در میلی‌لیتر در شرایط ۱۴:۱۰ ساعت تاریکی، روشنایی و دمای ۲۸ درجه‌ی سانتیگراد به مدت ۹ روز انجام گرفت. کمترین مقدار LC50 برای جدایه A3 غلظت $6/5 \times 10^5$ کنیدی در میلی‌لیتر بود و بهترین LT50 نیز برای جدایه A3 برابر با ۳/۸۲ روز در غلظت 1×10^7 کنیدی در میلی‌لیتر بود. کمترین مقدار LT50 جدایه‌ی M1 نیز در غلظت 1×10^7 برابر با ۵/۵۱ روز بود.

واژه‌های کلیدی: بیماری‌گر حشرات، زیست‌سنجی، قارچ، متاریزیوم.

مقدمه

شیمیایی وجود دارد، مانند ارگانوکلرین‌ها، یا به عنوان جایگزین موادی که در حال خارج شدن از چرخه‌ی مصرف‌اند، مانند متیل بروماید یا در جاهایی که آفت‌ها به آفت‌کش‌های مرسوم مقاوم شده‌اند، مورد استفاده قرار گیرند (کاکه و همکاران ۱۹۹۷). تاکنون بیش از ۷۵۰ گونه قارچ بیماری‌گر حشرات شناسایی شده که بیماری‌زایی آنها روی گروه‌های مختلفی از حشرات شامل سفیدبالک‌ها، شته‌ها، شپشک‌ها، سخت‌بالپوشان، بالپولکداران، راست‌بالان، کنه‌ها و همچنین نماتدها و حتی در برخی از موارد قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی به اثبات رسیده است (عابدی و دایر ۲۰۰۵). قارچ‌های بیماری‌گر حشرات بسیار متنوع می‌باشند، که مهمترین آن‌ها به جنس‌های *Lecanicillium* و *Metarhizium* (کراوس و

کنترل زیستی در طبیعت به طور خودکار انجام می‌شود. در زمانی که هجوم یک آفت باعث وارد آمدن خسارت به محصولات کشاورزی می‌گردد، می‌توان با استفاده از روش کنترل زیستی و بهره‌گیری از عوامل طبیعی، جمعیت آفت را کاهش داد (هوارث ۱۹۹۱، چیت و اینبار ۱۹۹۴، ون لنترن و همکاران ۲۰۰۳). مصرف‌کننده‌های در سراسر جهان هم عقیده‌اند که کنترل‌کننده‌های بیولوژیکی بایستی جایگزین کنترل‌کننده‌های شیمیایی شوند، ولی متأسفانه بررسی‌ها و تحقیقات بسیار اندکی در مورد میکروارگانوسم‌ها در قیاس با آنچه برای کشف آفت‌کش‌های شیمیایی جدید انجام می‌شود، صورت پذیرفته است (بات و همکاران ۲۰۰۱). عوامل کنترل زیستی قارچی می‌توانند در قسمت‌هایی که منع استفاده از آفت‌کش‌های

همکاران ۲۰۰۴، گائو و همکاران ۲۰۰۷، وگا و همکاران ۲۰۰۹).

یکی از مشهورترین قارچ‌های بیماری‌گر حشرات *Metarhizium anisopliae* Sorokin می‌باشد که قابلیت بیمار کردن آفات گیاهی و جانوری را دارد. این قارچ منجر به ایجاد بیماری موسوم به موسکاردین سبز^۱ در حشرات می‌شود (لیو و همکاران ۱۹۸۹، چراغی و همکاران ۲۰۱۲). چندین سویه از *Metarhizium* دارای تاییده EPA^۲ جهت تولید بوده و توسط شرکت‌های مختلف در حال تولید و ارائه به بازار می‌باشند. یکی از محصولات که در این زمینه در بازار وجود دارد، توسط شرکت اکوساینس آمریکا تولید شده و بیوبلاست^۳ نام دارد که سویه ای از *Metarhizium anisopliae* با قابلیت کنترل شده می‌باشد (بورگس ۱۹۹۸).

