



## تأثیر چوب تیمار شده با قارچ بیمارگر حشرات *Metarhizium anisopliae* در کنترل موریانه *Microcerotermes diversus*

امیر چراغی<sup>۱\*</sup> - بهزاد حبیب پور<sup>۲</sup> - محمدسعید مصدق<sup>۳</sup> - ویدا مهین پور<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۷/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۲/۲۰

### چکیده

قارچ بیمارگر *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin به عنوان عامل بیماری موسکاردین سبز حشرات، قارچی مهم در کنترل بیولوژیک حشرات آفت محسوب می شود. با توجه به اینکه تا کنون مطالعه‌ای در زمینه ارزیابی تأثیر قارچ *M. anisopliae* روی موریانه مذکور در مقابل موریانه *M. diversus* انجام گرفت. در این تحقیق از قارچ *M. anisopliae* جدایه سراوان (DEMI 001) استفاده شد. آزمایش‌ها شامل آزمون طعمه مسموم به وسیله چوب تیمار شده در سطح آزمایشگاه و آزمون صحرایی بودند. آزمون طعمه مسموم به دو صورت انجام گرفت؛ الف) آزمون طعمه مسموم به وسیله چوب تیمار شده همراه با کاغذ صافی تیمار نشده؛ ب) آزمون طعمه مسموم به وسیله چوب تیمار شده همراه با چوب تیمار نشده. کمترین میزان LC<sub>50</sub> و LC<sub>90</sub> در آزمون طعمه مسموم به وسیله چوب تیمار شده همراه با کاغذ صافی تیمار نشده به دست آمد. این مقادیر به ترتیب برابر با ۷/۶×۱۰<sup>۵</sup> و ۲/۸×۱۰<sup>۶</sup> (کنیدی در میلی لیتر) به دست آمدند. همچنین کمترین میزان LT<sub>50</sub> و LT<sub>90</sub> نیز در همین آزمون و در غلظت ۳/۵×۱۰<sup>۸</sup> (کنیدی در میلی لیتر) از سوسپانسیون کنیدی قارچ به دست آمدند. این مقادیر به ترتیب برابر با ۲/۸۳ و ۵/۰۶ روز به دست آمدند. در آزمون صحرایی پس از ارائه قارچ بیمارگر میانگین جمعیت موریانه از ۱۷۵۶ عدد به ۶۹۱ عدد در بلوک چوبی کاهش یافت؛ همچنین میانگین تغذیه از بلوک چوبی از ۵۹/۷۵ گرم به ۲۷/۸۱ گرم کاهش یافت. به طور کلی نتایج نشان داد که روش چوب تیمار شده با این قارچ در کنترل موریانه *M. diversus* مؤثر است.

واژه‌های کلیدی: چوب تیمار شده، قارچ بیمارگر حشرات، کنترل بیولوژیک، موریانه

### مقدمه

موریانه‌ها ممکن است بسیار مضر باشند، زیرا با تغذیه خود، مواد مختلفی که انسان مورد استفاده قرار می‌دهد را تخریب می‌کنند (۱۳). در حدود ۲۸۰۰ گونه موریانه توصیف شده است که حدود ۱۸۵ مورد از آن‌ها آفت محسوب می‌شوند (۱۴). وود و جانسون<sup>۵</sup> در سال ۱۹۸۶ گونه‌های شناخته شده موریانه‌ها را در هفت خانواده تحت نام‌های Termopsidae، Kalotermitidae، Mastotermitidae، Serritermitidae، Rhinotermitidae، Hodotermitidae و Termitidae قرار دادند (۱۶). چهار جنس به نام‌های *Amitermes*

