

ارزیابی پاسخ رفتاری و انتقال کنیدی توسط شپشه آرد *Tribolium castaneum* در حضور قارچ بیمارگر *Beauveria bassiana* روی ارقام مختلف گندم

سعیده غایب^۱، مریم راشکی^{۱*} و اصغر شیروانی^۲

^۱ کرمان، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، پژوهشکده علوم محیطی، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، گروه زیستی

^۲ کرمان، دانشگاه شهید باهنر کرمان، دانشکده کشاورزی، گروه گیاه پزشکی

تاریخ دریافت: ۹۶/۶/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۶/۱۱/۱۶

چکیده

عوارض استفاده از سموم برای کنترل *Tribolium castaneum* شامل مقاومت این آفت و خطر بقایای آفت‌کش‌ها در محصولات انباری می‌باشد. بنابراین، یکی از اهداف این تحقیق مربوط به ارزیابی اثر شرایط بذر گندم یا حضور قارچ *B. bassiana* روی انتخاب میزبان گیاهی توسط شپشه آرد روی سه رقم چمران، چمران ۲ و پیشتاز بود (دمای 27 ± 1 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 85 ± 5 درصد و تاریکی) که نشان داد که شپشه آرد قادر به تشخیص و اجتناب از قارچ بود. همچنین، میانگین نسبت افراد بدست آمده از بذره‌های خسارت ندیده ($0/67 \pm 0/05$) به‌طور معنی‌دار بیشتر از بذره‌های خسارت دیده و بدون آلودگی قارچی ($0/33 \pm 0/05$) بود. میانگین نسبت افراد بدست آمده در بذره‌های خسارت ندیده و خسارت‌دیده با آلودگی قارچی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. ارزیابی اثر شرایط بذر گندم بر انتقال قارچ *B. bassiana* طی استقرار شپشه آرد درون بذور گندم نشان داد که انتقال قارچ *B. bassiana* طی استقرار شپشه آرد اتفاق افتاده است. طی استقرار اختلاف معنی‌دار، در میانگین اجساد شپشه آرد حاوی قارچ بدست آمده از بذره‌های خسارت‌دیده و خسارت ندیده در هر سه رقم گندم وجود داشت. بطور مثال، میانگین اجساد حاوی قارچ در رقم چمران روی بذور خسارت‌دیده و ندیده بترتیب $37/25 \pm 0/85$ و $40/75 \pm 1/25$ بود. نتایج نشان داد که باوجود اینکه شپشه آرد قادر به تشخیص حضور قارچ است ولی خسارت‌دیده بودن بذور تأثیری بر تعامل شپشه آرد و قارچ نداشت. انتقال افقی قارچ به‌خوبی در میان کلنی انجام شد که نشان‌دهنده وجود مؤثر اجساد حاوی اسپور قارچ است که می‌توانند منبع آلودگی قارچی قابل‌ملاحظه‌ای در انبارهای غلات باشند.

واژه‌های کلیدی: انتقال، پاسخ رفتاری، شپشه آرد، قارچ بیمارگر حشرات

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۳۴۳۳۷۷۶۶۱۱، پست الکترونیکی: ma_rashkigh@yahoo.com

مقدمه

مرغوبیت فرآورده‌های انباری را به‌شدت کاهش می‌دهند، بلکه مشکلات بهداشتی قابل‌توجهی را نیز برای مصرف‌کنندگان به دنبال دارند (۱۹).

در میان آفات انباری راسته سخت بال پوشان از حشرات، بیشترین خسارت را به محصولات انباری وارد می‌کند. به‌بیان‌دیگر خطرناک‌ترین دشمنان محصولات انباری شامل

آفات انباری یکی از علت‌های عمده‌ی کاهش جدی پس از برداشت محصولات کشاورزی به‌شمار می‌روند و هر ساله به محصولات انباری خسارت‌های زیادی را وارد می‌سازند. علاوه‌بر خسارات آفات، روش‌های انبارداری و بهداشت نامناسب، باعث وارد آمدن زیان‌های کمی و کیفی به محصولات انباری می‌شود در نتیجه، نه‌تنها ارزش تجاری و

گونه‌هایی از این راسته می‌باشد (۲). خانواده *Tenebrionidae* از لحاظ تعداد گونه پرجمعیت‌ترین خانواده از راسته سخت‌بال پوشان می‌باشد. عده زیادی از آن‌ها روی محصولات انباری مختلف زندگی می‌کنند و زیان‌های زیادی را به محصولات کشاورزی وارد می‌نمایند. از این خانواده شپشه آرد *Tribolium castaneum* (Herbst) (Col: Tenebrionidae) از جمله آفات انباری بسیار مهم از لحاظ نگهداری محصولات انباری به‌ویژه گندم، آرد و سبوس می‌باشد و زیان‌های بسیاری به محصولات وارد می‌کند (۲).

علاوه بر این، مقاومت در بیشتر آفات در برابر حشره‌کش‌هایی نظیر فسفین در ۴۵ کشور دنیا گزارش شده و شپشه آرد نیز به‌عنوان گونه‌ای مقاوم به فسفین گزارش شده است (۶). بنابراین، با افزایش مشکلات تدخین شونده‌های کنونی، لزوم تحقیقات برای یافتن سایر روش‌های کنترل و شناسایی ترکیبات جدید با اثرات زیست‌محیطی کمتر، آشکار می‌شود. امروزه استفاده از روش‌های غیرشیمیایی مانند تهویه، استفاده از دی‌اکسید کربن و ازن، استفاده از ارقام مقاوم، اشعه درمانی، کنترل بیولوژیک و استفاده از ترکیبات گیاهی جهت مبارزه با آفات انباری در حال گسترش است (۱).

