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

سلیمان امیری*[۱]، زهرا شریفی[۲]، ساناز گلجانیان [۱] و زینب سادات متشرعی[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 بیمارگر حشرات، *Metarhizium anisopliae* می باشد که در خاک وجود داشته و از قابلیت بیمار کردن آفات گیاهی و جانوری برخوردار می‌باشد. شته ی سبز هلو(*Myzus persicae*) در کلیه‌ی مناطق ایران وجود داشته و به درختان هلو، مرکبات، سبزیجات و گیاهان زینتی گلخانه‌ای خسارت می زند. در این مطالعه مرگ و میر شته‌ی سبز هلو توسط قارچ *Metarhizium anisopliae* مورد بر رسی قرار گرفت. از دو جدایه *Metarhizium anisopliae* به نام های A3 و M1 موجود در گروه میکروبیولوژی سازمان جهاد دانشگاهی تهران استفاده شد. تست زیست سنجی علیه شته ی سبز هلو در داخل ظروف پتری ۱۸ سانتیمتری با غلظت‌های $۱\times۱۰^{۳}$، $۱\times۱۰^{۵}$ و $۱\times۱۰^{۷}$ کنیدی در میلی لیتر 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 $۶/۵\times۱۰^{۵}$ کنیدی در میلی‌لیتر بود و بهترین LT50 نیز برای جدایه A3 برابر با ۳/۸۲ روز در غلظت $۱\times۱۰^{۷}$ کنیدی در میلی‌لیتر بود. کمترین مقدار LT50 جدایه‌ی M1 نیز در غلظت $۱\times۱۰^{۷}$ برابر با ۵/۵۱ روز بود.

**واژه‌های کلیدی**: بیمارگر حشرات، زیست سنجی، قارچ، متاریزیوم.

**مقدمه**

کنترل زیستی در طبیعت به طور خودکار انجام می-شود. در زمانی که هجوم یک آفت باعث وارد آمدن خسارت به محصولات کشاورزی می‌گردد، می توان با استفاده از روش کنترل زیستی و بهره گیری از عوامل طبیعی، جمعیت آفت را کاهش داد (هوارث ۱۹۹۱، چیت و اینبار ۱۹۹۴، ون لنترن و همکاران ۲۰۰۳). مصرف کننده ها در سراسر جهان هم عقیده اند که کنترل کننده‌های بیولوژیکی بایستی جایگزین کنترل کننده های شیمیایی شوند، ولی متاسفانه بررسی‌ها و تحقیقات بسیار اندکی در مورد میکروارگانیسم ها در قیاس با آنچه برای کشف آفت کش های شیمیایی جدید انجام می شود، صورت پذیرفته است (بات و همکاران ۲۰۰۱). عوامل کنترل زیستی قارچی می‌توانند در قسمت‌هایی که منع استفاده از آفت کش‌های شیمیایی وجود دارد، مانند ارگانوکلرین ها، یا به عنوان جایگزین موادی که در حال خارج شدن از چرخه ی مصرف اند، مانند متیل بروماید یا در جاهایی که آفت ها به آفت‌کش‌های مرسوم مقاوم شده اند، مورد استفاده قرار گیرند (کاکه و همکاران ۱۹۹۷). تاکنون بیش از ۷۵۰ گونه قارچ بیمارگر حشرات شناسایی شده که بیماری‌زایی آنها روی گروه های مختلفی از حشرات شامل سفید بالکه‌ها، شته‌ها، شپشک‌ها، سخت بالپوشان، بالپولکداران، راست بالان، کنه‌ها و همچنین نماتدها و حتی در برخی از موارد قارچ های بیماری زای گیاهی به اثبات رسیده است (عابدی و دایر ۲۰۰۵). قارچ‌های بیمارگر حشرات بسیار متنوع می-باشند، که مهمترین آن‌ها به جنس‌های *Lecanicillium*، *Metarhizium* و *Beauveria* تعلق دارند ( کراوس و