و *Microcerotermes* از خانواده Termitidae، و *Anacanthotermes* از خانواده Hodotermitidae و *Psammotermes* از خانواده Rhinotermitidae، مهم‌ترین جنس‌هایی هستند که تاکنون از ایران جمع‌آوری شده و دارای اهمیت اقتصادی هستند (۲). از لحاظ اکولوژیکی موریانه‌ها به ۳ گروه اصلی طبقه‌بندی شده‌اند: موریانه‌های چوب تر<sup>۶</sup>، موریانه‌های چوب خشک<sup>۷</sup> و موریانه‌های زیرزمینی<sup>۸</sup> (۹). موریانه‌های موجود در استان خوزستان به گروه موریانه‌های زیرزمینی تعلق دارند و اکثراً دارای تجمعاتی در زیر سطح خاک هستند. بررسی‌ها نشان می‌دهد که مهم‌ترین موریانه در استان خوزستان گونه *Microcerotermes diversus* Silvestri (Iso.: Termitidae) می‌باشد (۱). مدیریت معمول موریانه‌های زیرزمینی در ایران شامل استفاده از حشره‌کش‌های خاک کاربرد

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد حشره‌شناسی کشاورزی، استادیار، استاد و دانشجوی سابق کارشناسی ارشد بیماری‌شناسی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز

(\*- نویسنده مسئول: (Email: amircheraghi2009@gmail.com)

6- Damp wood termites  
7- Dry wood termites  
8- Subterranean termites

5- Wood and Johnson

$SDA+Y^3$  استفاده گردید. پتری‌های قارچ در انکوباتور تاریک در دمای  $28 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی  $85 \pm 5$  درصد نگهداری گردیدند. قارچ‌های کشت داده شده بعد از ۲ تا ۳ هفته، کنیدی‌زایی مناسبی داشتند و برای انجام آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفتند.

### تهیه سوسپانسیون قارچی

سوسپانسیون کنیدی قارچ با برش سطحی پتری‌های کشت یافته و اضافه کردن آن به ارلن حاوی ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول  $0.1\%$  درصد توئین ۸۰<sup>۴</sup> تهیه گردید. غلظت سوسپانسیون توسط لام نئوبار<sup>۵</sup> تعیین شد.

### آزمون طعمه مسموم به وسیله چوب تیمار شده

این آزمون به دو صورت زیر انجام گرفت  
الف) چوب تیمار شده همراه با کاغذ صافی تیمار نشده برای انجام این آزمون از بلوک‌های چوب درخت راش به ابعاد  $2 \times 1 \times 1$  سانتی‌متر و از قطعات کاغذ صافی واتمن (Whatman No. 1) استفاده شد. به این ترتیب که یک کاغذ صافی با قطر ۴۲ میلی‌متر از ۲ قطر برش داده شد و از قطعات حاصل در این آزمایش استفاده شد. در این آزمون درون هر پتری دیش پلاستیکی (با قطر ۹ سانتی‌متر) ۴ گرم ماسه به طور یکنواخت پخش گردید. برای مرطوب کردن ماسه از یک میلی‌لیتر آب مقطر سترون استفاده گردید. در یک سمت پتری دیش یک قطعه کاغذ صافی که با آب مقطر مرطوب شده بود قرار گرفت و در سمت دیگر یک قطعه چوب راش که در سوسپانسیون کنیدی قارچ *M. anisopliae* برای مدت ۱۵ دقیقه غوطه‌ور شده بود قرار گرفت (شکل ۱). فاصله چوب و کاغذ صافی از هم ۵ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. در این آزمون پس از انجام آزمایش‌های مقدماتی از غلظت‌های  $1 \times 10^{-5}$ ،  $2 \times 10^{-6}$ ،  $3 \times 10^{-7}$  و غلظت  $3/5 \times 10^{-8}$  (کنیدی در میلی‌لیتر) استفاده گردید. در تیمار شاهد، به جای سوسپانسیون کنیدی قارچ از محلول  $0.1\%$  درصد توئین ۸۰ استفاده گردید. درون هر پتری دیش ۱۰۰ موربانه کارگر قرار گرفت. برای هر تیمار چهار تکرار در نظر گرفته شد. واحدهای آزمایشی در انکوباتور تاریک در دمای  $28 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی  $85 \pm 5$  درصد نگهداری گردیدند و مرگ و میر موربانه‌ها برای مدت ۱۴ روز ثبت گردید.