در این تحقیق از سه رقم گندم شامل پیشتاز، چمران و چمران ۲ استفاده شد که بیشترین سطح زیرکشت را در کرمان دارد. با توجه به خسارات شدید *T. castaneum* و مقاومت آن به سموم شیمیایی و اثرات کمی و کیفی و بهداشتی به این محصولات در طی زمان انبارداری هدف از انجام این تحقیق بررسی اثر قارچ *B. bassiana* جدایی EUT116 روی پاسخ رفتاری شپشه آرد بود. بعبارت دیگر اثر اجساد حاوی اسپور قارچ بر کلونیزه کردن میزبان توسط سوسک بررسی شد. از آنجایی که بررسی این همه‌گیری به ویژگی‌های جمعیت میزبان، بیمارگر و یک مکانیزم مؤثر در انتقال میان این دو وابسته می‌باشد (۲۱).

در میان روش‌های کنترل بیولوژیک استفاده از قارچ‌های بیمارگر در کاهش جمعیت *T. castaneum* نقش دارد و از میان این بیمارگرها (Ascomycota, Hypocreales) *Beauveria bassiana* ۹/۳۳٪ بیشتر حشره‌کش‌ها و کنه‌کش‌های تولیدشده را به خود اختصاص داده است (۱۱). نه تنها خود قارچ بلکه محصولات بدست آمده از آن مانند کیتوزان مستخرج از قارچ *Aspergillus niger* برای موجودات زنده خاصیت کشندگی دارند (۳). قارچ‌های ناقص با دامنه میزبانی وسیع مانند *B. bassiana* دارای شناس بر خورد بیشتر بایک میزبان حساس در منطقه رهاشده‌اند و می‌توانند در غیاب میزبان به‌صورت زندگی

نقش حضور میزبان در حال جستجو در حال انتقال قارچ *B. bassiana* مورد مطالعه قرار گرفت. بنابراین، انتقال قارچ بیمارگر طی کلونیزه شدن میزبان توسط شپشه آرد مورد ارزیابی قرار گرفت. نشان داده شد که دم‌فنی‌ها قادر به انتقال کنیدی *B. bassiana*، *B. brongniartii* و *Metarhizium anisopliae* روی کوتیکول خود یا درون روده خود هستند و خوردن اثری بر زنده‌مانی *B. bassiana* یا *B. brongniartii* نداشت، ولی پایداری *M. anisopliae* از ۹۸/۸٪ تا ۵۴٪ کاهش یافت (۱۰). انتقال مستقیم بین افراد آلوده و غیرآلوده دارای تغییر کمتر و کارآمدی بیشتری

قرارگرفت و به آنها اجازه داده شد به مدت هفت روز تخم‌ریزی کنند. پس از هفت روز با الک کردن تمامی ماده‌ها حذف شدند. نتایج ۱-۷ روزه بدست آمده برای تمامی آزمایش‌ها استفاده شدند.

کشت قارچ بیمارگر *B. bassiana* در این تحقیق از قارچ *B. bassiana* جدایه EUT116 استفاده شد و محیط کشت مناسب برای آن Sabouraud Dextrose Agar (SDA) به علاوه مخمر بود. جهت احیای قارچ (بالا بردن درصد جوانه‌زنی)، درکشت قارچ مقداری از اسپور قارچ را روی محیط کشت قراردادده و پس از بستن درب آن با پارافیلیم به مدت دو هفته در ژرمنیتور قراردادده شد. تمام مراحل کشت در زیر هود لامینار در شرایط استریل انجام شد. روزانه پتری‌های مذکور بررسی شدند تا در صورت وجود هر نوع آلودگی حذف شدند. بعد از حدود دو هفته از زمان کشت که اسپورزایی به‌خوبی انجام شد ظروف پتری بدون درب به مدت ۲۴ ساعت زیر هود قراردادده شدند به‌طوری‌که شیشه‌های هود به‌طور کامل با پلاستیک سیاه پوشانده شده بود. برای جلوگیری از تأثیر نور روی اسپور قارچ، زیرا بیمارگری و قدرت جوانه‌زنی را کم می‌کند. پس از خشک شدن محیط کشت قارچ‌ها با اسکالپل استریل از روی محیط کشت جمع‌آوری و در شیشه پنی‌سیلین‌های ضد عفونی شده در داخل دسیکاتور حاوی سیلکاژل در دمای ۴ درجه سلسیوس قراردادده شدند.

ارزیابی اثر شرایط بذرهای گندم یا اجساد حاوی قارچ *B. bassiana* بر کلونیزه شدن میزبان توسط شپشه آرد *T. castaneum*: از طلق‌های مکعب مستطیل به ابعاد ۴۰×۴۰×۴۰ سانتیمتر استفاده شد. دو پتری دیش (به قطر ۹۰ سانتی‌متر) هرکدام حاوی ۲۰ گرم بذر گندم به فاصله ۲۰ سانتی‌متر از یکدیگر قراردادده شد. به یکی از پتری‌ها ۱۰ جسد شپشه آرد حاوی اسپور قارچ اضافه شد که به‌طور تصادفی روی پتری‌های سمت راست یا چپ در هر قفس قرارگرفت. هدف از این آزمایش بررسی قدرت تشخیص

نسبت به انتقال غیرمستقیم با کنیدی قراردادده شده روی بستر است، و میتواند درحالی‌که تعداد افراد آلوده کم است، منجر به مرگ‌ومیر زیادی شود (۱۵). دوز کشنده *B. bassiana* می‌تواند با تماس بین نر تیمار شده و ماده سالم سوسک بالغ پوستخوار صنوبر منتقل شود و هنگامی‌که این نسبت ۱:۲۰ بود، به نرخ مرگ‌ومیر ۷۵٪ منجر شد که این نرخ مرگ‌ومیر هنگامی‌که نسبت ۱:۱ بود به ۹۰٪ افزایش یافت (۱۳).

باوجود اهمیت قابل‌توجه قارچ *B. bassiana* و تولید تجاری آن در دنیا، تحقیقات معدودی در رابطه با جدایه‌های بومی در ایران بخصوص در رابطه با رفتارشناسی آفات انباری انجام‌شده است. تحقیق حاضر، جزو تحقیقات پیشرو در زمینه برهم‌کنش عامل کنترل بیولوژیک قارچی در رابطه با رفتارشناسی آفت شپشه آرد در توانایی تشخیص قارچ بیمارگر حشرات و انتقال آن می‌باشد. بررسی‌های آتی می‌تواند چشم‌انداز روشن‌تری از کارایی این عامل کنترل بیولوژیک در کنترل آفات انباری ارائه دهد. تا امکان استفاده عملی و ارتقای برنامه‌های کنترل بیولوژیک علیه آفات انباری بخصوص شپشه آرد *T. castaneum* ایجاد شود.