شته‌ی سبز هلو (*Myzus persicae*) در سرتاسر جهان پراکنش داشته و ایجاد خسارت میکند (سالاری و همکاران ۲۰۱۲). این آفت روی درختان هلو، گوجه، آلو، سیب، زردآلو، مرکبات و برخی گیاهان زراعی از جمله سیب زمینی، چغندر، گوجه فرنگی، توتون، رازک، گل کلم، کلم پیچ و گونه‌های مختلف غلات فعالیت کرده و خسارت وارد می‌کند. شته‌ی سبز هلو در طبیعت دارای دشمنان متعددی از جمله کفشدوزک‌ها، لارو مگس‌های سیرفید، بعضی زنبورهای پارازیت، همچنین دو نوع کنه و تعداد ۱۰ گونه قارچ بیماری‌گر می‌باشد. شته‌ها به رغم داشتن دشمنان طبیعی فراوان، ولی بخاطر زاد و ولد سریع، دشمنان طبیعی قادر به رقابت با شته‌ها نیستند (ون آمدن و هرینگتون ۲۰۰۷). استفاده بی رویه از آفت کش‌ها برای کنترل شته‌ی درخت هلو مشکلات جدی از جمله مقاومت حشره در مقابل آفت‌کش‌ها، نابودی حشرات مفید و مسمومیت گیاهان و انسان‌ها را به همراه خواهد داشت (فوستر و همکاران

۲۰۰۰). اهمیت این مسئله باعث انتخاب این آفت هدف و راهی برای کنترل آن شد.

این مطالعه با توجه به نیاز کشور و مردم به داشتن غذایی سالم، محیط سالم و ایجاد امکانی برای استفاده از کنترل کننده‌های زیستی مناسب جهت جایگزینی سموم شیمیایی و همچنین جلوگیری از خسارات ناشی از شته‌ها به درختان به خصوص درختان هلو انجام شده است. هدف اصلی این مطالعه بررسی مرگ و میر شته‌ی سبز هلو توسط جدایه‌های *Metarhizium anisopliae* موجود در بانک ذخایر میکروارگانیسم‌های گروه میکروبیولوژی سازمان جهاد دانشگاه تهران، در داخل ظروف پتری در شرایط آزمایشگاه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

سویه‌های قارچی *Metarhizium anisopliae*

سویه‌های قارچی *Metarhizium anisopliae* مورد استفاده در این مطالعه به نامهای A3 و M1 از بانک ذخایر میکروارگانیسم‌های گروه میکروبیولوژی سازمان جهاد دانشگاه تهران تهیه شد.

محیط کشت

محیط‌های کشت^۱ PDA،^۲ PDB و^۳ SDA

این محیط‌های کشت، محیط کشت عمومی قارچ‌ها بوده و از شرکت مرک تهیه شدند.

محیط نگه داری جهت استفاده روزانه از جدایه‌ها

محیط نگه داری جهت استفاده روزانه از جدایه‌ها محیط کشت PDA با غلظت‌های تغییر یافته‌ای است (جدول ۱) که جهت نگه‌داری جدایه‌ها در دمای چهار درجه‌ی سانتیگراد و استفاده روزانه از آنها به مدت شش ماه می‌باشد.

بعد از تنظیم pH محیط کشت روی شش، محیط کشت در ۱۲۱ درجه‌ی سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو و بعد از سرد شدن در پلیت ریخته می‌شود.

^۱Potato Dextrose Agar

^۲Potato Dextrose Broth

^۳Sabouraud Dextrose Agar

^۱Green muscardine

^۲Environmental Protection Agency

^۳Bio-Blast

جدول ۱- مواد لازم برای تهیه‌ی یک لیتر محیط کشت پیتون آگار تغییر یافته.

واحد (گرم یا میلی لیتر)	مواد مورد استفاده
۷۵	نشاسته سیب زمینی
۵	دگستروز
۱۵	آگار
۱۰۰۰	آب مقطر

تهیه‌ی کنیدی

برای تهیه کنیدی، سویه‌های قارچی انتخاب شده روی محیط SDA در شرایط 28°C به مدت ۱۰ روز آنکوبه گردیدند. بعد از کنیدی زایی، با استفاده از یک لام استریل سطح پلیت‌های کشت داده شده برداشته شده و به یک ارلن حاوی ۱۰۰ میلی لیتر محلول ۰/۰۲ درصد توئین ۸۰ اضافه شدند. به منظور پراکنده شدن یکنواخت کنیدی‌ها، محلول فوق به مدت پنج دقیقه توسط شیکر به هم زده شد. برای جداسازی قطعات هیف، سوسپانسیون حاصله از یک لایه پارچه سترون عبور داده شد. کنیدی‌های حاصل در دمای چهار درجه‌ی سانتیگراد جهت انجام زیست‌سنجی نگه‌داری شدند (فاگاد و همکاران ۲۰۰۵).

