

حساسیت شته‌فندق به جدایه‌های مختلف قارچ *Metarhizium anisopliae* (Metsch) روی حشرات کامل شته‌فندق *Myzocallis coryli* (Goetze) (Hemiptera: Aphididae) در شرایط آزمایشگاهی و باغی

رعنا آقازاده^۱، محمدرضا زرگران^{۲*}، شهرام آرمیده^۳ و مهدی رزمی^۴

- ۱- کارشناسی ارشد جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. (aghazadeh1375@yahoo.com)
- ۲- استادیار، گروه جنگلداری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. (m.zargaran@urmia.ac.ir)
- ۳- دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. (sh.aramideh@urmia.ac.ir)
- ۴- دکتری گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. (m.razmi@urmia.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۲۶

چکیده

شته‌فندق از آفت‌های مهم فندق است. این شته ساقه و برگ درختان فندق را مورد حمله قرار داده و در صورت افزایش جمعیت، با تغذیه از برگ سبب خشک شدن و ریزش برگ‌ها می‌شود. استفاده از قارچ‌های بیمارگر حشرات در کنترل شته‌فندق به دلیل کاهش عوارض مضر زیست‌محیطی به‌عنوان یک اولویت مدنظر قرار گرفته‌اند. این بررسی بر پایه قارچ‌های بیمارگر حشرات با استفاده از جدایه‌های DEMI001، M14، V245 و IRAN715C مربوط به قارچ *Metarhizium anisopliae* روی حشرات کامل شته‌فندق در شرایط آزمایشگاهی و باغی انجام شد. برای ارزیابی سمیت چهار جدایه، از غلظت کشنده پنجاه درصد LC₅₀ با استفاده از برنامه پروبیت استفاده شد. نتایج LC₅₀ حاصل از تأثیر جدایه‌های IRAN715C، DEMI001، M14 و V245 روی حشرات کامل شته‌فندق در شرایط آزمایشگاه و شرایط باغی به ترتیب $1/9 \times 10^6$ ، $2/34 \times 10^6$ ، $0/46 \times 10^6$ ، $1/79 \times 10^6$ کنیدی بر میلی‌لیتر و $7/15 \times 10^6$ ، $1/10 \times 10^6$ ، $4/86 \times 10^6$ کنیدی بر میلی‌لیتر محاسبه شدند. نتایج نشان داد جدایه M14 روی حشرات کامل شته‌فندق مؤثرتر است. همچنین برای کنترل شته‌فندق بالغ در شرایط باغی به غلظت بالاتری از سوسپانسیون قارچی در مقایسه با شرایط آزمایشگاهی نیاز است. در بررسی اثر تلفیقی بین دو جدایه مؤثر، اثر افزایشی و سینرژیستی مشاهده نشد. از این‌رو استفاده از جدایه M14 در برنامه مدیریت تلفیقی شته‌فندق قابل توصیه است.

واژه‌های کلیدی: جنگل، فندق، قارچ بیمارگر، کنترل بیولوژیک

مقدمه

می دهد که شته فندق به بسیاری از حشره کش ها مقاوم شده است. استفاده از روش های کنترل بیولوژیکی به ویژه در جنگل، روش جایگزین برای کنترل حشرات است. در کنترل بیولوژیکی آفت ها از بندپایان شکارگر، پارازیتوئیدها و میکروارگانیسم ها استفاده می شود (Aker and Tuncer, 2016).

بیمارگرهای حشرات به عنوان ابزار کنترل بیولوژیک برای کنترل حشرات آفت در کشاورزی و جنگل به طور وسیع استفاده می شوند (Talepour et al., 2015; Aramideh, 2016; Singh and Kaur, 2020; Altahawi et al., 2021). استفاده از قارچ های بیمارگر حشرات در کنترل شته فندق نیز به عنوان یک اولویت در نظر گرفته شده و دلیل استفاده از آن نسبت به سموم شیمیایی کاهش عوارض مضر زیست محیطی این عوامل است (Altahawi et al., 2021; Gantner et al., 2019). از معروف ترین قارچ های بیمارگر حشرات می توان از دو گونه قارچ *Beauveria* (Vuillemin) *bassiana* و *Metarhizium anisopliae* نام برد (Metschnikoff) (Nawaz et al., 2022). این قارچ ها به عنوان انگل بسیاری از گونه های بندپایان هستند و با توجه به رنگ اسپور سبب ایجاد بیماری موسکاردین سفید و سبز می شوند (Bathina and Bonam, 2020). گونه هایی از جنس *M. anisopliae* فرصت طلب بوده و به شکل انگل در میزبان زندگی می کنند. این قارچ ها دارای مرحله ساپروفیتی بوده و پس از مرگ در جسد میزبان نیز رشد می کنند (Yun et al., 2022; Nawaz et al., 2017). در بررسی کنترل بیولوژیک سوسک شاخک بلند سارتا *Aeolesthes sarta* Solsky توسط سه قارچ بیمارگر *M. anisopliae* و *Lecanicilium* sp. و *B. bassiana* نتایج نشان داد که هر سه قارچ توانایی بیمارگری روی لارو سوسک سارتا را دارند (Farashiani et al., 2008).

