تحقیقات آفات گیاهی
۳۶-۲۷ : (۱) ۵- ۱۳۹۴

سازگاری قارچ بیمارگر حشرات *Metarhizium anisopliae sensu lato* با ایمیداکلوپرید برای کنترل موریانه‌ی *Microcerotermes diversus* Silvestri (Iso.: Termitidae) در شرایط آزمایشگاهی

مرضیه شعبانی[۱]، بهزاد حبیب‌پور[۲*] ومحمدسعید مصدق[۳]
۱، ۲ و۳ - دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز

(تاریخ دریافت: ۹۲/۱۱/۱۸ تاریخ پذیرش: ۹۳/۸/۲۱)

چکیده

ازدیاد و بیماریزایی قارچ‌های بیمارگر حشرات ممکن است تحت تأثیر آفت‌کش‌ها قرار گیرند. سازگاری *Metarhizium anisopliae s.l.* (Metschnikoff) Sorokin (DEMI 001 strain) با حشره‌کش ایمیداکلوپرید، با بررسی اثرات آن بر جوانه‌زنی کنیدی، رشد رویشی کلونی و میزان اسپورزایی، مورد ارزیابی قرار گرفت. محیط کشت قارچ SDAY با غلظت‌های ۱۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام از ایمیداکلوپرید مخلوط شده و محیط عاری از حشره‌کش به عنوان تیمار شاهد تعیین شد. ۲۴ ساعت پس از تلقیح محیط با سوسپانسیون کنیدی قارچ، تعداد کنیدی‌های جوانه‌زده شمارش شده و میزان رشد قطری کلونی و اسپورزایی آن نیز، تعیین شد. نتایج نشان داد که ایمیداکلوپرید هیچگونه اثر منفی بر جوانه‌زنی کنیدی و میزان رشد رویشی کلونی قارچ ندارد. ولی از میزان اسپورزایی آن با افزایش غلظت حشره‌کش کاسته شد. در بالاترین غلظت از ایمیداکلوپرید، میزان اسپورزایی آن به مقدار $۲/۴۰\times۱۰^{۷}$ کنیدی در میلی‌لیتر در مقایسه با شاهد به مقدار $۴/۹۳\times۱۰^{۷}$ کنیدی در میلی‌لیتر کاهش یافت. بر اساس این نتایج ایمیداکلوپرید با قارچ مذکور سازگار است. علاوه‌براین، میزان مرگ‌ومیر ایجاد شده در موریانه‌ی *M. diversus*، در اثر کاربرد تیمار ایمیداکلوپرید و یا قارچ به تنهایی و کاربرد تیمار مخلوط غلظت‌های زیرکشنده‌ی ایمیداکلوپرید و قارچ، در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. در تیمارهای هم‌زمان در مقایسه با تیمارهای غیر مخلوط به‌طورمعنی‌داری مرگ‌ومیر بیشتری مشاهده شد که می‌تواند نشان-دهنده‌ی اثرات هم‌افزایی احتمالی آن باشد.

واژه‌های کلیدی: *Metarhizium anisopliae*، سازگاری حشره‌کش‌ها، *Microcerotermes diversus*، کنترل بیولوژیک، نئونیکوتینوئیدها