زیست‌سنجی تاثیر جدایه‌های قارچ بر روی شته‌ی سبز هلو

جهت این منظور برای هر واحد آزمایش تعداد ۵۰ شته‌ی سالم و بالغ انتخاب شد. این شته‌ها بر روی برگ درخت هلو در داخل یک ظرف پتری ۱۸ سانتیمتری قرار داده شدند و طبق روش شان و فنگ (۲۰۰۶) از روش اسپری نمودن یک میلی‌لیتر سوسپانسیون کنیدی جدایه‌ها در پلیت‌های حاوی شته استفاده شد. در این آزمون از غلظت‌های 1×10^3 ، 1×10^5 و 1×10^7 کنیدی در میلی لیتر که توسط لام نئوبار شمارش شده بود، استفاده گردید. داخل هر پلیت پنبه‌ای استریل و مرطوب به همراه کاغذ صافی واتمن در کف پلیت، جهت تامین رطوبت

رشد قطر پرگنه‌های جدایه‌های *Metarhizium anisopliae*

سرعت رشد کلنی طی دوره ۱۲ روزه در محیط کشت PDA در دمای 28°C اندازه‌گیری شد. بدین صورت که از قسمت حاشیه‌ای قارچ‌های خالص شده (هیف‌های در حال رشد) به وسیله لوپ پاستور استریل (که قطری برابر با پنج میلی‌متر دارد) اقدام به دیسک برداری شد. دیسک مذکور روی محیط PDA (در مرکز پلیت) کشت و در شرایط 28°C به مدت ۱۲ روز آنکوبه گردید. روزانه با استفاده از خط‌کش قطر کلنی جدایه‌های کشت داده شده اندازه‌گیری می‌شد. بدین ترتیب سرعت رشد شعاعی جدایه‌ها در مقایسه با هم در طول زمان سپری شده اندازه‌گیری شد. این آزمون با سه تکرار انجام گرفت و قطر پرگنه‌ها به صورت میانگین سه تکرار گزارش گردید (پتلامول و پراسرتسان، ۲۰۱۲).

جمع‌آوری شته‌های سبز هلو

شته‌های سبز هلو از اواخر فروردین تا اوایل خردادماه از روی گیاه میزبان (درختان هلو)، به روش برداشت با قلم مو، تکان دادن اندام گیاهی بر روی سینی سفید، بریدن اندام‌های گیاهی حاوی حشره جمع‌آوری گردید. پس از جمع‌آوری، نمونه‌ها در ظروف مخصوص با قابلیت تهویه و رطوبت مناسب به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌های جمع‌آوری شده جهت شناسایی و تایید نام علمی به دانشکده زیست‌شناسی دانشگاه تهران ارسال گردید.

مرده به یک پلیت استریل منتقل شده و از نظر رشد قارچ مورد بررسی قرار گرفتند. در تیمار شاهد، به جای سوسپانسیون کنیدی قارچ از محلول ۰/۰۲ درصد توئین ۸۰ استفاده گردید. این آزمایش با سه تکرار برای هر غلظت انجام گردید (فاگید و همکاران ۲۰۰۵ و شان و فینگ ۲۰۰۶).

برگ‌ها و نگهداری شته‌ها قرار داده شد. پلیت‌های آماده شده در دمای ۲۱ درجه‌ی سانتیگراد و شرایط ۱۴:۱۰ ساعت تاریکی: روشنایی به مدت ۹ روز تیمار شدند (شکل ۱). مرگ و میر شته‌های اسپری شده روزانه مورد بررسی قرار گرفت. شته‌هایی که قدرت تحرک نداشتند و رشد قارچها بر روی آنها مشخص بود، به عنوان شته



شکل ۱- تست زیست‌سنجی شته‌ی هلو: آزمایش در پلیت‌های شیشه‌ای ۱۸ سانتی متری با شرایط ۱۴:۱۰ ساعت تاریکی: روشنایی و دمای ۲۸ درجه‌ی سانتیگراد به مدت ۹ روز. الف) جدایه A3 با سه تکرار، ب) جدایه M1 با سه تکرار، ج) شاهد با سه تکرار.