فندق (*Corylus avellana* L.) درخت بومی اروپا، آسیای صغیر، قفقاز و ایران است (Aghabarati et al., 2018). این گیاه یک محصول سنتی است که حاشیه تولید آن بیشتر در دریای سیاه است. ترکیه بزرگ ترین تولیدکننده فندق جهان است به طوری که ۷۰ درصد کل تولید فندق جهان را تولید می کند. این در حالی است که ایران در رده هفتم تولید فندق در دنیا قرار دارد (Amini-Noori et al., 2016). شرایط اکولوژیکی در شمال کشور به شکلی است که فندق توانسته به عنوان یک گونه جنگلی سطح گسترده ای از جنگل های شمال کشور را به خود اختصاص دهد. در ایران گونه *C. avellana* در جنگل های آستارا، ارسباران، تالش، کوه های الموت، طارم، زنجان و در جنگل های گلی داغی به صورت بومی مشاهده شده است. ایران با توجه به تنوع آب و هوایی می تواند به یکی از کشورهای تولیدکننده فندق تبدیل شود (Aghabarati et al., 2018). شته فندق *Myzocallis coryli* (Hemiptera: Aphididae) Goetze از مهم ترین آفت ها فندق است و میزبان اصلی آن درختان و درختچه های فندق از جنس *Corylus* هستند. این حشره از آفت ها مهم فندق در شمال آمریکا، ایتالیا، اسپانیا و ترکیه است (Aqaverdi and Inqilab, 2019). این شته به برگ ها و شاخه های جوان درختان فندق حمله کرده و سبب آسیب مستقیم (ریزش برگ و کاهش رشد درختان) و غیرمستقیم (پوکی مغز فندق) می شود (Aker and Abaci, 2016). شته فندق در ایران نخستین بار در سال ۱۳۴۰ توسط فرح بخش گزارش شد و در تمام نقاط کشور با درجه اهمیت اقتصادی زیاد انتشار دارد (Yarahmadi and Rajabpour, 2012). روش های کنترلی علیه شته فندق شامل استفاده از حشره کش ها، کنترل بیولوژیک و استفاده از ارقام مقاوم بوده ولی نتایج پژوهش ها نشان

استفاده از روش کنترل بیولوژیکی بر پایه قارچ‌های بیمارگر هدف این پژوهش بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در باغ تحقیقاتی با مختصات جغرافیایی ۳۷ درجه و ۶۵ دقیقه و ۴۸ ثانیه طول شرقی و ۴۴ درجه و ۹۷ دقیقه و ۴۶ ثانیه عرض شمالی روی درختان فندق وارینه لونگ داسپاین که به فاصله چهار متر از یکدیگر (روی ردیف‌هایی به فاصله ۴ متر) کاشته شده بودند انجام شد. همچنین بخش آزمایشگاهی این پژوهش نیز در گروه گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه در سال ۱۳۹۶ انجام شد.

چهار جدایه مختلف از قارچ بیمارگر *M. anisopliae* که از مناطق جغرافیایی متفاوت جداسازی شده بودند در پژوهش‌های زیست‌سنجی مورد استفاده قرار گرفتند. برخی از ویژگی‌های جدایه‌ها در جدول ۱ ذکر شده است.

در پژوهشی با هدف بررسی بیمارگری چهار جدایه از قارچ *B. bassiana* و یک جدایه از قارچ *Isaria farinosae* (Holmsk) روی لارو سن چهارم آفت پروانه سفید اشجار انجام شد و جدایه‌ای از *B. bassiana* با ایجاد ۳۹ درصد تلفات، بیشترین و جدایه از *I. farinosae* با ۳۰/۸ درصد مرگ‌ومیر در رده بعدی قرار داشتند (Ajamhassani et al., 2012). Aker and Tuncer (2016) در یک بررسی و در راستای اثربخشی قارچ *M. anisopliae* روی شته‌فندق دریافتند که این قارچ در کنترل بیولوژیکی حشرات کامل شته‌فندق بسیار توانا است. (Fernandez-Grandon et al. (2020) در پژوهشی کارآیی قارچ‌های بیمارگر را روی حشرات مختلف مورد بررسی قرار داده و مقدار کنترل بالایی از آفت‌ها مختلف را توسط قارچ‌های بیمارگر گزارش کردند. در راستای رسالت حفاظت از محیط‌زیست و کاهش آلودگی‌های ناشی از کاربرد سموم شیمیایی و همچنین در برای کاهش جمعیت آفت شته‌فندق

جدول ۱- جدایه‌های قارچ بیمارگر *M. anisopliae* مورد استفاده

Table 1. The used isolates of the entomopathogenic fungi *M. anisopliae*

جدایه <i>M. anisopliae</i>	میزبان	مکان جداسازی
Isolates of <i>M. anisopliae</i>	Host	Location
IRAN715C	ملخ <i>Locust sp. (Orthoptera: Acrididae)</i>	ایران، اهواز Ahvaz, Iran
DEMI001	سخت‌بالپوش <i>Rhynchophorus ferrugineus (Coleoptera: Curculionidae)</i>	ایران، سراوان Saravan, Iran
M14	خاک Soil	ایران، گرمسار Garmsar, Iran
V245	خاک Soil	فنلاند Finland

آب مقطر استریل مخلوط و حجم آن به یک لیتر رسانده شد. عمل استریل کردن در اتوکلاو و با دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار ۱/۵ اتمسفر به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. بعد از خارج کردن محیط کشت از اتوکلاو و خنک

تکثیر آزمایشگاهی قارچ‌ها

برای تکثیر آزمایشگاهی جدایه‌های قارچی از محیط کشت (SDA) Sabourauds Dextrose agar استفاده شد. برای تهیه محیط کشت ۶۵ گرم از پودر SDA با

جدایه‌های قارچ *M. anisopliae* انتخاب و آزمایش‌های مقدماتی با سه تکرار در هر تیمار و در هر تکرار ۳۰ عدد حشره کامل شته فندق انجام شد.