نویسنده مسئول: habibpour_b@scu.ac.ir

مقدمه

موریانه‌ها آفت اصلی الوارهای چوبی به کار رفته در ساختمان‌ها به شمار می‌آیند و در سطح وسیعی از محیط‌های زیست جهانی از جمله نواحی گرمسیری وجود دارند (Majid *et al.*, 2007). همچنین موریانه‌ها باعث خسارت به درختان زنده از جمله نخیلات و همچنین تعدادی از محصولات کشاورزی در اثر تغذیه از منابع سلولزی آنها می‌شوند (Habibpour,1994). اگرچه استفاده از آفت‌کش‌ها در کنترل موریانه‌ها متداول و مرسوم بوده است، کنترل بیولوژیک با استفاده از قارچ‌های بیمارگر جایگزینی مهم و دوست‌دار طبیعت برای کنترل شیمیایی حشرات آفت است (Yanagawa *et al.*, 2009). قارچ‌های بیمارگر حشرات به‌عنوان عوامل کنترل کننده‌ی طبیعی بسیاری از حشرات حائز اهمیت هستند. در مدیریت تلفیقی آفات (IPM[1])، کنترل بیولوژیک با قارچ‌های بیمارگر حشرات به‌عنوان عامل کاهش دهنده‌ی انبوهی جمعیت آفات باید مورد توجه باشد (Neves *et al.*, 2001). قارچ‌های بیمارگر حشرات (هیپوسیریال‌ها[2]) میکروارگانیسم‌هایی خاکزاد هستند و توانایی قابل توجهی در کنترل آفات خاکزی دارند. در این میان قارچ *M. anisopliae* یکی از مهم‌ترین عوامل میکروبی کنترل کننده محسوب می‌شود که برای ماه‌ها یا سال‌ها قدرت دوام در خاک دارد (Jaramillo *et al.*, 2005). قارچ بیمارگر *M. anisopliae* به طور ویژه‌ای برای کنترل موریانه‌ها به عنوان آفت‌کش زیستی توصیه شده است (Milner and Staples, 1996). ولی این عامل کنترلی به راحتی تحت تأثیر عوامل غیرزنده مثل دما و رطوبت و عوامل زنده مثل عکس‌العمل بین میکروارگانیسم‌های آنتاگونیستی قرار می‌گیرند. علاوه بر آن قارچ‌ها نمی‌توانند جایگزینی برای حشره‌کش‌های شیمیایی در اکوسیستم‌های تجاری باشند (Asi *et al.*, 2010). همچنین کند اثر بودن این ترکیبات کاربرد آن‌ها را با مشکل روبرو کرده است (Zurek *et al.*, 2002). حشره‌کش‌ها، همیشه برای تحت فشار قرار دادن سریع جمعیت حشرات آفت در حال افزایش، مورد احتیاج هستند. بنابراین استراتژی‌هایی جهت افزایش درجه تأثیر و تسریع در مرگ‌ومیر حشرات از طریق ترکیب قارچ‌های بیمارگر حشرات با غلظت‌های زیرکشنده‌ی حشره‌کش‌های شیمیایی و گیاهی اتخاذ شده است (Asi *et al.*, 2010). تیمار ایمیداکلوپرید، حساسیت موریانه‌ها را به قارچ *Beauveria bassiana* افزایش می‌دهد، به‌طوری‌که در تیمار شاهد میزان کمی از مرگ‌ومیر در اثر قارچ مشاهده شده است (Boucias *et al.*, 1996).

حشره‌کش‌ها ممکن است تحت تأثیر ترکیبات شیمیایی، عوامل محیطی و آفت‌کش‌های زیستی روی قارچ‌های بیمارگر دارای تأثیرات مختلفی باشند. عدم توجه به این نکته می‌تواند مانعی برای توسعه‌ی قارچ‌ها در مزرعه و شیوع بیماری محسوب شود (Malekan *et al.*, 2010). استفاده از حشره‌کش‌های ناسازگار، می‌تواند از رشد رویشی و زایشی قارچ‌های کنترل کننده ممانعت کرده و مدیریت تلفیقی آفات را تحت تأثیر قرار دهد. به‌عبارت دیگر استفاده از آفت‌کش‌های انتخابی، استراتژی مهمی در برنامه‌های IPM است. در بعضی موارد، تولیدات سازگار با قارچ‌های بیمارگر حشرات می‌تواند در افزایش کیفیت کنترل، کاهش میزان مصرف حشره‌کش مورد احتیاج و کاهش خطرات زیست محیطی و ایجاد مقاومت در آفات مؤثر واقع شود (Neves *et al.*, 2001). آگاهی از سازگاری بین قارچ بیمارگر حشرات و آفت‌کش‌ها، با توجه به اهمیت قارچ‌ها به‌عنوان عوامل کنترل کننده‌ی آفات، می‌تواند در انتخاب شایسته‌ی آن‌ها در مدیریت تلفیقی آفات، مؤثر واقع شود. تعیین سازگاری قبل از کاربرد توأم آن‌ها در شرایط مزرعه ضروری است (Neves *et al.*, 2001). استفاده از یک ایزوله‌ی قارچ به همراه حشره‌کش مستلزم داشتن آگاهی از سازگاری بین این‌دو عامل دارد. برای ارزیابی سازگاری حشره‌کش با قارچ سه عامل درصد جوانه‌زنی کنیدی قارچ، رشد رویشی کلونی و اسپورزایی قارچ