مواد و روشها

پرورش شپشه آرد *T. castaneum* ابتدا شپشه‌های آرد از انبارهای نگهداری گندم و آرد موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی استان کرمان جمع‌آوری و شناسایی شد. شپشه‌های آرد شناسایی‌شده پس از اطمینان از عدم انگلی بودن توسط پارازیتوئیدها با نگهداری در شرایط آزمایشگاهی به مدت دو هفته، در ظروفی دارای درب توری‌دار روی سه رقم بذر گندم در اتاقک رشد با دمای ۱ ± ۲۷ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵ ± ۸۵ درصد و تاریکی قرار داده شد. در تمامی آزمایش‌ها از افراد کامل ۱-۷ روزه استفاده شد. همسن سازی بدین ترتیب انجام شد که ابتدا تعدادی شپشه ماده کامل داخل بذرهای گندم

وجود قارچ توسط شپشه آرد بود و به عبارتی آیا وجود کندی‌های قارچ بعنوان یک عامل بیمارگر مانع استقرار شپشه آرد در داخل بذره‌های گندم می‌شود یا خیر؟ تعداد ۳۰ فرد کامل ۱-۷ روزه بین دو پتری رها شد. پس از هفت روز تعداد سوسک‌های داخل هر پتری شمارش شد. این آزمایش شامل چهار تکرار بود. این آزمایش با بذور خسارت دیده نیز به همین شکل تکرار شد. بدین ترتیب که ۷۲ ساعت قبل از شروع آزمایش بذره‌های گندم با تعدادی از شپشه‌های آرد آلوده شدند و قبل از شروع حذف شدند. روش تهیه اجساد حاوی قارچ نیز به این ترتیب بود که تعدادی شپشه با روش غوطه‌وری به قارچ آلوده شدند و پس از مرگ استریل و روی کاغذ صافی درون ظرف پتری استریل با درب بسته قرار گرفتند. پس از ظهور کندی در سطح بدن شپشه‌ها در آزمایش استفاده شدند.

نتایج و بحث

ارزیابی اثر شرایط بذره‌های گندم یا اجساد حاوی قارچ *B. bassiana* بر کلونیزه شدن میزبان توسط شپشه آرد *T. castaneum*: در جدول ۱ میانگین افراد کامل شپشه آرد *T. castaneum* به دست آمده در بذور رقم پیش‌تاز آلوده به قارچ بیمارگر *B. bassiana* و سالم در دو حالت بذور خسارت دیده و ندیده آمده است که میان میانگین افراد کامل شپشه آرد به دست آمده از بذور خسارت دیده سالم (فاقد قارچ) و آلوده به قارچ اختلاف معنی‌داری وجود داشت. به طوری که بیشترین افراد کامل به بذور سالم ($\chi^2 = 6/25 \pm 0/85$) جلب شدند ($P \leq 0/05$ و $df = 1$) و این مسأله در مورد بذور خسارت ندیده هم صادق بود و بیشترین افراد به سمت بذور خسارت ندیده سالم (فاقد قارچ) ($\chi^2 = 11/50 \pm 0/65$) جلب شدند ($P \leq 0/05$ و $df = 1$) و ($\chi^2 = 22/35$).

وجود قارچ توسط شپشه آرد بود و به عبارتی آیا وجود کندی‌های قارچ بعنوان یک عامل بیمارگر مانع استقرار شپشه آرد در داخل بذره‌های گندم می‌شود یا خیر؟ تعداد ۳۰ فرد کامل ۱-۷ روزه بین دو پتری رها شد. پس از هفت روز تعداد سوسک‌های داخل هر پتری شمارش شد. این آزمایش شامل چهار تکرار بود. این آزمایش با بذور خسارت دیده نیز به همین شکل تکرار شد. بدین ترتیب که ۷۲ ساعت قبل از شروع آزمایش بذره‌های گندم با تعدادی از شپشه‌های آرد آلوده شدند و قبل از شروع حذف شدند. روش تهیه اجساد حاوی قارچ نیز به این ترتیب بود که تعدادی شپشه با روش غوطه‌وری به قارچ آلوده شدند و پس از مرگ استریل و روی کاغذ صافی درون ظرف پتری استریل با درب بسته قرار گرفتند. پس از ظهور کندی در سطح بدن شپشه‌ها در آزمایش استفاده شدند.

ارزیابی اثر شرایط بذره‌های گندم یا اجساد حاوی قارچ *B. bassiana* بر انتقال افقی قارچ طی کلونیزه شدن میزبان توسط شپشه آرد *T. castaneum*: در این آزمایش نیز از جعبه‌های طلقی استفاده می‌شود با این تفاوت که چهار پتری حاوی ۲۰ گرم بذرگندم به فاصله مساوی از یکدیگر در جعبه قرار گرفتند. پنج جسد حاوی قارچ به هر پتری داخل جعبه اضافه شد. در آخر، به ۱۵ فرد کامل ۱-۷ روزه اجازه داده شد که داخل هر کدام قرار بگیرند و پس از ۱۲۰ ساعت تعداد اجساد حاوی قارچ و افراد کامل سالم شمارش شدند. آزمایش چهار بار در شرایط اتاقک رشد

جدول ۱- میانگین افراد کامل (\pm خطای استاندارد) شپشه آرد *T. castaneum* به دست آمده در بذور رقم پیش‌تاز آلوده به قارچ بیمارگر *B. bassiana* و سالم در دو حالت بذور خسارت دیده و ندیده ($P \leq 0/05$)

شرایط بذور	تیمار	افراد به دست آمده	χ^2 به دست آمده	χ^2 جدول
خسارت دیده	آلوده به قارچ	$2/75 \pm 0/48$	$7/05$	$3/84$
	سالم	$6/25 \pm 0/85$		$3/84$
خسارت ندیده	آلوده به قارچ	$2/75 \pm 0/48$	$22/35$	$3/84$
	سالم	$11/50 \pm 0/65$		$3/84$

شدند ($P \leq 0.05$, $df = 1$, $\chi^2 = 7/20$) و این نیز در مورد بذور خسارت ندیده سالم (فاقد قارچ) هم صادق بود، بطوریکه بیشترین افراد به سمت بذور خسارت ندیده سالم (فاقد قارچ) با میانگین $12/00 \pm 1/08$ جلب شدند ($P \leq 0.05$), $df = 1$ و $\chi^2 = 25/34$.