آزمایش زیست‌سنجی در آزمایشگاه

بعد از تهیه غلظت‌های موردنظر قارچی (غلظت‌هایی که ۲۰ تا ۸۰ درصد تلفات ایجاد کردند)، روی حشرات کامل به تعداد ۱۰ عدد در هر تکرار به‌طور هم‌زمان به مدت ۱۰ ثانیه در سوسپانسیون‌های مربوطه غوطه‌ور شدند و بعد از آن روی برگ‌های فندق که درون پتری استریل قرار گرفته بودند، منتقل شدند. درون پتری یک قطعه پنبه برای تأمین رطوبت قرار داده شد. ارزیابی آلودگی یا بیمارگری روی شته‌ها بعد از گذشت ۱۰ روز ادامه یافت. شته‌هایی که مشکوک به آلودگی بودند و با نزدیک کردن سوزن به بدن آن‌ها حرکتی نداشتند، در درون پتری حاوی کاغذ صافی استریل مرطوب قرار داده شدند و به انکوباتور با دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس منتقل شدند. پتری‌ها روزانه بررسی شده و در صورت وجود پوشش قارچی در سطح شته‌ها، به‌عنوان حشرات آلوده شده توسط قارچ محاسبه شدند. آزمایش‌های زیست‌سنجی در سه تکرار و با هفت غلظت برای هر جدایه به‌همراه شاهد انجام شد. در هر تکرار تعداد ۱۰ عدد شته کامل به روش غوطه‌وری در سوسپانسیون تیمار شدند (Gurulingappa et al., 2011).

برای تیمار شاهد در شرایط یکسان از آب مقطر استریل همراه با ۰/۰۵ درصد Tween-80 استفاده شد. برای محاسبه LT_{50} نیز دو غلظت (10^7 و 10^8 کنیدی بر میلی‌لیتر) روی ۳۰ عدد حشره کامل شته هرکدام به روش فوق در آزمایشگاه انجام و مرگ‌ومیر در زمان‌های مختلف ثبت شدند.

آزمایش‌های زیست‌سنجی در باغ

زیست‌سنجی مقدماتی که با غلظت‌های مختلف جدایه قارچی روی حشرات کامل شته فندق انجام شد و

شدن آن، محیط کشت در زیر هود و در کنار شعله، به درون تشتک‌های پتری استریل هشت سانتی‌متری ریخته شد. جدایه‌های قارچی در داخل تشتک‌های پتری کشت شدند. کشت دادن و تکثیر قارچ در زیر هود و در کنار شعله چراغ گاز در شرایط کاملاً استریل انجام شد. عمل کشت توسط لوپ استریل انجام شد. نمونه برداشته‌شده از محیط کشت مادر به محیط کشت جدید منتقل و به‌سرعت درب آن بسته شد. بعد از کشت قارچ روی محیط کشت ذکرشده ظروف پتری به‌مدت ۱۵ روز در انکوباتور با دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس و در شرایط تاریکی نگهداری شدند تا کنیدی‌زایی قارچ به‌اندازه کافی انجام شود.

برای تهیه سوسپانسیون کنیدیومی، از کشت‌هایی که در آن‌ها کنیدیوم‌زایی به‌صورت کامل انجام شده بود (۱۵ تا ۲۰ روز پس از کشت) استفاده شد. کنیدیوم‌ها توسط تیغه آزمایشگاهی استریل از محیط کشت خراش داده شد و داخل لوله‌های آزمایش حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل که به آن ۰/۰۵ درصد Tween-80 اضافه شده بود، به‌صورت سوسپانسیون درآمدند. درب لوله‌ها بسته‌شده و لوله‌ها به‌خوبی تکان داده شدند. سپس از چند لایه پارچه ململ عبور داده شدند تا میلیسیم‌ها و احتمالاً قطعات محیط کشت حذف شوند. برای تهیه سوسپانسیون با غلظت بالا، لوله‌های آزمایش در دمای اتاق به‌مدت یک ساعت قرار داده شده و پس از ته‌نشین شدن کنیدی‌ها، آب مقطر رونشین دور ریخته شده و کنیدی‌های چند لوله باهم مخلوط شدند. برای تعیین تراکم اسپوری از لام نئوبار Marienfeld ساخت آلمان (گلوبول شمار) استفاده شد و غلظت موردنظر اسپوری با افزودن مقدار مشخص آب مقطر استریل به داخل سوسپانسیون اصلی تهیه شد. برای انجام آزمایش‌های مقدماتی و دستیابی به غلظت‌های نهایی برای انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی، هفت غلظت از

اساس مقدار LC₅₀ و LC₂₅ تعیین و آزمایش در چهار تیمار شامل (LC₅₀ M14, LC₅₀ DEMI001, LC₂₅ DEMI001+LC₂₅ M14 و شاهد) هر تیمار در سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. تلفات پس از ۱۰ روز با مشاهده شته‌هایی که خشک شده و تغییر رنگ داده بودند و یا به‌آسانی از برگ جدا می‌شدند، به‌عنوان مرده محسوب و شمارش شدند.

تجزیه تحلیل داده‌ها

داده‌های حاصل از مرگ‌ومیر و حشرات کامل آفت بعد از اصلاح با فرمول Abbott (۱۹۲۵) به روش تجزیه Probit در نرم‌افزار (SPSS 19) آنالیز و مقادیر LC₂₅ و LC₅₀ محاسبه شدند. همچنین مرگ‌ومیر ناشی از تیمارهای مختلف بعد از تغییر شکل داده‌ها در صورت نرمال نبودن آن‌ها و معنی‌دار نشدن تست لون به فرم $\text{Arcsin}\sqrt{x}$ انجام و تجزیه واریانس ANOVA و مقایسه میانگین‌ها به روش TUKEY در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel-2010 استفاده شد.

نتایج

تعیین LC₅₀ قارچ‌ها روی حشرات کامل در آزمایشگاه و باغ

تجزیه پروبیت حاصل از تأثیر جدایه‌های مختلف قارچ بیمارگر *M. anisopliae* روی حشرات کامل شته‌فندق در شرایط آزمایشگاه و باغ در جدول ۲ نشان داده شده است.

نتایج حاصل از تأثیر جدایه‌های مختلف قارچ *M. anisopliae* روی حشرات کامل شته نشان داد که با توجه به LC₅₀ محاسبه شده جدایه M14 کارایی خوبی روی این مرحله از زندگی آفت در شرایط آزمایشگاهی و باغ دارد.