1.Integrated Pest Management
2.Hypocreales

مورد بررسی قرار می‌گیرد (Pachamuthu *et al*., 1999). جوانه‌زنی کنیدی معیار مهمی در تعیین سازگاری آفت‌کش با قارچ بیمارگر است. چون کنیدی‌های قارچ مسئول و عامل ایجادکننده‌ی بیماری هستند به‌طوری‌که کاهش جوانه‌زنی و ممانعت از آن، کاربرد پاتوژن را به‌عنوان یک عامل کنترل کننده کاهش می‌دهد (Neves *et al*., 2001). بر مبنای میزان رشد کلونی و درصد جوانه‌زنی کنیدی بسیاری از جدایه‌های قارچ‌های بیمارگر حشرات با حشره‌کش‌ها سازگار شناخته شده‌اند. عامل دیگر ارزیابی سازگاری، میزان اسپورزایی قارچ تحت تأثیر حشره‌کش‌های به کار رفته است. اسپورزایی قارچ می‌تواند تحت تأثیر آفت‌کش قرار گیرد و این تأثیرات بازدارنده آفت‌کش‌ها، می‌تواند در اپیدمی شدن بیماری قارچی و یا در تأثیر قارچ در شرایط طبیعی، اختلال ایجاد کند. در اغلب مطالعات ارزیابی سازگاری، اسپورزایی تحت تأثیر غلظت‌های حشره‌کش‌ها قرار گرفته‌اند (Pachamuthu *et al*., 1999). بعضی از حشره‌کش‌ها از جمله ایمیداکلوپرید با افزایش استرس و تأثیر بر رفتار حشره، می‌تواند منجر به بهبود عمل قارچ شود. ایمیداکلوپرید یک حشره کش سیستمیک و از گروه نئونیکوتینوئیدها و با سمیت تماسی گوارشی است که بر سیستم عصبی حشره اثر می‌گذارد (Santos *et al*., 2007). هدف تحقیق حاضر در ابتدا ارزیابی میزان سازگاری قارچ *M. anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (DEMI 001) با حشره‌کش ایمیداکلوپرید و سپس نشان دادن اثرات افزایشی آن در بهبود عمل قارچ بیمارگر در میزان ایجاد مرگ‌ومیر در موریانه‌ی *M. diversus* است.

مواد و روش‌ها

حشره‌کش مورد استفاده

ایمیداکلوپرید 1-[(6-chloropyridin-3-yl)methyl]-N-nitro-4,5-dihydroimidazol-2-amine ساخت شرکت آریا شیمی(زاهدان) به صورت ماده‌ی خالص (تکنیکال) ≤۹۸٪ تهیه شد. همچنین برای انجام آزمایش‌های سازگاری از سوسپانسیون ۳۵٪ ایمیداکلوپرید ساخت شرکت بایر آلمان استفاده شد.

ایزوله قارچ مورد استفاده

در این تحقیق از قارچ *M. anisopliae s .l.* (Metschnikoff) Sorokin جدایه سراوان یا Rhynchophorus (DEMI 001) استفاده شد.

جمع‌آوری موریانه

با توجه به بررسی‌های انجام شده توسط حبیب‌پور(Habibpour,1994) در منطقه‌ی اهواز، موریانه‌ی *M. diversus*، بیشترین تغذیه را از چوب راش داشته است. لذا به منظور جمع‌آوری موریانه‌ها، بلوک‌های چوبی از چوب راش تهیه شدند و به‌عنوان تله در محوطه‌ی دانشگاه شهید چمران اهواز در سال ۹۲-۱۳۹۱ استقرار یافتند.

ارزیابی میزان جوانه زنی کنیدی قارچ در حضور حشره‌کش

سوسپانسیون ایمیداکلوپرید در غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام (آب مقطر استریل به‌عنوان حلال) تهیه و به محیط SDAY[3] اتوکلاو شده در فاز مایع افزوده شد. محیط در ظروف پلاستیکی به قطر ۹ سانتی‌متر و ارتفاع ۱ سانتی‌متر (واحدهای آزمایشی) ریخته و پس از انعقاد محیط، ۰/۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون کنیدی قارچ (۱×۱۰^{۵} کنیدی در میلی‌لیتر) به هر ظرف افزوده شد. ظروف با پارافیلم بسته و در شرایط تاریکی در انکوباتور در دمای ۲۸±۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. ۲۴ ساعت پس از تلقیح، تعداد کنیدی‌های جوانه زده و نزده بررسی شدند. معیار جوانه‌زنی کنیدی، حضور لوله تندش است که بایستی از نظر طول مساوی یا بلندتر از خود کنیدیوم باشد. بطور تصادفی ۱۰۰ کنیدی در هر ظرف و هر تیمار شمارش شد.