### ب) چوب تیمار شده همراه با چوب تیمار نشده

در این آزمایش در یک سمت پتری دیش بلوک چوبی تیمار شده و

می‌باشد که به منظور کاهش یا حذف جمعیت جستجوگر موربانه‌ها استعمال می‌شوند (۲). با این حال استفاده مداوم از موربانه‌کش‌های شیمیایی در محیط‌زیست نگران‌کننده است (۱۱)؛ به خصوص در شهرستان اهواز که سطح آب زیرزمینی بالاست (۳). امروزه کنترل بیولوژیک بسیار مورد توجه قرار گرفته و به عنوان راهکاری برای حل مسئله کاربرد وسیع آفت‌کش‌های شیمیایی محسوب می‌شود. علاقه‌مندی برای بکارگیری قارچ‌های بیماری‌زای حشرات<sup>۱</sup> جهت مبارزه با حشرات آفت افزایش یافته است. یکی از مشهورترین قارچ‌های بیمارگر حشرات *Metarhizium anisopliae* Sorokin (Metschnikoff) می‌باشد که در خاک وجود دارد و قابلیت بیمار کردن آفات گیاهی و جانوری را دارد. این قارچ به عنوان عامل بیماری موسکاردین سبز<sup>۲</sup> حشرات، قارچی مهم در کنترل بیولوژیک حشرات آفت محسوب می‌شود (۱۲). نگرانی‌های زیست محیطی و ممنوع شدن بعضی موربانه‌کش‌های شیمیایی قوی در بازار، سبب علاقه‌مندی مجدد برای استفاده از بیمارگرها در کنترل موربانه‌ها طی سال‌های اخیر شده است (۱۵). با توجه به اینکه تا کنون مطالعه‌ای در زمینه ارزیابی تأثیر قارچ *M. anisopliae* روی موربانه *M. diversus* در سطح دنیا صورت نگرفته است این تحقیق با هدف بررسی کارایی قارچ مذکور برای مهار جمعیت موربانه هدف صورت گرفت.

## مواد و روش‌ها

### جمع‌آوری موربانه

موربانه‌ها در منطقه اهواز به وسیله تله‌های تعبیه شده در خاک، از جنس بلوک‌های چوب تجاری مورد علاقه موربانه‌ها، چوب راش، *Fagus orientalis* Lipsky، جمع‌آوری و به آزمایشگاه انتقال یافتند. بلوک‌های چوبی در ابعاد  $20 \times 6 \times 3$  سانتی‌متر تهیه گردیدند. موربانه‌های کارگر بالغ در انکوباتور تاریک در دمای  $28 \pm 1$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی  $85 \pm 5$  درصد نگهداری و برای انجام آزمایش‌ها استفاده شدند.

### جدایه قارچ

در این تحقیق از قارچ *M. anisopliae* جدایه سراوان (DEMI 001) که از سرخرطومی حنایی خرما *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier (Coleoptera: Curculionidae) جمع‌آوری و در کلکسیون بخش تحقیقات حشره‌شناسی کشاورزی مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور وجود دارد استفاده شد. برای کشت قارچ *M. anisopliae* از محیط کشت

3- Sabouraud Dextrose Agar yeast extract  
4- Tween 80® (polysorbate monooleate)  
5- Haemocytometer

1- Entomopathogenic Fungi = Mycoinsecticide  
2- Green muscardine

از سوسپانسیون کنیدی قارچ که از آزمون طعمه مسموم به روش چوب تیمار شده همراه با چوب تیمار نشده به دست آمده بود برای انجام این آزمون انتخاب شد. این غلظت معادل  $1 \times 10^9$  (کنیدی در میلی لیتر) بود.