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

یکی از مشهورترین قارچ های بیمارگر حشرات *Metarhizium anisopliae* Sorokin می باشد که قابلیت بیمار کردن آفات گیاهی و جانوری را دارد. این قارچ منجر به ایجاد بیماریی موسوم به موسکاردین سبز[1] در حشرات می شود (لیو و همکاران ۱۹۸۹، چراغی و همکاران ۲۰۱۲). چندین سویه از *Metarhizium* دارای تاییده EPA[2] جهت تولید بوده و توسط شرکت های مختلف در حال تولید و ارائه به بازار می باشند. یکی از محصولاتی که در این زمینه در بازار وجود دارد، توسط شرکت اکوساینس آمریکا تولید شده و بیوبلاست[3] نام دارد که سویه ای از *Metarhizium anisopliae* با قابلیت کنترل شته ها می باشد (بورگس ۱۹۹۸).

شته ی 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، چغندرقند، گوجه فرنگی، توتون، رازک، گل کلم، کلم پیچ و گونه‌های مختلف غلات فعالیت کرده و خسارت وارد می کند. شته‌ی سبز هلو در طبیعت دارای دشمنان متعددی از جمله کفشدوزک ها، لارو مگس های سیرفید، بعضی زنبورهای پارازیت، همچنین دو نوع کنه و تعداد ۱۰ گونه قارچ بیمارگر می باشد. شته ها به رغم داشتن دشمنان طبیعی فراوان، ولی بخاطر زاد و ولد سریع، دشمنان طبیعی قادر به رقابت با شته‌ها نیستند (ون امدن و هرینگتون ۲۰۰۷). استفاده بی رویه از آفت کش ها 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 شته ها به درختان به خصوص درختان هلو انجام شده است. هدف اصلی این مطالعه بررسی مرگ و میر شته ی سبز هلو توسط جدایه‌های *Metarhizium anisopliae* موجود در بانک ذخایر میکروارگانیسم‌های گروه میکروبیولوژی سازمان جهاد دانشگاه تهران، در داخل ظروف پتری در شرایط آزمایشگاه می باشد.

## مواد و روش‌ها

### سویه‌های قارچی *Metarhizium anisopliae*

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

### محیط کشت

### محیط‌های کشت PDA[4]، PDB[5] و SDA[6]

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

### محیط نگه داری جهت استفاده روزانه از جدایه ها

محیط نگه داری جهت استفاده روزانه از جدایه ها محیط کشت PDA با غلظت های تغییر یافته ای است (جدول۱) که جهت نگه‌داری جدایه ها در دمای چهار درجه‌ی سانتیگراد و استفاده روزانه از آنها به مدت شش ماه می-باشد.

بعد از تنظیم pH محیط کشت روی شش، محیط کشت در۱۲۱ درجه‌ی سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو و بعد از سرد شدن در پلیت ریخته می شود.

[1]Green muscardine
[2]Environmental Protection Agency
[3]Bio-Blast

[1]Potato Dextrose Agar
[2]Potato Dextrose Broth
[3]Sabouraud Dextrose Agar

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

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

**رشد قطر پرگنه های جدایه‌های *Metarhizium anisopliae***

سرعت رشد کلنی طی دوره ۱۲ روزه در محیط کشت PDA در دمای ۲۸°C اندازه‌گیری شد. بدین صورت که از قسمت حاشیه ای قارچ‌های خالص شده (هیف های 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 ۲۸°C به مدت ۱۲ روز آنکوبه گردید. روزانه با استفاده از خط‌کش قطر کلنی جدایه های کشت داده شده اندازه‌گیری می‌شد. بدین ترتیب سرعت رشد شعاعی جدایه ها در مقایسه با هم در طول زمان سپری شده اندازه‌گیری شد. این آزمون با سه تکرار انجام گرفت و قطر پرگنه ها به صورت میانگین سه تکرار گزارش گردید (پتلامول و پراسرتسان، ۲۰۱۲).