ارزیابی میزان رشد رویشی و اسپورزایی قارچ

در بررسی تأثیر حشره‌کش روی رشد میسلیوم، پس از مخلوط شدن حشره‌کش با محیط کشت و انعقاد آن، قطعه‌های

3.Saubaured Dextrose Agar +Yeast Extract

کوچکی از قارچ‌ها در وسط ظروف و روی محیط قرار داده و سپس پتری‌ها به انکوباتور انتقال یافتند. در ۳، ۶ و ۹ روز پس از تلقیح و قرارگیری در انکوباتور طول و عرض رشد کلونی برای هر محیط اندازه گیری شد. میانگین این مقادیر اندازه-گیری شده (سانتی‌متر)، رشد کلونی هر محیط را نشان می‌دهد. به منظور تعیین نرخ اسپورزایی، ۲۱ روز پس از تلقیح قطعه‌های قارچ و قرار دادن در انکوباتور، با تهیه سوسپانسیون، تعداد کنیدی آن با استفاده از هموسیتومتر شمارش شده و میانگین تعداد کنیدی هر کلونی و نرخ اسپورزایی محاسبه شد. در این آزمایش‌ها برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد.

محاسبات سازگاری

با استفاده از فرمول دسته‌بندی محصولات شیمیایی بر اساس سمیت برای قارچ‌های بیمارگر حشرات، میزان سمیت ایمیداکلوپرید برای قارچ مورد نظر تعیین شد.

رابطه تعیین سمیت برای قارچ‌های بیمارگر حشرات:

$$T = 20(VG) + 80(SP)/100$$

در این فرمول VG معرف رشد رویشی و SP نشان دهنده اسپورزایی است. محاسبات میزان سازگاری بر اساس مقادیر T(معیار سنجش میزان سازگاری قارچ‌های بیمارگر حشرات) صورت گرفت(۳۰-۰: بسیار سمی، ۴۵-۳۱ سمی، ۶۰-۴۶: سمیت متوسط، مقادیر بیشتر از ۶۰: سازگار).

بررسی برهمکنش قارچ *M. anisopliae* و حشره‌کش ایمیداکلوپرید روی موریانه *M. diversus*

گروه‌های ۵۰ تایی موریانه در ظروف پلاستیکی به قطر ۹ سانتی‌متر و ارتفاع ۱ سانتی‌متر، حاوی کاغذ صافی تیمار شده با غلظت 10^6 و 10^7 کنیدی قارچ و غلظت زیرکشنده‌ی ۱۰۰ پی‌پی‌ام از حشره‌کش، انتقال یافته و میزان مرگ ومیر بطور روزانه ثبت شد. موریانه‌های مرده روزانه از ظرف پتری خارج شدند. برای هر تیمار چهار تکرار در نظر گرفته شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

این آزمون‌ها در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شدند.تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS(9.2) صورت گرفت. زمان مرگ‌ومیر(LT_{50}) به‌وسیله‌ی تجزیه پروبیت توسط نرم‌افزار SAS(9.2) تعیین شد. برای مقایسه‌ی اثر غلظت‌های مختلف حشره‌کش بر رشد رویشی و زایشی قارچ، مقایسه میزان جوانه‌زنی کنیدی قارچ در ۲۴ ساعت پس از تلقیح با تیمار شاهد و همچنین مقایسه‌ی میانگین مرگ‌ومیر موریانه‌ها، از روش تجزیه واریانس(ANOVA) و آزمون توکی در سطح ۵ درصد استفاده شد. نمودارها به وسیله‌ی نرم-افزار Excel 2007 رسم شدند.

نتایج

جوانه‌زنی کنیدی

از نظر درصد تندش پس از ۲۴ ساعت، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مختلف مشاهده نشد(df=3, 8, F=0.88, P=0.4890). به‌طوری‌که تمام تیمارها در یک گروه آماری قرار گرفتند(جدول ۱).

رشد رویشی و اسپورزایی

از نظر میزان رشد قطری کلونی پس از ۳ روز از تلقیح قارچ، بین تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری وجود نداشت و به‌عبارتی ایمیداکلوپرید در غلظت‌های به کار رفته هیچ‌گونه اثر منفی بر رشد قطری قارچ در ۳ روز پس از رشد، نداشت. به طوری‌که همه‌ی تیمارها در یک گروه آماری قرار گرفتند (df=3, 12, F=0.55, P=0.6561). همچنین تجزیه آماری داده‌های حاصل از رشد قطری کلونی پس از ۶ روز، نشان دهنده‌ی عدم تأثیر منفی حشره‌کش بر قارچ می‌باشد (df=3, 12, F=0.05, P=0.9854). تجزیه واریانس داده‌های حاصل از رشد قطری کلونی پس از ۹ روز نیز نشان داد که در سطح ۵ درصد اختلاف آماری بین داده‌ها وجود ندارد و همه‌ی تیمارها در یک گروه آماری قرار گرفتند (df=3, 12, F=0.19, p=0.8985) (جدول ۲).