### آنالیز داده‌ها

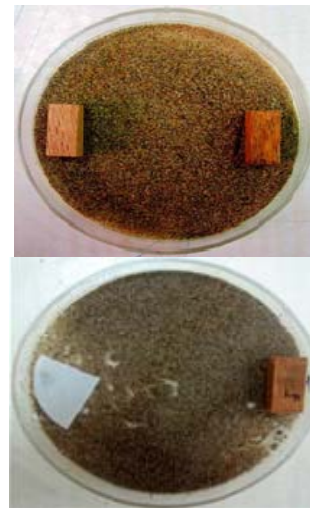
آزمون طعمه مسموم در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد. غلظت‌های کشنده ( $LC_{50}$  و  $LC_{90}$ ) و زمان مرگ و میر انجام شد. به وسیله آنالیز پروبیت توسط نرم‌افزار SAS(9.1) ( $LT_{50}$  و  $LT_{90}$ ) برای مقایسه اثر غلظت سوسپانسیون کنیدی قارچ روی موریانه مورد نظر از روش آنالیز واریانس (ANOVA) و جهت مقایسه میانگین از آزمون LSD در سطح ۵ درصد استفاده شد. نمودارها به وسیله نرم افزار Excel 2007 رسم گردیدند. در آزمون صحرایی داده‌ها توسط آزمون T برای دو جامعه مستقل<sup>۱</sup> در نرم افزار SPSS(16) با هم مقایسه شدند. هدف از انجام این آزمون بررسی تأثیر اعمال تیمار قارچ روی میانگین ۲ جامعه از نظر کاهش جمعیت تغذیه بود.

### نتایج و بحث

#### آزمون طعمه مسموم به وسیله چوب تیمار شده

الف) چوب تیمار شده همراه با کاغذ صافی تیمار نشده جدول ۱ مقادیر  $LC_{50}$  و  $LC_{90}$  را برای این آزمون نشان می‌دهد. میزان  $LC_{50}$  و  $LC_{90}$  به ترتیب  $7/6 \times 10^5$  و  $2/8 \times 10^6$  (کنیدی در میلی لیتر) به دست آمد ( $P < 0/0001$ ,  $F = 70/2$ ,  $df = 14$ ). جدول ۲ مقادیر  $LT_{50}$  و  $LT_{90}$  را برای همین آزمون نشان می‌دهد. کمترین میزان  $LT_{50}$  و  $LT_{90}$  در بالاترین غلظت بکار رفته یعنی  $3/5 \times 10^8$  (کنیدی در میلی لیتر) به دست آمد. این مقادیر به ترتیب برابر با  $2/83$  و  $5/06$  روز بودند. نمودار ۱ مقایسه میانگین مرگ و میر در آزمون ذکر شده در بالا را نشان می‌دهد. بیشترین میزان مرگ و میر در پایان آزمایش (بعد از ۱۴ روز) در غلظت‌های  $3/7 \times 10^7$  و  $3/5 \times 10^8$  (کنیدی در میلی لیتر) به دست آمد که برابر با ۱۰۰ درصد بود. میانگین مرگ و میر در غلظت  $1/1 \times 10^5$  (کنیدی در میلی لیتر) بسیار کمتر از غلظت‌های بالاتر و برابر با  $2/75$  درصد بود که با تیمار شاهد تفاوت معنی دار نداشت ( $P < 0/0001$ ,  $F = 46/14$ ,  $df = 4$ ). نمودار ۲ مقایسه میانگین تغذیه از چوب تیمار شده را در این آزمون نشان می‌دهد. به طور کلی در تیمارهای مختلف تفاوت معنی داری در تغذیه از چوب تیمار شده مشاهده نشد ( $P = 0/2757$ ,  $F = 1/42$ ,  $df = 4$ ). همین شرایط در مورد تغذیه از بخش تیمار نشده در این آزمون (کاغذ صافی) و

در سمت دیگر آن بلوک چوبی تیمار نشده قرار داده شد (شکل ۱)؛ سایر موارد مانند حالت قبل بودند.