**جمع آوری شته‌های سبز هلو**

شته‌های سبز هلواز 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 اندام های گیاهی حاوی حشره جمع آوری گردید. پس از جمع آوری، 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.

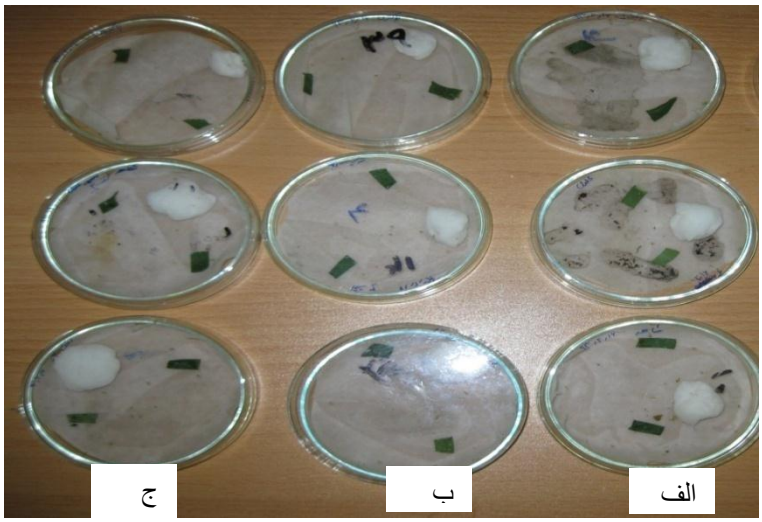
**تهیه‌ی کنیدی**

برای تهیه کنیدی، سویه های قارچی انتخاب شده روی محیط SDA در شرایط ۲۸°Cبه مدت ۱۰ روز آنکوبه گردیدند. بعد از کنیدی زایی، با استفاده از یک لام استریل سطح پلیت های 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 کنیدی ها، 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. کنیدی های حاصل در دمای چهار درجه ی سانتیگراد جهت انجام زیست سنجی نگه داری شدند (فاگاد و همکاران ۲۰۰۵).

**زیست سنجی تاثیر جدایه‌های قارچ بر روی شته‌ی سبز هلو**

جهت این منظور برای هر واحد آزمایش تعداد ۵۰ شته‌ی سالم و بالغ انتخاب شد. این شته ها 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 جدایه-ها در پلیت‌های حاوی شته استفاده شد. در این آزمون از غلظت های $۱\times۱۰^{۳}$، $۱\times۱۰^{۵}$ و $۱\times۱۰^{۷}$ 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

برگ‌ها و نگه‌داری شته ها قرار داده شد. پلیت های آماده شده در دمای ۲۱ درجه‌ی سانتیگراد و شرایط ۱۴:۱۰ ساعت تاریکی: روشنایی به مدت ۹ روز تیمار شدند (شکل۱). 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 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 ۰/۰۲درصد توئین ۸۰ استفاده گردید. این آزمایش با سه تکرار برای هر غلظت انجام گردید ( فاگید و همکاران ۲۰۰۵ و شان و فینگ ۲۰۰۶).




**شکل۱- تست زیست‌سنجی شته‌ی هلو: آزمایش در پلیت‌های شیشه ای 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.**

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 شته ها) 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 اسپرودوکیوم و کنیدی استوانه‌ای زنجیروار می‌باشد و جدایه M1 کلنی قهوه‌ای رنگ تا سیاه با سطح برجسته و کرکدار، کنیدیوفور منشعب و کنیدی‌های استوانه‌ای زنجیروار می‌باشد (شکل ۲).