غلظت‌هایی که بین ۲۰ - ۸۰ درصد مرگ‌ومیر ایجاد کردند تعیین شدند. این غلظت‌ها به‌عنوان غلظت حداقل و حداکثر انتخاب و در حد فاصل آن‌ها نیز پنج غلظت با فاصله لگاریتمی برای زیست‌سنجی انتخاب شدند. برای آزمایش‌های زیست‌سنجی از هر جدایه قارچی هفت غلظت به‌همراه شاهد در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در نمونه‌های مساوی در هر واحد آزمایشی مورد بررسی قرار گرفتند. برای پاشیدن غلظت‌های مختلف روی شته‌فندق روی برگ گیاه میزبان، از سم‌پاش دستی استفاده شد. به‌این صورت که برای هر تکرار، یک برگ فندق (در ارتفاع برابر سینه) در فاصله ۲۵ سانتی‌متری نازل سم‌پاش به‌صورت عمودی نگه‌داشته شده و سوسپانسیون موردنظر به‌صورت یکنواخت با قطرات بسیار ریز روی برگ‌ها و حشرات کامل پاشیده شد. پس از اسپورپاشی، برگ‌ها به‌همراه آفت در داخل پتری‌دیش‌هایی حاوی تور بسیار ریز که هوای باغ در آن جریان داشت قرار گرفتند و به‌وسیله کش روی برگ ثابت شدند. سپس درب ظرف بسته شد. واحدهای آزمایشی بازدید و مقدار مرگ‌ومیر شته‌ها بعد از ۱۰ روز ثبت شدند. برای اثبات بیمارگری قارچ، شته‌های مرده در زیر میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفته و با مشاهده هیف و میسلیم روی شته‌ها و همچنین بررسی با قلم مو و نداشتن علایمی مانند حرکت به‌عنوان مرده تلقی شدند. برای اندازه‌گیری LT₅₀ نیز دو غلظت روی ۳۰ عدد شته بالغ در باغ پاشیده شد و مرگ‌ومیر در زمان‌های مختلف ثبت شدند.

تأثیر تلفیقی دو جدایه

این آزمایش به‌منظور بررسی خاصیت تلفیقی دو جدایه مؤثر M14 و DEMI001 طراحی شد. بدین منظور بعد از تعیین مقادیر LC₂₅ و LC₅₀ هر دو قارچ، اثرهای توأم آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. مقادیر هر دو قارچ بر

جدول ۲- تجزیه پروبیت حاصل از جدایه‌های مختلف قارچ *M. anisopliae* روی حشرات کامل شته‌فندق در شرایط آزمایشگاهی و باغی

Table 2. Probit analysis of *M. coryli* adults' concentration-mortality reactions to different isolates of *M. anisoplia* under laboratory and field settings

تیمار Treatments	شیب خط Slop ± SE	کای اسکوئر χ^2 (df=2)	غلظت زیر کشندگی	غلظت کشندگی	غلظت کشندگی	
			LC ₂₅ ($\times 10^6$ conidia/ml) (95% CLs)	LC ₅₀ ($\times 10^6$ conidia/ml) (95% CLs)	LC ₉₀ ($\times 10^8$ conidia/ml) (95% CLs)	
آزمایشگاه Laboratory	IRAN715C	0.38±0.06	0.62	0.92 (0.26-1.20)	1.90 (0.76-4.28)	4040 (136-615)
	DEMI001	0.58±0.06	6.41	1.04 (0.18-21.01)	2.34 (0.14-111.00)	363 (22-789)
	M14	0.85±0.08	3.56	0.26 (0.18-0.99)	0.46 (0.28-0.76)	15.1 (8.41-33.8)
	V245	0.49±0.06	0.55	0.88 (0.39-3.51)	1.79 (0.89-3.41)	704 (198-5470)
بازه Field	IRAN715C	0.45±0.06	2.46	3130 (1822-15550)	7150 (2820-14500)	49000 (13100-449000)
	DEMI001	0.43±0.06	2.16	51062 (2911-99222)	101000 (4900-249000)	8990000 (141000-231000)
	M14	0.65±0.07	0.81	2833 (1522-9370)	4860 (2500-8340)	4490 (2080-13600)
	V245	0.55±0.67	0.21	8700 (5756-15188)	14700 (7720-26100)	2990000 (10500-147000)

تعیین LT_{50} جدایه‌های قارچ روی حشرات کامل شته‌فندق *M. coryli* در غلظت‌های 10^{11} و 10^{12} کنیدی بر میلی‌لیتر در باغ

تجزیه پروبیت حاصل از تأثیر جدایه‌های مختلف قارچ بیمارگر *M. anisopliae* روی حشرات کامل شته‌فندق *M. coryli* در غلظت‌های 10^{11} و 10^{12} (کنیدی بر میلی‌لیتر) در باغ در جدول ۴ نشان داده شده است. نتایج حاصل از تأثیر جدایه‌های مختلف قارچ‌های *M. anisopliae* روی مرحله حشرات کامل شته نشان داد که با توجه به LT_{50} محاسبه شده جدایه M14 کنترل خوبی روی این مرحله از زندگی آفت دارد.

تعیین LT_{50} جدایه‌های قارچ روی حشرات کامل شته‌فندق در غلظت‌های 10^7 و 10^8 کنیدی بر میلی‌لیتر در شرایط آزمایشگاه

نتایج حاصل از تأثیر جدایه‌های مختلف قارچ‌های *M. anisopliae* روی حشرات کامل شته‌فندق در غلظت 10^7 و 10^8 (کنیدی بر میلی‌لیتر) در آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت و در جدول ۳ ارائه شده است. نتایج حاصل از تأثیر جدایه‌های مختلف قارچ بیمارگر *M. anisopliae* روی حشرات کامل شته‌فندق نشان داد که با توجه به LT_{50} محاسبه شده جدایه M14 کنترل خوبی روی این مرحله از زندگی آفت دارد.