کنیدیوفور منشعب و کنیدی‌های استوانه‌ای زنجیروار می‌باشد (شکل ۲).

نتایج رشد قطر پرگنه‌های جدایه‌های متاریزیوم

جدایه M1 در روز ششم به بیشترین قطر خود یعنی ۶۰ میلی‌متر رسید، در حالی که جدایه A3 رشد کمتری داشت و بعد از شش روز قطر آن به ۲۲ میلی‌متر رسید. قطر پرگنه‌ها در روز ۱۰ به ترتیب برای جدایه‌های M1 و A3 برابر با ۶۰ و ۴۵ میلی‌متر بود (شکل ۳).

ابراهیم و همکاران (۱۹۹۹) در مطالعه فرمولاسیون کنترل زیستی قارچ‌های بیمارگر حشرات گزارش دادند که جدایه‌های با رشد سریع تر و همچنین کشت قدیمی تر (کهنه) نسبت به محیط‌های کشت جوانتر دارای اثر قویتر

درصد تلفات مشاهده شده در سه تکرار آزمایش، با توجه به تلفات تیمار شاهد، بر اساس فرمول آبوت اصلاح و با استفاده از برنامه پروبیت LC50 (غلظت کشنده ۵۰ درصد از شته‌ها) و LT50 (زمانی که ۵۰ درصد از شته‌ها می‌میرند) محاسبه شد (آبوت ۱۹۲۵)

نتایج و بحث

مشخصات مرفولوژیکی قارچ‌های *Metarhizium anisopliae*

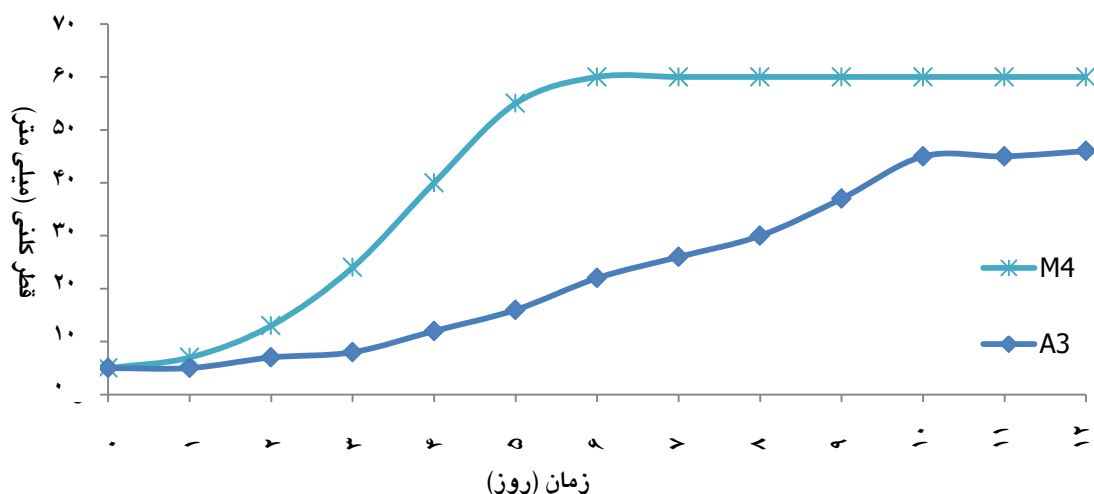
جدایه A3 دارای کلنی با سطحی برجسته و رنگ سبز تیره، کنیدیوفور خوشه‌ای همراه با اسپروودوکوم و کنیدی استوانه‌ای زنجیروار می‌باشد و جدایه M1 کلنی قهوه‌ای رنگ تا سیاه با سطح برجسته و کرکدار،

جدایه‌ها ارتباط معکوسی دارد و این نتیجه احتمالاً به خاطر مکانیسم و قدرت متفاوت جدایه‌های متاریزیوم در مرگ و میر شته‌ها می‌باشد.

و مؤثرتری بر روی شته‌ی سبزه‌لو هستند. در این مطالعه با توجه به نمودار رشد قطری جدایه‌ها مشاهده شد که درصد مرگ و میر شته‌ها با سرعت رشد کلنی



شکل ۲- تصویر کلنی جدایه‌های *Metarhizium anisopliae* استفاده شده در این تحقیق: کشت در محیط PDA و آنکوباسیون در ۲۸ درجه‌ی سانتیگراد به مدت ۱۰ روز. الف)، جدایه M1. ب)، جدایه A3.