جدول ۱- میزان جوانه‌زنی، رشد رویشی و اسپورزایی قارچ *Metarhizium anisopliae* تحت‌تأثیر غلظت‌های مختلف ایمیداکلوپرید

Table 1. Conidial germination, myetarhizium celial growth and sporulation of *Metarhizium anisopliae* , affected by different concentrations of imidacloprid

Treatment (ppm)	Conidial germination (%)	Mycelial growth (cm)	Sporulation (con/ml)
Control(0)	93.7 a	33.7 a	4.90×10^7 a
10	89.0 a	33.1 a	4.60×10^7 a
100	87.7 a	33.6 a	4.47×10^7 a
500	87.7 a	33.9 a	2.40×10^7 b

Means followed by same letter in each column are not significantly different according to Tukey test ($P < 0.05$)

جدول۲- مقادیر رشد قطری کلونی(سانتی‌متر) قارچ*Metarhizium anisopliae* تحت‌تأثیر غلظت‌های مختلف ایمیداکلوپرید در ۳ و ۶ و ۹ روز پس از کشت

Table 2. Colony diameter(cm) of *Metarhizium anisopliae*, affected by different concentration of imidacloprid, in 3, 6 and 9 days after culturing

Treatment(ppm)	3	6	9
Control	14.8 a	23.5 a	33.7 a
10	15.8 a	23.2 a	33.1 a
100	15.1 a	23.6 a	33.6 a
500	14.6 a	23.3 a	33.9 a

Means followed by same letter in each column are not significantly different according to Tukey test ($P < 0.05$)

از نظر میزان اسپورزایی اختلاف معنی‌داری بین تیمار ۵۰۰ پی‌پی‌ام و سایر تیمارها وجود داشت (df=3, 12, F=30.60, p<.0001). به‌طوری‌که تیمار شاهد به همراه غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام در گروه آماری A و تیمار ۵۰۰ پی‌پی‌ام در گروه B قرار گرفت (جدول ۱).

محاسبات T

جدول ۳ مقادیر T را برای غلظت‌های مختلف حشره‌کش و همچنین تیمار شاهد نشان می‌دهد. با توجه به مقادیر T، نشان داده شد که ایمیداکلوپرید در غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام هیچگونه تفاوت معنی‌داری با شاهد ندارد ولی در غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام دارای سمیت متوسط است. به طوری‌که بر اساس نتایج تجزیه دادها، تیمار شاهد به همراه تیمار ۱۰ و ۱۰۰ پی-پی‌ام در یک گروه آماری و تیمار ۵۰۰ پی‌پی‌ام در یک گروه دیگر قرار گرفت (df=3, 12, F=37.87, p<0.0001) (جدول ۳).

برهمکنش قارچ *M. anisopliae* و ایمیداکلوپرید روی موریانه *M. diversus*

با مقایسه‌ی میانگین مرگ‌ومیر تیمارهای مختلف، اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. به طوری‌که در تیمارهای کاربرد توأم حشره‌کش و قارچ، بیشترین میزان مرگ‌ومیر در مقایسه با سایر تیمارها رخ داد (df=5, 18, F=30.54, P<.0001). همچنین با مقایسه‌ی مقادیر مربوط به LT_{50} مشخص شد که

درمقایسه با LT تیمار شاهد به مقدار پیش‌بینی شده‌ی ۷۰۸/۷ روز (توسط برنامه‌ی پروبیت)، کمترین زمان کشندگی به تیمار مخلوط (۱۰۰ پی‌پی‌ام ایمیداکلوپرید و قارچ $۱۰^{۷}$ کنیدی در میلی‌لیتر)، با مقدار ۰/۹ روز تعلق گرفت (جدول ۴).