میانگین افراد کامل شپشه آرد *T. castaneum* به دست آمده در بذور رقم چمران آلوده به قارچ بیمارگر *B. bassiana* و سالم در دو حالت بذور خسارت دیده و ندیده، در جدول ۲ آمده است. نتایج نشان داد که بیشترین میانگین افراد کامل به بذور خسارت دیده سالم با میانگین $6/00 \pm 1/08$ جلب

جدول ۲- میانگین افراد کامل (\pm خطای استاندارد) شپشه آرد *T. castaneum* به دست آمده در بذور رقم چمران آلوده به قارچ بیمارگر *B. bassiana* و سالم در دو حالت بذور خسارت دیده و ندیده ($P \leq 0.05$)

شرایط بذر	تیمار	افراد به دست آمده	χ^2 به دست آمده	χ^2 جدول
خسارت دیده	آلوده به قارچ	$2/50 \pm 0/29$	7/20	3/84
	سالم	$6/00 \pm 1/08$		3/84
خسارت ندیده	آلوده به قارچ	$2/50 \pm 0/29$	25/34	3/84
	سالم	$12/00 \pm 1/08$		3/84

این نیز در مورد بذور خسارت ندیده فاقد قارچ هم صادق بود که بیشترین افراد به سمت بذور خسارت ندیده فاقد قارچ با میانگین $13/75 \pm 1/11$ جلب شدند ($P \leq 0.05$, $df = 1$) و $\chi^2 = 20/33$.

نتایج میانگین افراد به دست آمده در رقم چمران ۲ نیز در جدول ۳ آمده است. به این صورت که بیشترین میانگین افراد کامل به بذور خسارت دیده سالم با میانگین $9/50 \pm 0/65$ مربوط بود ($P \leq 0.05$, $df = 1$, $\chi^2 = 12/56$) و

جدول ۳- میانگین افراد کامل (\pm خطای استاندارد) شپشه آرد *T. castaneum* به دست آمده در بذور رقم چمران ۲ آلوده به قارچ بیمارگر *B. bassiana* و سالم در دو حالت بذور خسارت دیده و ندیده ($P \leq 0.05$)

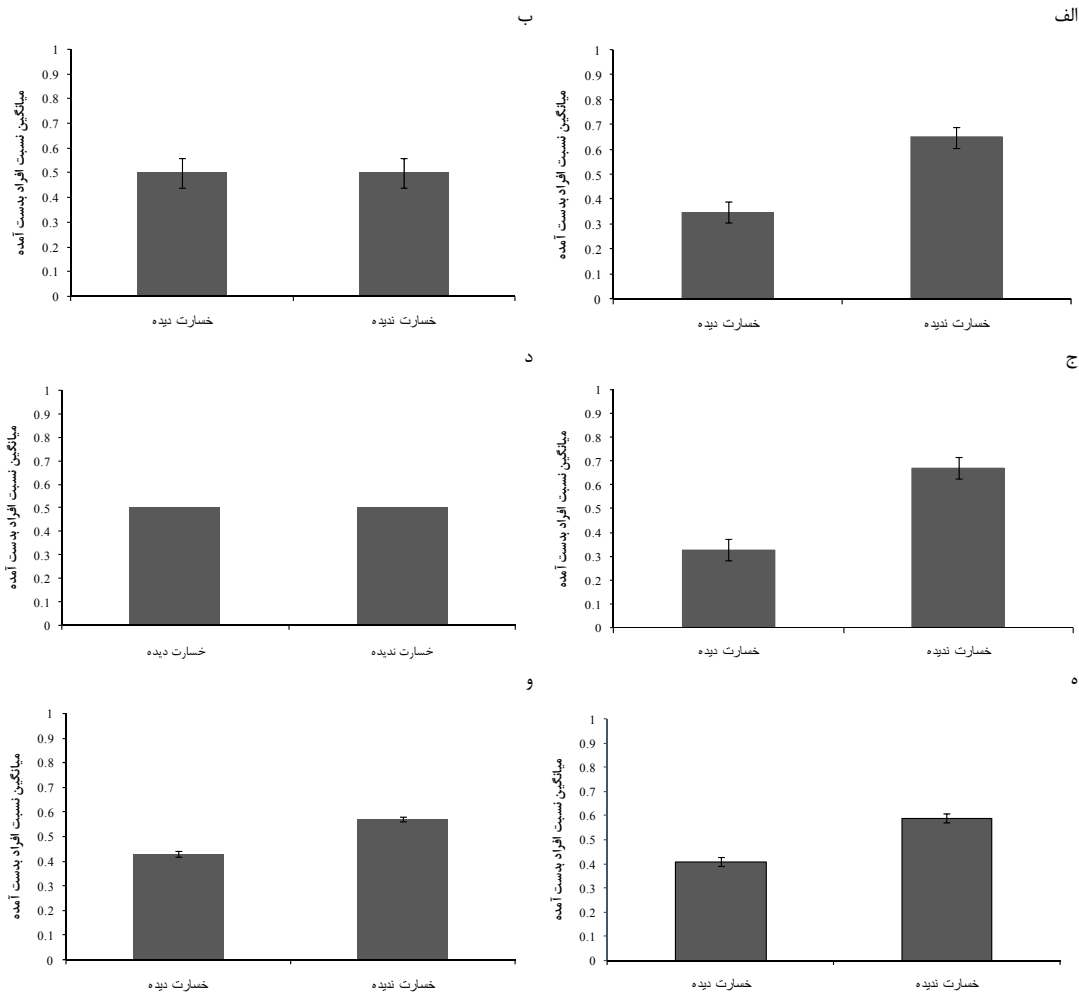
شرایط بذر	تیمار	افراد به دست آمده	χ^2 به دست آمده	χ^2 جدول
خسارت دیده	آلوده به قارچ	$3/25 \pm 0/48$	12/56	3/84
	سالم	$9/50 \pm 0/65$		3/84
خسارت ندیده	آلوده به قارچ	$4/25 \pm 0/48$	20/33	3/84
	سالم	$13/75 \pm 1/11$		3/84