جدول ۳- تجزیه پروبیت زمان مرگ و میر حاصل از تأثیر جدایه‌های مختلف قارچ *M. anisopliae* روی حشرات کامل شته‌فندق در غلظت‌های 10^7 و 10^8 (کنیدی بر میلی‌لیتر) در شرایط آزمایشگاهی

Table 3. Probit analysis of time-mortality responses of adults of *Myzocallis coryli* to different isolates of *M. anisopliae* at the concentrations of 10^7 and 10^8 (conidia/ml) under laboratory condition

غلظت Dosage	تیمار Treatments	شیب خط \pm خطای استاندارد Slop \pm SE	کای اسکوتر χ^2 (df=8)	زمان مرگ و میر LT ₅₀ (95% CLs) (day)
10^7 (conidia/ml)	IRAN715C	3.39 \pm 0.29	6.57	8.22 (7.64-8.98)
	DEMI001	4.35 \pm 0.38	7.51	8.74 (8.21-9.45)
	M14	4.47 \pm 0.28	1.65	5.19 (4.91-5.46)
	V245	2.73 \pm 0.25	20.70	5.41 (4.64-6.30)
10^8 (conidia/ml)	IRAN715C	3.94 \pm 0.29	2.25	6.82 (6.44-7.25)
	DEMI001	3.64 \pm 0.30	0.56	8.29 (7.73-9.01)
	M14	3.32 \pm 0.21	19.92	4.06 (3.51-4.59)
	V245	2.79 \pm 0.19	2.36	4.46 (4.12-4.82)

جدول ۴- تجزیه پروبیت زمان مرگ و میر حاصل از تأثیر جدایه‌های مختلف قارچ *M. anisopliae* روی حشرات کامل شته‌فندق در غلظت‌های 10^{11} و 10^{12} (کنیدی بر میلی‌لیتر) در باغ

Table 4. Probit analysis of time-mortality responses of *M. coryli* adults to different isolates of *M. anisopliae* at the concentrations of 10^{11} and 10^{12} (conidia/ml) under field condition

غلظت Dosage	تیمار Treatments	شیب خط \pm خطای استاندارد Slop \pm SE	کای اسکوتر χ^2 (df=8)	زمان مرگ و میر LT ₅₀ (95% CLs) (day)
10^{11} (conidia/ml)	IRAN715C	3.31 \pm 0.23	8.05	5.57 (5.32-5.95)
	DEMI001	2.73 \pm 0.25	2.04	8.75 (7.97-9.84)
	M14	3.74 \pm 0.25	5.48	5.58 (5.25-5.92)
	V245	3.66 \pm 0.27	5.42	7.09 (6.67-7.59)
10^{12} (conidia/ml)	IRAN715C	2.63 \pm 0.19	1.39	5.30 (4.90-5.75)
	DEMI001	2.31 \pm 0.19	2.21	6.66 (6.08-7.38)
	M14	3.22 \pm 0.21	8.10	4.58 (4.26-4.89)
	V245	3.23 \pm 0.22	13.42	5.64 (5.09-6.26)

V245 و M14 روی حشرات کامل شته فندق در شرایط باغی معادل ۰/۹۵۳، ۰/۹۵۷، ۰/۹۹۸ و ۰/۹۹۳ بود، بیشترین رابطه رگرسیونی و برازش مربوط برای جدایه V245 به ثبت رسید.

اثر تلفیقی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به تلفات حشرات کامل شته فندق ۱۰ روز پس از آزمایش در شرایط آزمایشگاهی در سطح احتمال آماری ۵ درصد انجام و اختلاف معنی‌دار مشاهده شد $(f(3, 8) = 23.167, P=0.001)$ بر اساس آزمون توکی در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری بین کل تیمارها وجود دارد. بین تیمارهای تنهای قارچ و ترکیبی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. از این رو خاصیت سینرژیستی و افزایشی بین دو جدایه مؤثر قارچ وجود ندارد (جدول ۵).

ضریب همبستگی بین غلظت‌های مختلف جدایه‌های قارچی و تلفات حشرات کامل شته فندق در آزمایشگاه و باغ

تأثیر غلظت جدایه‌های مختلف قارچ *M. anisopliae* روی حشرات کامل شته فندق در آزمایشگاه و باغ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد با توجه به ضریب تبیین (R^2) حاصل از تأثیر لگاریتم غلظت‌های جدایه‌های مختلف شامل DEMI001، IRAN715C، V245 و M14 روی حشرات کامل شته فندق است، در آزمایشگاه به ترتیب معادل ۰/۹۸۵، ۰/۹۲۸، ۰/۹۹۲ و ۰/۹۸۱ به ثبت رسید.

بیشترین اندازه رگرسیونی و برازش مربوط به جدایه V245 بود. همچنین با توجه به ضریب تبیین (R^2) حاصل از تأثیر لگاریتم غلظت‌های جدایه‌های مختلف قارچ‌ها که شامل DEMI001، IRAN715C،

جدول ۵- مقایسه میانگین تلفات حشرات کامل شته فندق تحت تأثیر تیمارهای ترکیبی و ترکیبی دو جدایه مؤثر با استفاده

آزمون توکی در سطح ۵ درصد

Table 5. Comparison of the average mortality of adults *M. coryli* under the influence of single and combined treatments using Tukey test ($P=0.05$)

میانگین \pm انحراف معیار	تیمار
Mean \pm SE	Treatments
60.00 \pm 0.01 ^a	LC ₅₀ M14
56.60 \pm 0.33 ^a	LC ₅₀ DEMI001
61.00 \pm 0.01 ^a	LC ₂₅ DEMI001+ LC ₂₅ M14
1.66 \pm 0.33 ^b	Control

نتیجه‌گیری کرد که در هر منطقه و موقعیتی باید جدایه مناسب آن شرایط را انتخاب و پس از تولید انبوه، استفاده کرد. به‌طور کلی نتایج این پژوهش، پتانسیل کاربرد قارچ‌های بیمارگر را نشان می‌دهد و به‌نظر می‌رسد به‌همراه دیگر روش‌های کنترل گزینه‌ای ثمربخش در مدیریت تلفیقی آفت‌ها باشد (Karabörklü and Altın, 2020). مشخص شده است