شکل ۳- رشد قطر کلنی جدایه‌های A3 و M1. کشت در محیط PDA در شرایط ۲۸ درجه‌ی سانتیگراد به مدت ۱۲ روز.

کنیدی در میلی لیتر به ترتیب برابر با ۴/۸۱، ۴/۴۲ و ۳/۸۲ روز و مقدار $LC_{50} = 6/5 \times 10^5$ کنیدی در میلی لیتر محاسبه شد.

نتایج زیست‌سنجی بر علیه شته‌ی سبز هلو

نتایج تست زیست‌سنجی جدایه A3 با غلظت‌های 10^3 ، 10^5 و 10^7 کنیدی در میلی لیتر نشان داد که در روز هشتم تیمار ۱۰۰ درصد شته‌ها تلف شدند (جدول ۲). مقادیر LT_{50} برای غلظت‌های 10^3 ، 10^5 و 10^7

شکل ۵ شته‌های مرده را پنج روز بعد از تیمار نشان می‌دهد همانطور که مشاهده می‌شود رشد جدایه‌های قارچ بر روی اجساد شته‌ها کاملاً مشخص است.

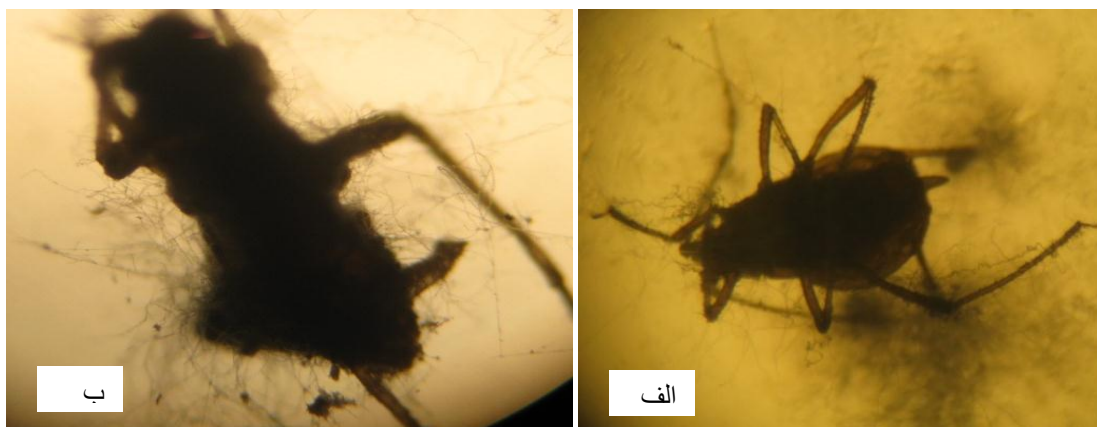
جدول ۲- در صد تلفات شته‌ی سبز هلو در تیمار جدایه‌ی A3 با غلظت‌های 1×10^3 ، 1×10^5 و 1×10^7 کنیدی در میلی لیتر. در شرایط ۱۴:۱۰ ساعت تاریکی و روشنایی و دمای ۲۸ درجه سانتیگراد در مدت ۹ روز. تیمار شاهد محلول ۰/۰۲ درصد توئین ۸۰.

جدایه A3	درصد مرگ و میر (انحراف معیار)										Lc50	LT 50
	روز	روز ۱	روز ۲	روز ۳	روز ۴	روز ۵	روز ۶	روز ۷	روز ۸	روز ۹		
(غلظت)	روز	روز ۱	روز ۲	روز ۳	روز ۴	روز ۵	روز ۶	روز ۷	روز ۸	روز ۹		
۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰		
10^7	۰	۵/۶(۰)	۱۸/۱۳(۳)	۴۳/۸(۱)	۵۶/۹(۲)	۷۵/۰(۵)	۹۰/۶(۴)	۹۶/۹(۳)	۱۰۰(۰)	۱۰۰(۰)	۳/۸۲	$10^5 \times 10^6$
10^5	۰	۱/۳(۱)	۳/۸۲(۴)	۲۸/۷(۳)	۴۵/۹(۲)	۶۲/۴(۲)	۷۵/۸(۷)	۹۳/۰(۶)	۱۰۰(۰)	۱۰۰(۰)	۴/۴۲	
10^3	۰	۱/۳(۰)	۳/۳(۱)	۱۰/۵(۲)	۲۸/۳(۳)	۴۸/۷(۲)	۷۳/۰(۱)	۹۲/۸(۵)	۱۰۰(۰)	۱۰۰(۰)	۴/۸۱	
شاهد	۰	۰/۶(۰)	۳/۳(۲)	۵/۲(۲)	۸/۵(۳)	۱۰/۵(۲)	۱۳/۱(۴)	۱۵/۰(۴)	۱۷/۶(۳)	۱۹/۹(۲)	-	-