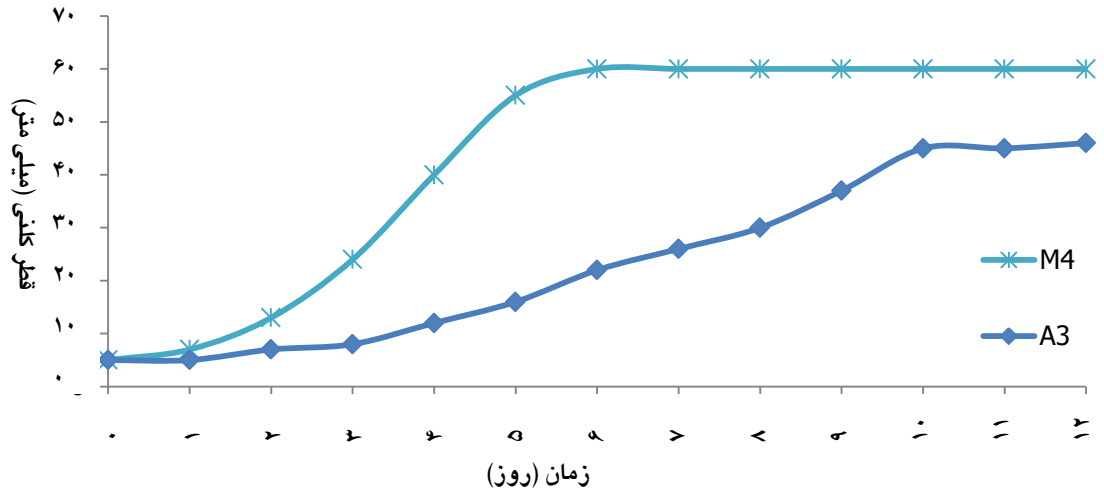
### نتایج رشد قطر پرگنه های جدایه های متاریزیوم

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 میلی متر رسید. قطر پرگنه ها در روز ۱۰ به ترتیب برای جدایه های 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 جدایه های با رشد سریع تر و همچنین کشت قدیمی تر (کهنه) نسبت به محیط های کشت جوانتر دارای اثر قویتر

و مـؤثرتری بـر روی شـتهی سـبزهلو هسـتند. در ایـن مطالعه با توجه به نمودار رشد قطری جدایـههـا مشـاهده شد که درصد مرگ و میر شتهها بـا سـرعت رشـد کلنـی جدایهها ارتباط معکوسی دارد و ایـن نتیجـه احتمـالا بـه خاطر مکانیسم و قدرت متفاوت جدایههای متـاریزیوم در مرگ و میر شتهها می باشد.

شکل۲- تصویر کلنی جدایههای *Metarhizium anisopliae* استفاده شده در این تحقیق: کشت در محیط **PDA** و آنکوباسیون در ۲۸ درجهی سانتیگراده به مدت ۱۰ روز. الف)، جدایه**M1** . ب)، جدایه **A3** .




شکل۳- رشد قطر کلنی جدایههای **A3** و **M1** . کشت در محیط **PDA** در شرایط ۲۸درجهی سانتیگراد به مدت ۱۲ روز.

**نتایج زیست سنجی برعلیه شته ی سبز هلو**

نتایج تست زیست سنجی جدایه A3 با غلظتهای$۱\times۱۰^{۳}$ ، $۱\times۱۰^{۵}$ و $۱\times۱۰^{۷}$ کنیدی در میلی لیتـر نشـان داد کـه در روز هشتم تیمار ۱۰۰ درصد شتهها تلف شدند (جـدول۲). مقادیر LT۵۰ برای غلظتهای $۱\times۱۰^{۳}$ ، $۱\times۱۰^{۵}$ و $۱\times۱۰^{۷}$ کنیدی در میلی لیتر برابر بـا ۴/۸۱، ۴/۴۲ و ۳/۸۲ روز و مقـدار LC۵۰ $۶/۵\times۱۰^{۵}$ کنیـدی در میلـی لیتـر محاسبه شد.

شکل ۵ شته‌های مرده را پنج روز بعد از تیمار نشـان مـی- دهد همانطور که مشاهده می‌شود رشد جدایه‌های قارچ بـر روی اجساد شته‌ها کاملا مشخص است.