ندیده دارای اختلاف معنی‌دار بود ($P \leq 0.05$, $df = 1$) و $\chi^2 = 9/53$ (شکل ۱). برای رقم چمران نشان داده شد که میانگین نسبت افراد بدست آمده از بذور خسارت دیده و خسارت ندیده آلوده به قارچ اختلاف معنی‌دار نداشته است ($P \leq 0.05$, $df = 1$ و $\chi^2 = 0/00$) (شکل ۱). برای رقم چمران ۲ نیز نشان داده شد که میانگین نسبت افراد بدست آمده از بذور گندم خسارت دیده فاقد قارچ و خسارت ندیده دارای اختلاف معنی‌دار بودند ($P \leq 0.05$, $df = 1$) و $\chi^2 = 5/05$. همچنین، نشان داده شد که میانگین نسبت

همچنین شکل ۱ نشان می‌دهد که بین میانگین نسبت افراد به دست آمده روی بذور گندم رقم پیشتاز خسارت دیده و خسارت ندیده فاقد قارچ دارای تفاوت معنی‌دار بود ($P \leq 0.05$ و $df = 1$ و $\chi^2 = 7/69$). نشان داده شد که میانگین نسبت افراد کامل بدست آمده در بذور آلوده به قارچ در بذور خسارت دیده و خسارت ندیده تفاوت معنی‌دار نداشت ($P \leq 0.05$, $df = 1$ و $\chi^2 = 1/01$) (شکل ۱).

در رقم چمران نیز نشان داده شد که میانگین نسبت افراد بدست آمده از بذور خسارت دیده فاقد قارچ و خسارت

افراد خسارت‌دیده و خسارت‌ندیده آلوده به قارچ دارای اختلاف معنی‌دار بودند ($P \leq 0.05$ ، $df=1$ و $\eta^2 = 0.57$) (شکل ۱).



شکل ۱- میانگین نسبت شپشه‌های آرد *T. castaneum* بدست آمده از بذور خسارت‌دیده و ندیده گندم الف) رقم پیشناز بدون قارچ *Beauveria bassiana*؛ ب) آلوده به قارچ *Beauveria bassiana*؛ ج) رقم چمران بدون قارچ *Beauveria bassiana*؛ د) آلوده به قارچ *Beauveria bassiana*؛ ه) رقم چمران ۲ بدون قارچ *Beauveria bassiana*؛ و) آلوده به قارچ *Beauveria bassiana*

شته‌های *A. pisum* از گیاهان حاوی قارچ بیمارگر *P. neoaphidis* اجتناب نمی‌کنند. با کلونیزه کردن گیاه لوبیا حاوی قارچ بیمارگر، احتمال تماس شته‌های نخودفرنگی در حال کاوشگری با کنیدی‌ها و ایجاد آلودگی قارچی افزایش می‌یابد و طی استقرار بر روی گیاه کنیدی‌های قارچ را نیز منتقل می‌کنند. همه‌گیری یک بیماری به تراکم میزبان بستگی دارد اما اگر بیمارگر به‌طور

به‌طورکلی نتایج فوق نشان می‌دهد میانگین نسبت افراد به‌دست‌آمده زمانی که بذور خسارت‌دیده و ندیده و فاقد قارچ بوده‌اند دارای اختلاف معنی‌داری بودند به‌طوری‌که بیشترین افراد به سمت بذور خسارت‌ندیده جلب شدند اما درحالی‌که بذور آلوده به قارچ بودند میان میانگین افراد به‌دست‌آمده از بذور خسارت‌دیده و ندیده اختلاف معنی‌دار وجود نداشت.

گیاهان میزبان بر حرکت حشرات اثر می‌گذارند و می‌توانند بطور غیرمستقیم بر انتقال قارچ مؤثر باشند. به‌طوری‌که، نتایج این تحقیق نشان داد سوسک‌ها با وجود قارچ بذور خسارت ندیده را به بذور خسارت‌دیده ترجیح می‌دهند. بسیاری مؤلفان بر این عقیده‌اند که رایحه‌های منتشرشده از گیاهان سالم، گیاهانی که به‌طور مصنوعی خسارت‌دیده‌اند و گیاهانی که قبلاً با گیاه‌خوار آلوده‌شده است از نظر کمی و کیفی متفاوت‌اند (۹).

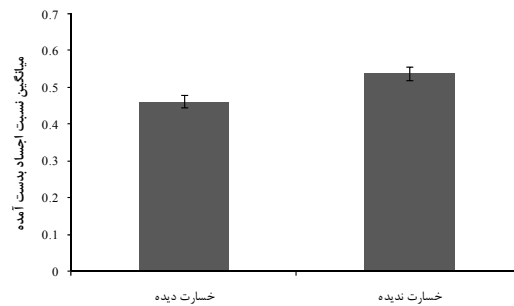
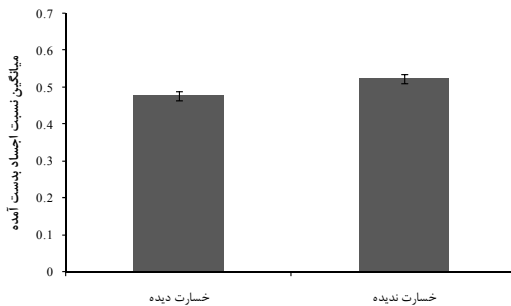
ارزیابی اثر شرایط بذرهای گندم یا اجساد حاوی قارچ *B. bassiana* بر انتقال افقی قارچ طی کلونیزه شدن میزبان توسط شپشه‌ی آرد *T. castaneum*: نتایج نشان داد که انتقال قارچ بخوبی انجام‌شده است (شکل ۲). میانگین نسبت اجساد شپشه‌های آرد *T. castaneum* به‌دست‌آمده از بذور خسارت‌دیده و ندیده گندم رقم پیش‌تاز آلوده به قارچ *B. bassiana* در شکل ۲ آمده است.