همچنین جدایه M1 با غلظت‌های 1×10^3 ، 1×10^5 و 1×10^7 کنیدی در میلی لیتر به ترتیب در روزهای هشتم و نهم تیمار ۱۰۰ درصد شته‌ها را از بین برد (جدول ۳). مقادیر LT50 برای غلظت‌های 1×10^3 ، 1×10^5 و 1×10^7 به ترتیب برابر با ۵/۹۴، ۵/۶۳ و ۵/۵۱ روز و مقدار LC50 $9/4 \times 10^5$ کنیدی در میلی لیتر محاسبه شد.

جدول ۳- در صد تلفات شته‌ی سبز هلو در تیمار جدایه M1 با غلظت‌های 10^3 ، 10^5 و 10^7 کنیدی در میلی لیتر. در شرایط ۱۴:۱۰ ساعت تاریکی و روشنایی و دمای محیط به مدت ۹ روز. تیمار شاهد محلول ۰/۰۲ درصد توئین ۸۰.

جدایه M1	درصد مرگ و میر (انحراف معیار)										Lc50	LT50
	روز	روز ۱	روز ۲	روز ۳	روز ۴	روز ۵	روز ۶	روز ۷	روز ۸	روز ۹		
(غلظت)	روز	روز ۱	روز ۲	روز ۳	روز ۴	روز ۵	روز ۶	روز ۷	روز ۸	روز ۹		
۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰		
10^7	۰	۱/۳(۱)	۷/۱(۲)	۱۳/۰(۴)	۲۴/۷(۵)	۴۱/۶(۷)	۵۴/۶(۶)	۷۶/۰(۳)	۱۰۰(۰)	۱۰۰(۰)	۵/۵۱	$10^5 \times 10^6$
10^5	۰	۰/۷(۰)	۲/۰(۱)	۹/۳(۲)	۱۸/۰(۶)	۳۴/۰(۴)	۴۶/۰(۶)	۶۸/۷(۲)	۸۷/۳(۴)	۱۰۰(۰)	۵/۶۳	
10^3	۰	۰/۶(۱)	۲/۶(۲)	۸/۴(۱)	۱۵/۵(۲)	۲۴/۵(۶)	۳۵/۵(۱۰)	۶۲/۰(۸)	۸۶/۴(۲)	۱۰۰(۰)	۵/۹۴	
شاهد	۰	۰/۶(۰)	۱/۹(۱)	۴/۵(۲)	۷/۸(۱)	۱۱/۰(۳)	۱۳/۰(۵)	۱۶/۱(۳)	۱۸/۱(۲)	۱۸/۱(۱)	-	-



شکل ۵- تصویر تیمار شته‌ها با غلظت 1×10^7 کنیدی در میلی لیتر قارچ متاریزیوم. شرایط آزمون ۱۴:۱۰ ساعت تاریکی : روشنایی و دمای ۲۸ درجه سانتیگراد به مدت ۸ روز با بزرگنمایی $40 \times$ الف). پنج روز بعد از تیمار با جدایه A3 ب)، پنج روز بعد از تیمار با جدایه M1.