بحث

مقایسه دستاوردهای پژوهش‌های انجام‌شده در داخل و خارج از کشور در مورد کاربرد قارچ‌های بیمارگر حشرات نشان می‌دهد با توجه به گوناگونی جدایه‌ها و شرایط آزمایش، نتایج یکنواخت نیستند و نمی‌توان یک نتیجه واحد از آن‌ها به دست آورد. با در نظر گرفتن این پراکندگی و عدم یکنواختی نتایج، می‌توان این‌طور

و همچنین زمان کشندگی با نتایج تحقیق ذکر شده مطابقت کامل دارد و نتایج به دست آمده نشان دهنده رابطه معنی دار تأثیر غلظت بر مرگ و میر شته‌فندق دارد. در تحقیقی تأثیر جدایه‌های قارچ‌های اندوفیت *B. bassiana* و *L. lecanii* روی قدرت زنده‌مانی و تولیدمثل شته جالیز *Aphis gossypii* (Glover) بررسی شد و نتایج به دست آمده نشان داد که تماس شته با کنیدی‌های هر دو قارچ، طول مدت زمان تولیدمثل شته را کاهش می‌دهد، ضمن این‌که قارچ‌های *B. bassiana* و *L. lecanii* کشت شده در آزمایشگاه به طور قابل توجهی مرگ و میر حشرات را افزایش دادند (Gurulingappa et al., 2011). کشت مداوم یک جدایه و نگهداری طولانی مدت جدایه‌ها در شرایط آزمایشگاهی، حتی در شرایط بهینه، روی بیمارگری جدایه‌ها اثر گذاشته و منجر به اختلاف در توان بیمارگری در بین جدایه‌ها می‌شود (Javed et al., 2019). جدایه‌های قارچ‌های به کار رفته در پژوهش مذکور، مدت زمان طولانی در شرایط آزمایشگاهی نگهداری می‌شدند و شاید بتوان این عامل را دلیلی بر اختلاف مقدار بیمارگری میان جدایه‌های به کار رفته در آزمایشات بیان کرد. اثر بیمارگری دو ایزوله (M440) و (L6) مربوط به قارچ *M. anisopliae* علیه حشرات کامل شته مومی کلم *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus) بررسی و مشاهده شد که مرگ و میر با افزایش غلظت اسپور و زمان تماس افزایش پیدا می‌کند. مقادیر LC_{50} برای جدایه‌های *M. anisopliae* (L6) و *M. anisopliae* (M440) به ترتیب $10^6 \times 3/48$ و $10^6 \times 5/5$ اسپور در هر میلی‌لیتر به دست آمد که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. در تحقیقی تأثیر ۲۳ جدایه از قارچ‌های *M. anisopliae* و *M. acridum* روی شته سبز هلو *Myzus persicae* (Sulzer) بررسی شد و نتایج نشان دادند که تمام جدایه‌ها به جز یکی از

قارچ‌های بیمارگر حشرات یکی از عوامل امیدبخش در کنترل بیولوژیکی آفت‌ها محسوب می‌شوند. زیرا تولید انبوه آن‌ها ساده بوده و سوسپانسیون‌های اسپوری را می‌توان همانند به کارگیری حشره‌کش‌ها مورد استفاده قرار داد (Batta and Kavallieratos, 2018). با توجه به این‌که تیمار قارچ‌های بیمارگر حشرات موجب بروز باقی مانده سمی در تولیدات گیاهی نمی‌شوند، از این رو این قارچ‌ها به عنوان عوامل کنترل ایمن محیط و موجودات غیرهدف مدنظر قرار گرفته‌اند (Karabörklü and Altın, 2020).

Alizadeh et al. (2006) تأثیر جدایه‌هایی از *B. bassiana* و *M. anisopliae* را روی پسپل معمولی پسته *Agonoscyta pistaciae* Burckhardt and Lauterer در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند و کمترین و بیشترین غلظت و زمان کشندگی را در جدایه‌های DEB1007 و DEB1008 به دست آوردند. نتایج پژوهش حاضر براساس خاصیت حشره‌کشی سویه‌های مختلف قارچ روی شته مورد بررسی با نتایج تحقیق مورد نظر مطابقت دارد. Mohammadi Pour et al. (2010) قدرت بیمارگری جدایه‌های مختلف قارچ‌های *M. anisopliae* و *B. bassiana* روی حشرات کامل شته روسی گندم *Diuraphis noxia* (kurdjumov) را بررسی و مشاهده کردند که همه جدایه‌ها قادر به آلوده‌سازی شته مورد بررسی هستند. در این پژوهش نیز تمام جدایه‌های قارچ روی حشرات کامل فندق قدرت بیمارگری داشته‌اند که با نتایج بررسی مذکور مطابقت دارد. طی تحقیقی تأثیر غلظت‌های مختلف کنیدیوم قارچ‌های بیمارگر روی شته مومی کلم بررسی شد و نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کنیدیوم و با افزایش مدت زمان تماس حشره با قارچ، مقدار مرگ و میر نیز افزایش می‌یابد (Aker and Abaci, 2016). نتایج تحقیق حاضر از نظر تأثیر مقدار کنیدیوم

دو آفت می‌شود. اما در تحقیق حاضر ترکیب دو جدایه مؤثر اثر افزایشی و سینرژیستی روی شته فندق نشان داد.

با توجه به ممنوعیت استفاده از سموم شیمیایی بر علیه آفت‌ها جنگلی، از این رو کنترل شته فندق با استفاده از عوامل بیولوژیک به‌ویژه جدایه مؤثر M14 قارچ *M. anisopliae* به‌عنوان عامل کم‌خطرتر و دوستدار محیط زیست قابل پیشنهاد و توصیه است.