بحث

حشره‌کش‌ها دارای قابلیت تأثیر بر مراحل مختلف رشدی قارچ‌های حشره‌کش هستند. اثرات قارچ‌کشی حشره‌کش‌ها به طبیعت مواد شیمیایی حشره‌کش‌های به کار رفته و همچنین اثرات متقابل گونه‌های میکروبی برمی‌گردد. حشره‌کش مورد استفاده ممکن است اثرات قارچ‌کشی متفاوتی را روی مراحل رشدی مختلف قارچ‌ها داشته باشد. همچنین میزان ممانعت از جوانه‌زنی کنیدی و رشد میسلیوم قارچ‌های حشره‌کش با توجه به نژاد و گونه‌ی قارچ متفاوت است (Antonio *et. al.*, 2001). استفاده از آفت‌کش‌های ناسازگار می‌تواند منجر به ممانعت در رشد و تولیدمثل قارچ‌های حشره‌کش از قبیل *M. anisopliae* شود و کاربرد آنها را در استراتژی‌های IPM محدود کند. جوانه‌زنی کنیدی عاملی مهم در ارزیابی سازگاری آفت‌کش‌ها با قارچ‌های حشره‌کش، در برنامه‌های مدیریت آفات می‌باشد. زیرا شروع اپیدمی و ایجاد آلودگی قارچی، به توانایی جوانه‌زنی کنیدی روی میزبان بستگی دارد. بر اساس آزمایش صورت گرفته، ایمیداکلوپرید تأثیری روی جوانه‌زنی کنیدی قارچ *M. anisopliae* در سطح احتمال ۵ درصد نداشت.

جدول۳- مقادیر T و میزان سازگاری قارچ *Metarhizium anisopliae* با ایمیداکلوپرید

Table 3. "T" value and compatibility of *Metarhizium anisopliae* with imidacloprid

Treatment (ppm)	"T"[1] value	Criteria of compatibility[2]
Control	100.0 a	C
10	94.3 a	C
100	92.7 a	C
500	59.2 b	MT

Means followed by same letter are not signifcantly different according to Tukey test ($P < 0.05$)

[1] Proposed formula for evaluating compatibility

[2] C : Compatible ،MT :Moderately toxic

جدول ۴- مقادیر LT_{50} در تیمارهای مورد بررسی

Table 4. LT_{50} values of different investigated treatments (ME: *Metarhizium anisopliae*)

	Treatment					
	Control(0)	IMI (PPM)	ME(con/ml)		IMI+ME	
	Control *	100	10^6	10^7	100-10^6	100-10^7
LT_{50} (day)	708.7	4.5	5.3	3.3	1.4	0.9
95% Fiducial Limits	104.9-5931100021	3.9-5.1	4.9-5.6	3.0-3.6	0	0.8-1

* این اعداد بر اساس پیش‌بینی تجزیه پروبیت ثبت شده است.

اختلاف معنی‌داری بین رشد قطری کلونی قارچ در تیمار شاهد در مقایسه با تیمار ایمیداکلوپرید در غلظت‌های مورد آزمایش (۵۰۰، ۱۰۰، ۱۰ پی‌پی‌ام)، در هیچ‌کدام از روزهای ۳، ۶ و ۹ روز پس از کشت قارچ، مشاهده نشد. از نظر میزان اسپورزایی، تفاوت معنی‌داری بین تیمار شاهد و غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام از ایمیداکلوپرید وجود نداشت. اما با افزایش غلظت حشره‌کش از میزان اسپورزایی کاسته شد به‌طوری‌که در غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام از میزان اسپورزایی کاسته شده و دارای اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها می‌باشد. در محاسبات مقادیر T، ایمیداکلوپرید در غلظت‌های ۱۰ و ۱۰۰ پی‌پی‌ام با مقادیر به ترتیب ۹۴/۳ و ۹۲/۷ سازگار و غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام با مقدار T=۵۹/۲ دارای سمیت متوسط اعلام می‌شود. این در حالی است که نوس و همکاران (Neves *et al.* 2001) ایمیداکلوپرید را با قارچ *M. anisopliae* (strain E9) سازگار اعلام کردند که با توجه به حساسیت‌های مختلف جدایه‌ها نسبت به سموم شیمیایی قابل توجیه است. همچنین نوع فرمولاسیون ترکیبات به کار رفته نیز می‌تواند تا اندازه‌ای در میزان سازگاری این سموم با قارچ مؤثر واقع شود. اثرات فرمولاسیون حشره‌کش مهمتر از ماده مؤثره‌ی سموم است هر چند ماده مؤثره‌ی ترکیبات نیز می‌توانند اثرات قارچ-کشی داشته باشند. کارناتاکا (Karnataka, 2007) از بین سموم مختلف مورد آزمایش خود، در کاربرد توأم با قارچ *M. anisopliae*، ایمیداکلوپرید و اسپینوزاد را به ترتیب با تنها ایجاد ۱۱/۱۰ درصد و ۵/۱۰ درصد ممانعت در رشد قارچ، از دسته‌ی سموم سازگار با قارچ مذکور اعلام داشت. بوکیاس و همکاران (Boucias *et al.*, 1996) ضمن این‌که این حشره کش را با قارچ *B. bassiana* سازگار اعلام کردند، اثرات افزایشی کاربرد هم‌زمان غلظت‌های زیرکشنده‌ی آن را با قارچ مذکور علیه حشرات اثبات کرده و اثرات افزایشی قارچ در کشندگی حشره هدف را، به ایجاد اختلال در رفتار دفع کنیدی قارچ از سطح کوتیکول بدن حشره، اعلام می‌کنند. در این تحقیق، در بین تیمارهای مختلف، تیمارهای توأم بهترین تیمار در ایجاد کشندگی می‌باشند. و به‌عبارت دیگر اثرات تشدیدکنندگی حشره‌کش بر قارچ نشان داده شد. که با نتایج راماکریشنان و همکاران (Ramakrishnan *et al.*, 1999)، مطابقت دارد. زورک و همکاران (Zurek *et al.*, 2002) اثرات افزایشی کاربرد توأم حشره‌کش بوریک اسید و قارچ *M. anisopliae* را علیه سوسری آلمانی نشان دادند به طوری‌که در مواقع کاربرد قارچ به تنهایی در مدت ۲۸ روز حدود ٪۹۸ از جمعیت سوسری‌ها از بین رفتند. این در حالی است که در شرایط کاربرد قارچ به همراه اسید بوریک تنها در مدت ۸ روز ٪۱۰۰ جمعیت آنها از بین رفتند. پائولا و همکاران (Paula *et al.*, 2011) نیز اثرات افزایشی حشره‌کش ایمیداکلوپرید را بر قارچ‌های بیمارگر نشان دادند و بیان داشتند که پشه‌های *Aedes aegypti* تیمار شده با هر دو عامل در مقایسه با پشه‌های تنها تیمار شده با قارچ، بقای کمتری دارند. راسل و همکاران(Russell *et al.*, 2010)، اثرات افزایشی کاربرد توأم ایمیداکلوپرید و قارچ *M. brunneum* را علیه سوسک *Anoplophora glabripennis* به اثبات رسانیدند.