گسترده در زیستگاه میزبان پخش شود یک همه‌گیری می‌تواند حتی در تراکم‌های پایین میزبان نیز توسعه یابد (۲۳). رایحه‌های تولیدشده توسط گیاهان خسارت‌دیده تأثیری بر تعامل شته و قارچ نداشته و تعداد اجساد حاوی اسپور قارچ تحت تأثیر شرایط گیاه اعم از خسارت‌دیده و سالم قرار نگرفته است (۵). کوری و هوور عقیده دارند ترکیبات شیمیایی تولیدشده توسط گیاهان تأثیر قارچ‌های بیمارگر، حشرات را در از بین بردن میزبان، کاهش می‌دهند (۸).

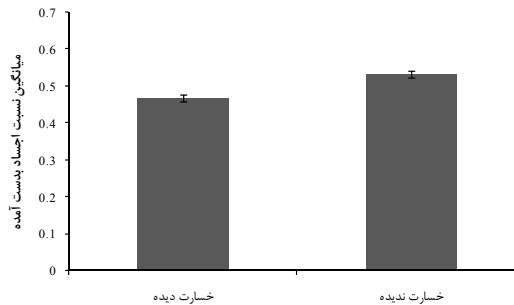
تعداد سوسک‌های بدست‌آمده از بذور خسارت‌دیده بطور معنی‌دار کمتر از سوسک‌های موجود روی بذور خسارت ندیده بود. این نتیجه مطابق با نتایج آزمایشات منتشرشده می‌باشد که نشان می‌دهد حشرات در حال غذاکاوای با رایحه‌های منتشرشده از گیاهان خسارت‌دیده توسط حشرات هم‌گونه دور می‌شوند (۱۸).

ب

الف



ج



شکل ۲- میانگین نسبت اجساد شپشه‌های آرد *T. castaneum* بدست‌آمده از بذور خسارت‌دیده و ندیده گندم آلوده به قارچ *Beauveria bassiana* (الف) رقم پیش‌تاز (ب) چمران؛ (ج) چمران ۲.

به کلنی نتایج منتقل می‌شود اما در شرایط طبیعی به دلیل کثرت بالای اسپوره‌های مقاوم درصد آن کاهش می‌یابد. بنابراین آلودگی توسط اسپوره‌های مقاوم موجود در بیش از نیمی اجساد والدین ماده مختل می‌شود. اگر طبیعت همه‌گیری بیمارگرهای شته مشخص نباشد بهره‌برداری خردمندان از بیمارگرهای قارچی برای کنترل شته امکان‌پذیر نخواهد بود (۲۶).

هنگامی که تراکم شته بالاست یا گیاه مسن می‌شود، افراد بال‌دار مهاجر جهت انتشار پرواز می‌کنند و هم‌زمان آلودگی قارچی را به نقاط دیگر حمل می‌کنند (۱۲). برهم‌کنش شته‌ها با موجودات سطوح غذایی بالاتر نیز می‌تواند القاء اشکال بالدار را تحریک یا از آن ممانعت کند. به‌نظر می‌رسد پارازیتوئید به‌طور کامل یا جزئی از القاء اشکال بالدار ممانعت می‌کنند به‌ویژه هنگامی که پوره‌های جوان‌تر مورد حمله قرار می‌گیرند. در حالی که شکارگرها و قارچ‌های بیمارگر اختصاصی شته‌ها باعث توسعه القاء بال در شته‌ها می‌شوند. القاء بال به‌عنوان وسیله‌ای برای انتقال بیمارگرهای قارچی و ویروسی عمل می‌کند (۱۶). نرخ مرگ سوسری آلمانی پس از مخلوط کردن پوره‌های سالم با اجساد پوره‌های آلوده به قارچ *M. anisopliae* تا ۸۷/۵ درصد افزایش یافت که نشان‌دهنده انتقال افقی قارچ توسط سوسری‌ها است (۱۷). فرمون اعلام‌خطر در شته سبز هلو، ای-بتا-فارنسن به‌طور معنی‌دار مرگ شته را در اثر قارچ *Lecanicillium lecanii* افزایش می‌دهد. چراکه فرمون باعث افزایش حرکت شته‌ها و در نتیجه برداشت بیشتر کنیدی قارچ می‌شود. کاربرد دز زیرکشندگی سم ایمیداکلوپراید با ایجاد بی‌قراری و تحریک‌پذیری روش دیگری برای افزایش برداشت کنیدی قارچ توسط شته است (۲۰). سنجش کیفی با میکروسکوپ اپی‌فلئورسانت نشان داد کنیدی‌های *B. brongniartii* و *P. fumosoroseus* به‌طور مؤثرتری نسبت به کنیدی‌های *M. anisopliae* کویکول موربانه *Coptotermes formosanus* Shiraki (Isoptera: Rhinotermitidae) متصل می‌شوند و به‌سرعت

میان میانگین اجساد شپشه‌های آرد *T. castaneum* بدست آمده از بذور خسارت‌دیده ($33/25 \pm 2/09$) و خسارت ندیده ($38/50 \pm 6/4$) اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($P \leq 0/05$ ، $df = 1$ و $\chi^2 = 7/20$). میانگین نسبت اجساد شپشه‌های آرد *T. castaneum* به‌دست‌آمده از بذور خسارت‌دیده و ندیده گندم رقم چمران آلوده به قارچ *B. bassiana* نشان داد که میانگین اجساد بدست‌آمده شپشه‌های آرد از بذور خسارت‌دیده ($37/25 \pm 0/85$) و خسارت ندیده ($40/75 \pm 1/25$) اختلاف معنی‌دار داشت ($P \leq 0/05$ ، $df = 1$ و $\chi^2 = 4/50$). همچنین، میانگین اجساد شپشه‌های آرد به‌دست‌آمده از بذور خسارت‌دیده و ندیده گندم رقم چمران ۲ آلوده به قارچ *B. bassiana* نشان داد که برای گندم خسارت‌دیده ($31/00 \pm 0/91$) و خسارت ندیده ($35/50 \pm 1/55$) به‌دست‌آمده است ($P \leq 0/05$ ، $df = 1$ و $\chi^2 = 6/51$). همان‌طور که از میانگین افراد به دست آمده در همه ارقام برداشت می‌شود تفاوت معنی‌داری در تمام ارقام بین میانگین اجساد به‌دست‌آمده در حالت خسارت‌دیده و ندیده وجود داشت بطوریکه این افراد به سمت بذور خسارت ندیده جلب شده‌اند.