نتیجه‌گیری کلی

از ۴ جدایه V245، M14، IRAN715C، DEMI001 و M14 قارچ بیمارگر *M. anisopliae* برای انجام پژوهش‌های زیست‌سنجی روی حشرات کامل شته فندق در شرایط آزمایشگاهی و باغی استفاده شد. نتایج نشان داد جدایه M14 روی حشرات کامل شته فندق *M. coryli* بسیار مؤثر است. همچنین برای کنترل شته بالغ فندق در شرایط باغی به غلظت بالاتری از سوسپانسیون قارچی در مقایسه با شرایط آزمایشگاهی نیاز است. خاصیت سینرژیستی و افزایشی نیز بین دو جدایه مؤثر دیده نشد.

References

- Aghabarati, A.; Marvie Mohajer, M. R.; Etemad, V.; Sefidi, K., Structural characteristics of coppice forest stands in Fandoghloo Forest of Ardebil. *Forest Research and Development* **2018**, 4(2), 223-239. (In persian)
- Ajamhassani, M.; Jalali Sendi, J.; Farsi, M. J.; Mehrabi, A., Pathogenicity of *Beauveria bassiana* and *Isaria farinosae* on *Hyphantria cunea* (Lepidoptera: Arctiidae). *Forest and Range Protection Research* **2012**, 9(1), 1-13.
- Aker, O.; Abaci, S. H., Entopatogenicity of *Metarhizium anisopliae* and some fungi toward the Filbert aphid, *Myzocollis coryli* Goetze (Hemiptera: Aphididae). *International Journal of Fauna and Biological Studies* **2016**, 3(5), 32-37.
- Aker, O.; Tuncer, C., Efficacy of some entomopathogenic fungi in controlling filbert aphid, *Myzocollis coryli* Goetze (Hemiptera: Aphididae). *International Journal of Entomology Research* **2016**, 1 (5), 9-53.

آن‌ها روی این شته، بیماری‌زا هستند (Shan and M. (Feng, 2010). مشخص شده است که قارچ *M. anisopliae* روی شته گندم *Schizaphis graminum* (Rondani) بیماری‌زا بوده و LC_{50} آن ۱۰ روز بعد از آلودگی $۲/۴۵ \times ۱۰^۶$ اسپور در میلی‌لیتر محاسبه شد و قارچ به‌خوبی روی حشرات مرده اسپورزایی کرد که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مطابقت داشت. همچنین در دو پژوهش متفاوت، اثر بیماری‌زایی قارچ *M. anisopliae* روی شته سیاه یونجه *Aphis craccivora* Koch در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای بررسی شد. نتایج حاکی از این بود که درصد تلفات در اثر قارچ به‌طور معنی‌داری بیش از تلفات طبیعی بود (Mweke et al., 2019). (et al., 2019). در پژوهشی کارایی دو قارچ‌های بیمارگر *Beauveria bassiana* و *Isaria fumosorosea* را روی دو آفت انباری *Sitophilus granarius* (L.) و *Sitophilus oryzae* (L.) در حالت تلفیق به‌کار بردند نتایج نشان داد که ترکیب دو قارچ سبب افزایش تلفات روی هر

- Alizadeh, A.; Kharrazi Pakdel, A.; Talebi-Jahromi, K. H.; Samih, M., The effect of some *Beauveria bassiana* isolates on common *Pistachio psylla*, *Agonoscaena pistaciae*. *Proceedings of the 17th. Iranian Plant protection Congress 2006*, Tehran, 6p. (In persian)
- Altahawi, A.; M Ibrahim, A.; Eid, F.; Ahmed, S.; Mahfouz, H., Pathogenicity of New Isolates of Entomopathogenic Fungi *Metarhizium anisopliae*, Metsch. from Sinai-Peninsula against Wheat Aphid *Schizaphis graminum* (Rondani), (Hemiptera: Aphididae) under Lab. Condition. *Journal of Plant Protection and Pathology* **2021**, 12 (4), 291-294.
- Amini-Noori, F.; Ziarati, P.; Jafarpour, A., Nutritive value of Persian hazelnut (*Corylus avellana* L.) orchards. *Journal of Pharmaceutical & Health Sciences* **2016**, 4 (1), 71-77.
- Aqaverdi, N. I.; Inqilab, N. G., Some bio ecological peculiarities and predators of *Myzocollis coryli* (Goeze, 1778) and