زایی، مکانیسم‌های بیوشیمیایی، فرمولاسیون، کاربرد عملی با شناخت و بررسی بر روی این قارچ‌ها آغاز گردیده است. تا به حال مطالعات گوناگونی بر روی این قارچ‌ها انجام شده که در برخی از کشورها فرمولاسیون تجاری از این قارچ‌ها نیز تهیه شده است (دی فاریا و ریت ۲۰۰۷) با توجه به اهمیت و جایگاه این قارچ در کنترل زیستی و اهمیت بسیار زیاد محصولات کشاورزی و توجه عموم به مصرف محصولاتی که کمتر در معرض مواد شیمیایی قرار گرفته‌اند، ضروری به نظر می‌رسد که تلاش‌های بیشتری در معرفی محصولات بیولوژیکی کنترل‌کننده آفت‌ها صورت گیرد، در این راستا انجام طرح‌های پژوهشی با هدف کاربردی ساختن آنها بسیار ضروری می‌باشد، همچنین با افزایش سطح آگاهی جامعه می‌توان زمینه را برای بازار مناسب مصرف این محصولات ایجاد نمود که نتیجه آن حضور بیشتر تولیدکنندگان و افزایش رقابت می‌باشد که منجر به کاهش قیمت‌ها و افزایش کیفیت محصول خواهد شد.

تیمار با جدایه A3 در غلظت‌های 1×10^3 ، 1×10^5 و 1×10^7 کنیدی در میلی لیتر موجب شد تا در روز هشتم تیمار ۱۰۰ درصد شته‌ها از بین بروند و مقادیر LT50 برای این سه غلظت به ترتیب برابر با ۴/۴۲، ۴/۸۱ و ۳/۸۲ روز بود که این نتایج نسبت به جدایه M1 (مقادیر LT50 برای سه غلظت مذکور به ترتیب برابر با ۵/۱۵، ۵/۶۳ و ۵/۹۴ روز) و نسبت به دیگر مطالعات انجام شده در این ارتباط، از قبیل مطالعه شان و فینگ (۲۰۰۶) که مقدار LT50 را ۴/۹ تا ۶/۸ روز گزارش دادند، قابل توجه می‌باشد.

در این مطالعه موثرترین جدایه، جدایه‌ی A3 بود که در روز هشتم باعث تلفات صد درصدی در شته‌ها شد. در حالی که در مطالعه شان و فینگ (۲۰۰۶) درصد مرگ و میر شته‌ها برای بهترین جدایه‌های *Metarhizium* بین ۹۱ تا ۹۸ درصد گزارش شده است.

قارچ‌های *Metarhizium anisopliae* به عنوان قارچ‌های بیماری‌زا در حشرات، نقش مهمی را در تعیین مدل‌های پایدار کنترل زیستی آفت‌ها ایفا می‌کنند (فوسترو و همکاران ۲۰۰۰). عمده مطالعات پایه در زمینه بیماری

منابع

- Abbott WS, 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*. 18: 265-267.
- Abedi A, and Dayer MS, 2005. Evaluation of the effect of the fungus *Metarhizium anisopliae*, as a biological control agent, on German cockroaches *Blattella germanica*. *Modares Journal of Medical Sciences: Pathobiology* 8(1): 31-36.
- Burges HD, 1998. Formulation of microbial biopesticides: Beneficial microorganisms, nematodes, and seed treatments. Springer Science & Business Media.
- Butt TM, Jackson C and Magan N, 2001. Fungi as biocontrol agents: Progress problems and potential, CABI.
- Cheraghi A, Habibpour B, Mossadegh MS and Sharififard M, 2012. "Horizontal Transmission of the entomopathogen fungus *Metarhizium anisopliae* in *Microcerotermes diversus* Groups." *Insects* 3(3): 709-718.
- Chet I and Inbar J, 1994. Biological control of fungal pathogens. *Applied biochemistry and biotechnology* 48(1): 37-43.
- defaria MR and Wraight SP, 2007. Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biological Control* 43(3): 237-256.
- Fagade O, Balogun S and Lomer C, 2005. Microbial control of caged population of *Zonocerus variegatus* using *Beauveria bassiana* and *Metarhizium* sp. *African Journal of Biotechnology* 4(1): 113-116.
- Foster S, Denholm I and Devonshire A, 2000. The ups and downs of insecticide resistance in peach-potato aphids (*Myzus persicae*) in the UK. *Crop Protection* 19(8): 873-879.
- Gao L, Sun MH, Liu XZ and Che YS, 2007. Effects of carbon concentration and carbon to nitrogen ratio on the growth and sporulation of several biocontrol fungi. *Mycological research* 111(1): 87-92.
- Howarth FG, 1991. Environmental impacts of classical biological control. *Annual Review of Entomology* 36(1): 485-509.
- Ibrahim L, Butt T, Beckett A and Clark S, 1999. The germination of oil-formulated conidia of the insect pathogen, *Metarhizium anisopliae*. *Mycological Research* 103(07): 901-907.
- Kaakeh W, Reid BL, Bohnert TJ and Bennett GW, 1997. Toxicity of imidacloprid in the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae), and the synergism between imidacloprid and *Metarhizium anisopliae* (Imperfect Fungi: Hyphomycetes). *Journal of Economic Entomology* 90(2): 473-482.
- Khan M and Khalil S, 1990. Biological control of aphid with a entomopathogenic fungus. *Pakistan Journal of Agricultural Research* 11(3): 174-177.
- Krauss U, Hidalgo E, Arroyo C and Piper S, 2004. Interaction between the entomopathogens *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces fumosoroseus* and the mycoparasites *Clonostachys* spp., *Trichoderma harzianum* and *Lecanicillium lecanii*. *Biocontrol Science and Technology* 14(4): 331-346.
- Liu S, Lin S and Shiau J, 1989. Microbial control of coconut leaf beetle (*Brontispa longissima*) with green muscardine fungus, *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology* 53(3): 307-314.