انتقال قارچ‌های بیمارگر حشرات تحت‌تأثیر عوامل مختلف است. بیولوژی و ساختار میزبان، ویژگی‌های بیمارگر، ویژگی‌های گیاه میزبان و عوامل محیطی، انبوهی جمعیت پوره‌ها و افراد کامل شته‌ها اغلب باعث می‌شود قارچ‌های بیمارگر بتوانند به‌سرعت پراکنده شوند. عوامل مربوط به بیمارگر شامل تخلیه کنیدی‌ها به‌صورت فعال یا غیرفعال، اندازه کنیدی‌ها، شکل و تعداد آنها و نحوه اتصال به میزبان و مکانیسم بقاء است (۲۴). قارچ بیمارگر *Conidiobolus obscures* علاوه بر ایجاد آلودگی در شته سبز هلو، توسط شته‌های بالدار به کلنی‌های سالم منتقل می‌شود به‌نحوی که آلودگی چهارتا هشت روز پس از تشکیل کلنی ظاهر می‌شود. پتانسیل باروری شته‌های سبز هلو در اثر آلودگی به قارچ *C. obscurus* به‌شدت کاهش یافته است. بیماری قارچی با موفقیت از جسد والدین ماده

کنیدی‌ها از پوشش گیاهی اطراف یا از خاک، بسته به زیستگاه حشره آفت هدف، می‌تواند منبع آلودگی مهمتری باشد. باین‌حال، استفاده مؤثر و کارآمد آفت‌کش‌های بیولوژیک که از لحاظ زیست‌محیطی ایمن هستند و خطری برای موجودات غیرهدف ندارند، بستگی به نوع فرمولاسیون، سامانه نقل‌وانتقال و پخش مقادیر کافی آنها در مکان استقرار آفت نیز دارد.

باین‌حال، عوامل دیگری نیز می‌توانند روی این تعاملات مؤثر باشند که می‌شود به اثر گیاه میزبان مانند وجود یا عدم وجود رایحه‌های گیاهی القاء شده در اثر خسارت آفت، مقاوم یا حساس بودن گیاه میزبان اشاره نمود.

از کوتیکول جدا نمی‌شوند (۲۵). تحقیقات نشان داد ۸۰ درصد از افراد بالدار شته سبز هلو، تیمار شده با قارچ *P. neoaphidis* پس از طی مسافت ۲/۶ کیلومتر به مدت ۵-۱ ساعت، آلودگی را به‌طور کامل به نتایج خود منتقل کردند که می‌تواند نشان دهنده نقش مهم شته‌های بالدار آلوده در انتشار وسیع قارچ در میان شته‌ها باشد (۷).

یکی از نکات قابل توجه در نتایج بدست آمده از این تحقیق، وجود مؤثر اجساد شته حاوی اسپور قارچ است که می‌تواند منبع آلودگی قارچی قابل ملاحظه‌ای در گلخانه‌ها و مزارع باشند. زیرا اغلب تصور می‌شود که کاربرد صحیح یک حشره‌کش قارچی شامل پاشش مستقیم دز کشنده‌ای از کنیدی‌های قارچ است. در صورتیکه برداشت و کسب

منابع

- ۱- اسماعیلی، م.، میرکریمی، ع.، و آزمایش‌فرد، پ.، ۱۳۸۱. حشره‌شناسی کشاورزی، انتشارات دانشگاه تهران، ۵۵۰ صفحه.
- ۲- باقری زنوز، ا.، ۱۳۷۵. آفات و فرآورده‌های انباری و روش‌های مبارزه با آنها، جلد اول سخت بالپوشان زیان‌آور محصولات انباری و صنعتی، مرکز نشر سپهر، ۳۲۸ صفحه.
- ۳- خاکشور، م. ص.، و پازوکی، ج.، ۱۳۹۵. استخراج کیتوزان گاما از دیواره سلولی قارچ *Aspergillus niger* (PTCC 5223) و
- 10- Dromph, K. M., 2001. Dispersal of entomopathogenic fungi by collembolans, *Soil Biology and Biochemistry*, 33, PP: 2047-2051.
- 11- de Faria, M. R., and Wraight, S. P., 2007. Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types, *Biological Control*, 43(3), PP: 237-256.
- 12- Feng, M. G., Chen, C., Shang, S. W., Ying, S. H., Shen, Z. C., and Chen, X. X., 2007. Aphid dispersal flight disseminates fungal pathogens and parasitoids as natural control agents of aphid, *Ecological Entomology*, 32, PP: 97-104.
- 13- Furlong, M. J., and Pell, J. K., 2001. Horizontal transmission of entomopathogenic fungi by the diamondback moth, *Biological Control*, 22, PP: 288-299.
- 14- Hajek, A. E., McManus, M. L., and Delalibera, I., 2007, A review of introductions of pathogens and nematodes for classical biological control of
- ارزیابی خواص ضد میکروبی آن، *مجله پژوهش‌های جانوری*، شماره ۲، صفحات ۱۶۶-۱۵۵.
- ۴- مشتاقی ملکی، ف.، جلالی سندی، ج.، و رضایانه، م.، ۱۳۹۲. بررسی تأثیر دمای محیط در قدرت بیماری‌زایی ویروس چندوجهی هسته‌ای کرم غوزه پنبه *Helicoverpa armigera* multiple nucleopolyhedrovirus در آزمایشگاه، *مجله پژوهش‌های جانوری*، شماره ۴، صفحات ۳۸۳-۳۷۲.
- 5- Baverstock, J., Alderson, P. G., and Pell, J. K., 2005. *Pandora neoaphidis* transmission and aphid foraging behavior, *Journal of Invertebrate Pathology*, 90, PP: 73-76.
- 6- Bell, C. H., and Wilson, S. M., 1995. Phosphine tolerance and resistance in *Trogoderma granarium* Everts (Coleoptera: Dermestidae), *Journal of Stored Products Research*, 31(3), PP: 199-205.
- 7- Chen, C., and Feng, M. G., 2006. Experimental simulation of transmission of an obligate aphid pathogen with aphid flight dispersal, *Environmental Microbiology*, 8(1), PP: 69-76.
- 8- Cory, J. S., and Hoover, K., 2006. Plant-mediated effects in insect-pathogen interactions, *Trends in Ecology and Evolution*, 21(5), PP: 278-286.
- 9- Dicke, M., and van Loon, J. J., 2000. Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context, *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 7(3), PP: 237-49.