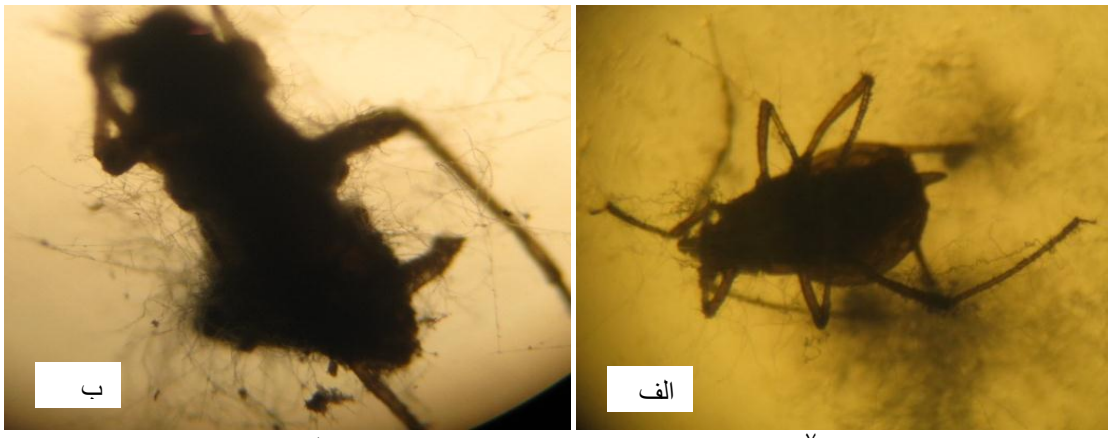
**جدول ۲- در صد تلفات شته‌ی سبز هلو درتیمار جدایه‌ی A3 با غلظتهای $۱\times۱۰^{۳}$ ، $۱\times۱۰^{۵}$ و $۱\times۱۰^{۷}$ کنیدی در میلی لیتر. در شرایط ۱۴:۱۰ ساعت تاریکی : روشنایی و دمای ۲۸ درجه سانتیگراد در مدت ۹ روز. تیمار شاهد محلول ۰/۰۲درصد توئین ۸۰ .**

| جدایه A3 | درصد مرگ و میر(انحراف معیار) | | | | | | | | | LT 50 | Lc50 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| (غلظت) | روز ۰ | روز ۱ | روز ۲ | روز ۳ | روز ۴ | روز ۵ | روز ۶ | روز ۷ | روز ۸ | روز ۹ | | |
| $۱۰^{۷}$ | 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 | $۶/۵\times۱۰^{۵}$ |
| $۱۰^{۵}$ | 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 | |
| $۱۰^{۳}$ | 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 جدایـه M1 بـا غلظـت هـای $۱\times۱۰^{۳}$ ، $۱\times۱۰^{۵}$ و $۱\times۱۰^{۷}$ کنیدی در میلی لیتر به ترتیب در روزهـای هشـتم و نهم تیمار ۱۰۰ درصد شته ها را از بـین بـرد (جـدول ۳). مقادیر LT۵۰ برای غلظت هـای $۱\times۱۰^{۳}$ ، $۱\times۱۰^{۵}$ و $۱۰^{۷}$ $\times۱$ به ترتیب برابـر بـا ۵/۹۴، ۵/۶۳ و ۵/۵۱ روز و مقـدار LC۵۰ $۹/۴\times۱۰^{۵}$ کنیدی در میلی لیتر محاسبه شد.