- Petlamul W and Prasertsan P, 2012. Evaluation of strains of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against *Spodoptera litura* on the basis of their virulence, germination rate, conidia production, radial growth and enzyme activity. *Mycobiology* 40(2): 111-116.
- Salari E, Kamal A and Reza ZD, 2012. "Comparison effect of ethanolic seed extract of *Melia Azedarach* L.(Meliaceae) against two Aphid species." *Journal of Herbal Drugs (An International Journal on Medicinal Herbs)* 2 (4): 223-228.
- Shan L and Feng M, 2006. Comparative susceptibility of *Myzus persicae* to 16 strains of *Metarhizium spp.* from different host insects and geographic regions. *Wei sheng wu xue bao Acta microbiologica Sinica* 46(4): 602-607.
- Van Emden HF and Harrington R, 2007. *Aphids as Crop Pests*, CAB International.
- Van Lenteren J, Babendreier D, Bigler F, Burgio G, Hokkanen H, Kuske S, Loomans A, Menzler-Hokkanen I, Van Rijn P and Thomas M, 2003. Environmental risk assessment of exotic natural enemies used in inundative biological control. *BioControl* 48(1): 3-38.
- Vega FE, Goettel MS, Blackwell M, Chandler D, Jackson MA, Keller S, Koike M, Maniania NK, Monzon A and Ownley BH, 2009. Fungal entomopathogens: new insights on their ecology. *Fungal Ecology* 2(4): 149-159.

Evaluation of Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* against Green Peach Aphid

S amiri¹, Z Sharifi², S Goljanian¹ and Z Motesharrei³

¹Researcher, Department of Applied Microbiology, Tehran Branch of Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR),

²Former MSc Student, Shahid Beheshti University.

³Instructor Department of Applied Microbiology, Tehran Branch of Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR),

*Corresponding author: s.amiri.microbiology@gmail.com

Received:5 Set 2015

Accepted:21 Sep 2016

Abstract

Metarhizium anisopliae, is one of the most famous soil inhabitant entomopathogenic fungi, has a virulence potential on plant pests and animals. The green peach aphid, *Myzus persicae*, exists in all over of the Iran and causes damages to peach trees, citrus, vegetables and ornamental plants grown in greenhouses. The aim of this study is checking peach aphid mortality by *Metarhizium anisopliae*. Two strains of *Metarhizium anisopliae*, namely M1 and A3 available by Department of applied microbiology of Tehran organization of Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR) were used in this study. Bioassay test against peach tree aphids was done in 18 cm diameter Petri dishes with three gradient suspensions consisted of 1×10^3 , 1×10^5 and 1×10^7 conidia ml⁻¹ and 14: 10 h of dark: light photoperiod in ambient temperature for 9 days. The least amount of LC50 determined for A3 with concentration of 6.5×10^5 conidia/ml and the best LT50 for A3 with concentration of 1×10^7 conidia ml⁻¹ was 3.82 days. The least LT50 for M1 with concentration of 1×10^7 conidia ml⁻¹ was 5.51 days.

Keywords: Entomopathogen, Bioassay, Fungi, *Metarhizium*.