- insects and mites, *Biological Control*, 41(1), PP: 1-3.
- 15- Jones, W. E., Grace, J. K., and Tamashiro, M., 1996. Virulence of seven isolates of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to *Coptotermes formosanus* (Isoptera: Rhinotermitidae), *Environmental Entomology*, 25, PP: 481-487.
- 16- Muller, C. B., Williams, I. S., and Hardie, J., 2001. The role of nutrition, crowding and interspecific interactions in the development of winged aphids, *Ecological Entomology*, 26, PP: 330-340.
- 17- Quesada-Moraga, E., Martin-Carballo, I., Garrido-Jurado, I., and Santiago-Alvarez, C., 2008. Horizontal transmission of *Metarhizium anisopliae* among laboratory populations of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae), *Biological Control*, 47, PP: 115-124.
- 18- Quiroz, A., Pettersson, J., Pickett, J. A., Wadhams, L. J., and Niemeyer, H. M., 1997. Semiochemicals mediating spacing behavior of bird cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi*, feeding on cereals, *Journal of Chemical Ecology*, 23, PP: 2599-2607.
- 19- Rajapakse, R. H., 2006. The potential of plants and plant products in stored insect pest management, *Journal of Agricultural Sciences*, 2(1), PP: 11-21.
- 20- Roditakis, E., Couzin, I. D., Balrow, K., Franks, N. R., and Chamley, A. K., 2000. Improving secondary pick up of insect fungal pathogen conidia by manipulating host behavior, *Annals of applied Biology*, 137, PP: 329-335.
- 21- Roy, H. E., and Pell, J. K., 2000. Interactions between entomopathogenic fungi and other natural enemies: implications for biological control, *Biocontrol Science and Technology*, 10(6), PP: 737-52.
- 22- Roy, H. E., Steinkraus, D. C., Eilenberg, J., Hajek, A. E., and Pell, J. K., 2006. Bizarre interactions and endgames: entomopathogenic fungi and their arthropod hosts, *Annual Review of Entomology*, 51, PP: 331-57.
- 23- Roy, H. E., and Cottrell, T. E., 2008. Forgotten natural enemies: Interactions between coccinellids and insect-parasitic fungi, *European Journal of Entomology*, 105, PP: 391-398.
- 24- Steinkraus, D. C., 2006. Factors affecting transmission of fungal pathogens of aphids, *Journal of Invertebrate Pathology*, 92, PP: 125-131.
- 25- Yanagawa, A., Yokohari, F., and Shimizu, S., 2008. Defense mechanism of the termite, *Coptotermes formosanus* Shiraki, to entomopathogenic fungi, *Journal of Invertebrate Pathology*, 97, PP: 165-170.
- 26- Zhang, G. Z., Feng, M. G., Chen, C., and Ying, S. H., 2007. Opportunism of *Conidiobolus obscurus* stems from depression of infection in situ to progeny colonies of host alatae as disseminators of the aphid-pathogenic fungus, *Environmental Microbiology*, 9, PP: 859-868.

Evaluation of the behavioral response and conidium transmission by *Tribolium castaneum* in presence of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* on different wheat cultivars

Ghayeb S.¹, Rashki M.¹ and Shirvani A.²

¹ Dept. of Biodiversity, Institute of Science and High Technology and Environmental Sciences, Graduate University of Advanced Technology, Kerman, I.R. of Iran.

² Dept. of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, I.R. of Iran.

Abstract

The side effects of pesticide usage to control the *Tribolium castaneum* include the pest resistance and the risk of pesticide residues in stored products. Therefore, one aim of this research was to evaluate the effect of wheat seed conditions or presence of *B. bassiana* on host selection by the flour beetle on three wheat cultivars including the Chamran, Chamran2 and Pishtaz (at 27±1°C, RH 85±5% and darkness). The results indicated that the beetle was able to recognize and avoid the fungus. Also, the mean proportion of obtained adults from undamaged seeds (0.67±0.05) was significantly higher than that of damaged seeds without fungal infection (0.33±0.05). There was no significant difference between the mean proportion of obtained adults from undamaged and damaged seeds with fungal infection. The evaluation of seed conditions on the *B. bassiana* transmission during the beetle colonization showed the occurrence of the fungal transmission. During the colonization, there was significant difference between the mean number of sporulating-cadavers obtained from damaged and undamaged seeds for all three cultivars. For instance, the mean number of sporulating-cadavers on the Chamran cultivar for damaged and undamaged seeds was 37.25±0.85 and 40.75±1.25, respectively. The results declared that the flour beetle could distinguish the presence of the fungus; however, the seed condition (being damaged or undamaged) did not have any influence on the interaction between the beetle and the fungus. The fungus was transmitted properly among the colony and it declared the efficiency of the sporulating-cadavers that can be a remarkable reservoir in grain stores.

Key words: Transmission, behavioral response, flour beetle, entomopathogenic fungus.