با توجه به نتایج به دست آمده در بررسی میزان سازگاری، می‌توان اعلام کرد که کاربرد توأم ایمیداکلوپرید و قارچ *M. anisopliae* قابل توصیه است. فرمول ارائه شده جهت محاسبه‌ی سازگاری، اثرات ترکیبات سمی روی عوامل بیمارگر را در شرایط آزمایشگاهی نشان می‌دهد. در شرایط آزمایشگاهی، این عوامل در معرض حداکثر مواد سمی به کار رفته قرار می‌گیرند. این در حالی است که چنین شرایطی در شرایط مزرعه اتفاق نخواهد افتاد. سازگاری حشره‌کش با قارچ در شرایط آزمایشگاهی می‌تواند گواه محکمی بر قابلیت انتخاب یک حشره‌کش جهت کاربرد توأم آن با قارچ در شرایط مزرعه‌ای باشد. و همین‌طور سمیت بالا در شرایط آزمایشگاهی همیشه بدین معنی نخواهد بود که در شرایط مزرعه نیز چنین سمیتی رخ خواهد داد ولی می‌تواند نشان-دهنده‌ی امکان ایجاد چنین شرایطی باشد. لذا بایستی تلفیق این

قارچ با ایمیداکلوپرید در شرایط طبیعی انجام شود تا بتوان توصیه‌های مطمئن‌تری را ارائه کرد.

سپاسگزاری

بدینوسیله ازمعاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهیدچمران اهواز به خاطر فراهم‌آوردن بخشی از امکانات مالی و اجرائی این‌طرح صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

References

Antonio, B. F., Almeida, J. E. M. and Clovis, L. 2001. Effect of Thiamethozam on entomopathogenic microorganisms. **Neotropical Entomology** 30(3): 437-447.

Asi, M. R., Bashir, M. H., Afzal, M., Ashfaq, M. and Sahi, T. S. 2010. Compatibility of entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces fumosoroseus* with selective insecticides. **Pakistan Journal of Botany** 42(6): 4207-4214.

Boucias, D. G., Stokes, C., Storey, G. and Pendland, J. C. 1996**.**The effects of imidacloprid on the termite *Reticulitermes flavipes* and its interaction with the mycopathogen *Beauveria bassiana*.**Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer** 49(2): 103-144.