**جدول ۳- در صد تلفات شته‌ی سبز هلو در تیمار جدایه M1 با غلظتهای $۱۰^{۳}$، $۱۰^{۵}$ و $۱۰^{۷}$ کنیدی در میلی لیتر. در شرایط ۱۴:۱۰ ساعت تاریکی : روشنایی و دمای محیط به مدت ۹ روز. . تیمار شاهد محلول ۰/۰۲درصد توئین ۸۰ .**

| جدایه M1 | درصد مرگ و میر(انحراف معیار) | | | | | | | | | LT50 | Lc50 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| (غلظت) | روز ۰ | روز ۱ | روز ۲ | روز ۳ | روز ۴ | روز ۵ | روز ۶ | روز ۷ | روز ۸ | روز ۹ | | |
| ۱۰۷ | ۰ | ۱/۳(/۱) | ۷/۱(/۲) | ۱۳/۰(/۴) | ۲۴/۷(/۵) | ۴۱/۶(/۷) | ۵۴/۶(/۶) | ۷۶/۰(/۳) | ۱۰۰/۰(/۰) | ۱۰۰(/۰) | ۵/۵۱ | $۹/۴\times۱۰^{۵}$ |
| ۱۰۵ | 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 | |
| ۱۰۳ | ۰ | ۰/۶(/۱) | ۲/۶(/۲) | ۸/۴(/۱) | ۱۵/۵(/۲) | ۲۴/۵(/۶) | ۳۵/۵(/۰) | 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 شته ها با غلظت $۱\times۱۰^{۷}$ کنیدی در میلی لیتر قارچ متاریزیوم. شرایط آزمون ۱۴:۱۰ ساعت تاریکی : روشنایی و دمای ۲۸ درجه سانتیگراد به مدت ۸ روز با بزرگنمایی X ۴۰. الف). پنج روز بعد از تیمار با جدایه A3. ب)، پنج روز بعد از تیمار با جدایه M1.**

تیمار با جدایه A3 در غلظت های $۱\times۱۰^{۳}$ ، $۱\times۱۰^{۵}$ و $۱\times۱۰^{۷}$ کنیدی در میلی لیتر موجب شد تا در روز هشتم تیمار ۱۰۰ درصد شته ها از بین بروند و مقادیر LT۵۰ برای این سه غلظت به ترتیب برابر با ۴/۸۱، ۴/۴۲ و ۳/۸۲ روز بود که این نتایج نسبت به جدایه M1 (مقادیر LT۵۰ 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 می باشد.

در این مطالعه موثرترین جدایه، جدایه‌ی A3 بود که در روزهشتم باعث تلفات صد درصدی در شته ها 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 بیماری زا در حشرات، نقش مهمی را در تعیین مدل های پایدار کنترل زیستی آفت ها ایفا می کنند (فوستر و همکاران ۲۰۰۰). عمده مطالعات پایه در زمینه بیماری زایی، مکانیسم‌های بیوشیمیایی، فرمولاسیون، کاربرد عملی با شناخت و بررسی بر روی این قارچ ها 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 گرفته اند، ضروری به نظر می رسد که تلاش های بیشتری در معرفی محصولات بیولوژیکی کنترل کننده آفت‌ها صورت گیرد، در این راستا انجام طرح‌های پژوهشی با هدف کاربردی ساختن آنها بسیار ضروری می‌باشد، همچنین با افزایش سطح آگاهی جامعه می توان زمینه را برای بازار مناسب مصرف این محصولات ایجاد نمود که نتیجه آن حضور بیشتر تولید کنندگان و افزایش رقابت می‌باشد که منجر به کاهش قیمت‌ها و افزایش کیفیت محصول خواهد شد.

## 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 amiri[1], Z Sharifi[2], S Goljanian[1] and Z Motesharrei[3]**

[1]Researcher, Department of Applied Microbiology, Tehran Branch of Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR),
[2]Former MSc Student, Shahid Beheshti University.
[3]Instructor 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 $1\times10^3$, $1\times10^5$ and $1\times10^7$ 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 $6.5\times10^5$ conidia/ml and the best LT50 for A3 with concentration of $1\times10^7$ conidia $ml^{-1}$ was 3.82 days. The least LT50 for M1 with concentration of $1\times10^7$ conidia $ml^{-1}$ was 5.51 days.

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