- Corylobium avellanae* (Schrank, 1801) (Hemiptera: Aphididae) in Azerbaijan. *American Journal of Entomology* **2019**, 3(1), 1-5.
- Aramideh, Sh., Effect of active charcoal and starch on enhancement pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* against second instars larvae of ash tree pest *Nyssia graecarius* Staudinger (Lep.: Geometridae). *Forest Research and Development* **2016**, 2(2), 145-154. (In persian)
- Bathina, P.; Bonam, R., Effect of endophytic isolates of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin and *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin on *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) in cabbage. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* **2020**, 30, 142-148.
- Batta, Y.A.; Kavallieratos, N. G., The use of entomopathogenic fungi for the control of stored-grain insects. *International Journal of Pest Management* **2018**, 64(1), 77-87.
- Farashiani, M. E.; Askary, H.; Ehtesham Hoseini, M., Laboratory investigation on virulence of three entomopathogenic fungi against the larvae of *Aeolesthes sarta* (Col.: Cerambycidae). *Journal of Entomological Society of Iran* **2008**, 28(1), 19-34. (In persian)
- Fernandez-Grandon, G. M.; Harte, S. J.; Ewany, J.; Bray, D.; Stevenson, P. C., Additive effect of botanical insecticide and entomopathogenic fungi on pest mortality and the behavioral response of its natural enemy. *Plants* **2020**, 9(2), 173-179.
- Gantner, M.; Najda, A.; Piesik, D., Effect of phenolic acid content on acceptance of hazel cultivars by filbert aphid. *Plant Protection Science* **2019**, 55(2), 116-122.
- Gurulingappa, P.; McGee, P. A.; Sword, G., Endophytic *Lecanicillium lecanii* and *Beauveria bassiana* reduce the survival and fecundity of *Aphis gossypii* following contact with conidia and secondary metabolites. *Crop protection* **2011**, 30 (3), 349-353.
- Javed, K.; Javed, H.; Mukhtar, T.; Qiu, D., Pathogenicity of some entomopathogenic fungal strains to green peach aphid, *Myzus persicae* Sulzer (Homoptera: Aphididae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control* **2019**, 29(1), 1-7.
- Karabörklü, S.; Altın, N., The effectiveness of the isolates of native *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on *Myzocallis coryli* and *Corylobium avellanae*. *International Journal of Agriculture and Wildlife Science* **2020**, 6(3), 478-485.
- Mantzoukas, S.; Zikou, A.; Triantafyllou, V.; Lagogiannis, I.; Eliopoulos, P. A., Interactions between *Beauveria bassiana* and *Isaria fumosorosea* and their hosts *Sitophilus granarius* (L.) and *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Insects* **2019**, 10 (10), 362.
- Mohammadi Pour A.; Ghazavi, M.; Baghdadi, A.; Sheikhi Garjan, A., An investigation of the efficacy of two Iranian isolates of *Metarhizium anisopliae* against Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* under laboratory conditions. *Iranian Journal of Plant Science* **2010**, 41(2), 353-359. (In persian)
- Mweke, A.; Akutse, K. S.; Ulrichs, C.; Fiaboe, K. K. M.; Maniania, N. K.; Ekesi, S., Efficacy of aqueous and oil formulations of a specific *Metarhizium anisopliae* isolate against *Aphis craccivora* Koch, (Hem.: Aphididae) under field conditions. *Journal of Applied Entomology* **2019**, 143(10), 1182-1192.
- Nawaz, A.; Razzaq, F.; Razzaq, A.; Gogi, M. D.; Fernández-Grandon, G. M.; Tayib, M.; Ayub, M. A.; Sufyan, M.; Shahid, M. R.; Qayyum, M. A., Compatibility and synergistic interactions of fungi, *Metarhizium anisopliae*, and insecticide combinations against the cotton aphid, *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae). *Scientific Reports* **2022**, 12 (1), 4843.
- Shan, L. T.; Feng, M. G., Evaluation of the biocontrol potential of various *Metarhizium* isolates against green peach aphid *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae). *Pest Management Science: formerly Pesticide Science* **2010**, 66 (6), 669-675.
- Singh, H.; Kaur, T., Pathogenicity of entomopathogenic fungi against the aphid and the whitefly species on crops grown under greenhouse conditions in India. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* **2020**, 30(1), 1-9.
- Talepour, F.; Rashki, M.; Shirvani, A., Control of green peach aphid by using fungus, *Metarhizium anisopliae*, and Imidacloprid, on three *Canola* cultivars, under microcosm conditions. *Journal of Iranian Plant Protection* **2015**, 28(4), 589-595. (In persian)
- Yarahmadi, F.; Rajabpour, A., Seasonal population dynamics and spatial distribution of *Myzocallis coryli* Goeze on *Corylus*

avellana in Iran. *Asian Journal of Biological Science* **2012**, 5(1), 52-56.
Yun, H. G.; Kim, D. J.; Gwak, W. S.; Shin, T. Y.; Woo, S. D., Entomopathogenic fungi as

dual agents against both the *Myzus persicae* and phytopathogen *Botrytis cinerea*. *Mycobiology* **2017**, 45, 192-198.

The sensitivity of hazelnut aphid *Myzocallis coryli* (Goetze) (Hemiptera: Aphididae) to different isolates of the fungus *Metarhizium anisopliae* (Metsch) on adult insects of hazelnut aphid in laboratory and garden conditions

R. Aghazadeh¹, M. R. Zargaran^{*2}, Sh. Aramideh³ and M. Razmi⁴

1- MSc. of Forestry, Department of Forestry, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, I. R. Iran. (aghazadeh1375@yahoo.com)

2- Assistant Professor, Department of Forestry, Faculty of Natural Resources, Urmia University, Urmia, I. R. Iran. (m.zargaran@urmia.ac.ir)

3- Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, I. R. Iran. (sh.aramideh@urmia.ac.ir)

4- PhD of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, I. R. Iran. (m.razmi@urmia.ac.ir)

Received: 13.06.2022 Accepted: 17.08.2022

Abstract

Myzocallis coryli (Goetze) (Hemiptera: Aphididae) is a major hazelnut pest in Iran. This aphid attacks the stems and leaves of *Corylus avellana* L. hazelnut trees, and as the population grows, it causes the leaves of hazelnut trees to dry and fall, reducing the quality of the nuts. The use of entomopathogenic fungi in the management of hazelnut aphid has been prioritized in order to reduce negative environmental consequences. The isolates IRAN 715C, DEMI001, M14, and V245 from the fungus *Metarhizium anisopliae* were employed in this work to assess on the adults of *M. coryli*. To assess the toxicity of four isolates, the Probit tool in SPSS 21 software was employed with a fatal dose of 50% of the LC50. The LC50 values for DEMI001, IRAN715C, M14, and V245 isolates on adults of *M. coryli* in laboratory and field settings were 1.9×10^6 , 2.34×10^6 , 0.469×10^6 , 1.79×10^6 and 7150×10^6 , 101000×10^6 , 4860×10^6 , 14700×10^6 con/ml, respectively. According to the findings of this investigation, isolated M14 is particularly efficient on adult filbert aphids. In addition, a larger concentration of fungal suspensions is required in the field to suppress adult aphids than in the laboratory. The additive or synergistic effects were not seen when assessing the interaction between two effective isolates. As a result, the use of isolate M14 in the hazelnut aphid integrated management program (IPM) is suggested.

Keywords: Forest, Hazelnut, Entomopathogenic Pathogen, Biological Control.

* Corresponding author

Tel: +989149371708