Habibpour, B. 1994.Termite (Isoptera) fauna, economical importance and their biology in Khuzestan, Iran. Master of Science Thesis.College of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahvaz. 143 pp. (in Farsi)

Jaramillo, J., Borgemeister, C., Ebssa, L., Gaigl, A., Tobon, R., Zimmermann, G. 2005. Effect of combined application of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycets) strain CIAT 224 and different dosages of imidacloprid on the subterranean burrower bug *Cyrtomenus bergi* Froeschner (Hemiptera: Cydnidae). **Biological Control**, 34: 12-20

Karnataka, J. 2007**.** Effect of agrochemicals on growth and sporulation of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin. **Agricultural Science**, 20(2): (410-413).

Majid, A. B., A. H. Ahmed & R. M. Z. A. 2007. Preliminary field efficacy of Imidacloprid on *Globitrmes sraulphureus* (Iso.:Termitidae)(Subterranean termite) in Penang. **Journal of Bioscience** 18(2):109-114.

Malekan, N., Hatami, B., Ebadi, R. and 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** 78(1):113-117. (in Farsi)

Milner, R. J. and Staples, J. A. 1996**.** Biological control of termites. Results and experience within a CSIRO project in Australia. **Biocontrol Science and Technology** 6: 3-9.

Neves, P. M. O. J., Hirose, E., Tchujo, P. T. and Alcides Monio, A. Jr. 2001**.** Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoid insecticides. **Neotropical Entomology** 30(2): 263-268.

Pachamuthu, P., Kamble, S. T., Yuen, G. Y. 1999. Virulence of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) Strain ESC-1 to the German cockroach (Dictyoptera: Blatellidae) and its compatibility with insecticides. University of Nebraska – Lincoln, http:// digitalcommons.unl.edu / entomologyfacpub / 311.

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** 4:1-8.

Ramakrishnan, R., Suiter, D. R., Nakatsu, Cindy. H., Humber, R. A. and Bennett, G. W. 1999.Imidacloprid-Enhanced *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae) susceptibility to the entomopathogen *Metarhizium*. **Journal of Economic Entomology** 92(5): 1125-1132.

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** 105:305-311.

Santos, A. V., Oliveria, B. L. and Samuels, R. I. 2007**.** Selection of entomopathogenic fungi for use in combination with sub-lethal doses of imidacloprid: Perspective for the control of the leaf-cutting ant *atta sexdens rubropilosa* Forel (Hymenoptera: Formicidae). **Mycopathologia** 163: 223-240.

Yanagawa, A., Yokohari, F. and Shimizu, S. 2009. The role of antennae in removing entomopathogenic fungi from cuticle of the termite, *Coptotermes formosanus.***Insect Science**, 9(6).

Zurek, D., Waston, W. and Schal, C. 2001. Synergism between *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycota: Hyphomycetes) and Boric Acid against the German Cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). **Biological Control** 23: 296-302.

Plant Pests Research
2015- 5(1): 27-36

Compatibility of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae senso lato* with imidacloprid for control of *Microcerotermes diversus* Silvestri (Iso.:Termitidae) in labratory conditions

M. Shaabani[1], B. Habibpour*[2] and M. S. Mossadegh[3]
1, 2 and 3. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahid Chamran University of Ahwaz

(Received: February 5, 2014- Accepted: November12, 2014)

Abstract

Proliferation and virulence of entomopathogenic fungi can be affected by exposure to pesticides. Compatibility of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (DEMI 001 strain) with imidacloprid (IMI) was assayed by evaluating IMI effects on conidial germination, mycelial growth and sporulation. SDAY fungal cultivation medium was amended with IMI at concentrations of 10, 100 and 500 ppm. SDAY medium without insecticide was used as control treatment. The medium was inoculated by conidial suspension and the number of germinated conidia was counted after 24 h. Mycelial growth and sporulation were also measured. Results showed that IMI had no negative effect on conidial germination or mycelial growth. However, sporulation was progressively reduced as IMI concentrations increased. At the highest concentration of IMI, sporulation was reduced to 2.40×10^{7} conidia ml^{-1}, compared with control at 4.93×10^{7} conidia ml^{-1}. According to these results, IMI is reasonably compatible with strain DEMI 001. Additionally, mortality of *M. diversus* caused by either *M. anisopliae* or IMI alone, and in combination with different sublethal concentrations of IMI, was evaluated in laboratory bioassays. Mortality in combined treatments was significantly higher compared with non-combination treatments, indicating possible synergistic effects.

Key words: *Metarhizium anisopliae*, Compatibility of insecticides, *Microcerotermes diversus*, Biological control, Neonicotinoids

Corresponding author: habibpour_b@scu.ac.ir