شکل ۱- واحدهای آزمایشی مربوط به آزمون طعمه مسموم با استفاده از چوب تیمار شده همراه با کاغذ صافی تیمار نشده (سمت راست) و آزمون طعمه مسموم با استفاده از چوب تیمار شده همراه با چوب تیمار نشده (سمت چپ)

#### تأثیر قارچ روی جمعیت موریانه در شرایط صحرایی

هدف از این آزمون بررسی تأثیر قارچ *M. anisopliae* روی جمعیت موریانه‌های *M. diversus* در شرایط صحرایی بود. برای انجام این آزمون ابتدا در یک منطقه آلوده به موریانه واقع در دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، ۱۶ بلوک چوب راش (به ابعاد  $3 \times 6 \times 20$  سانتی متر) پس از وزن کردن با آرایش فضایی منظم و با فواصل ۴ متر از همدیگر در خاک قرار داده شدند. دو ماه بعد چوب‌های تیمار نشده مرحله اول از خاک خارج گردیدند و کاهش وزن آن‌ها در اثر تغذیه موریانه‌ها ثبت و جمعیت موجود روی آن‌ها شمارش گردید. در همان زمان بلوک‌های چوبی تیمار شده با سوسپانسیون کنیدی قارچ در فاصله ۲ متری محل چوب‌های تیمار نشده مرحله اول در خاک قرار داده شدند. پس از ۲ هفته مجدداً چوب‌های تیمار نشده جدیدی (بلوک‌های چوبی تیمار نشده مرحله دوم) پس از وزن کردن در محل استقرار چوب‌های تیمار نشده قبلی قرار داده شدند. دو ماه بعد چوب‌های تیمار نشده مرحله دوم نیز از خاک خارج گردیدند و برآورد تغذیه و جمعیت موریانه‌ها صورت گرفت. با مقایسه کاهش وزن‌ها و تغییرات جمعیتی موریانه‌ها روی بلوک‌های چوبی تیمار نشده در مرحله اول و بلوک‌های چوبی تیمار نشده مرحله دوم (پس از ارائه قارچ در محیط)، می‌توان نتیجه گرفت، که آیا قارچ روی جمعیت موریانه‌ها تأثیر گذاشته است یا اینکه اثر قابل توجهی نداشته است. غلظت  $LC_{90}$

1- Two independent-sample T test

به دست آمد ( $df=14, F=38/87, P<0/0001$ ). جدول ۴ مقادیر  $LT_{90}$  و  $LT_{50}$  را برای همین آزمون نشان می‌دهد. کمترین میزان  $LT_{90}$  و  $LT_{50}$  در غلظت  $3/5 \times 10^4$  (کنیدی در میلی‌لیتر) به دست آمد. میزان  $LT_{90}$  و  $LT_{50}$  از غلظت  $1/1 \times 10^5$  (کنیدی در میلی‌لیتر) به غلظت  $2/7 \times 10^6$  (کنیدی در میلی‌لیتر) به میزان زیادی کاهش پیدا کرد.

بخش‌های تیمار شده و تیمار نشده در آزمون طعمه مسموم به وسیله چوب تیمار شده همراه با چوب تیمار نشده نیز صدق می‌کرد.

**ب) چوب تیمار شده همراه با چوب تیمار نشده**

جدول ۳ مقادیر  $LC_{50}$  و  $LC_{90}$  را برای این آزمون نشان می‌دهد. میزان  $LC_{50}$  برابر با  $8/2 \times 10^6$  و میزان  $LC_{90}$  برابر با  $1/2 \times 10^8$

جدول ۱: مقادیر  $LC_{50}$  و  $LC_{90}$  برای آزمون طعمه مسموم به وسیله چوب تیمار شده با سوسپانسیون کنیدی قارچ *M. anisopliae* و کاغذ صافی

تیمار نشده در مقابل موریانه <i>M. diversus</i>				
آزمون	$LC_{50}$ (حدود اطمینان ۹۵٪)	$LC_{90}$ (حدود اطمینان ۹۵٪)	$X^2$	خطای استاندارد $\pm$ شیب خط
طعمه مسموم**	$7/6 \times 10^5$ ( $5/2 \times 10^5 - 1 \times 10^6$ )	$2/8 \times 10^6$ ( $1/9 \times 10^6 - 4/5 \times 10^7$ )	70/2	$2/27 \pm 0/24$

\* مقادیر  $LC_{50}$  و  $LC_{90}$  بر حسب کنیدی در میلی‌لیتر هستند.

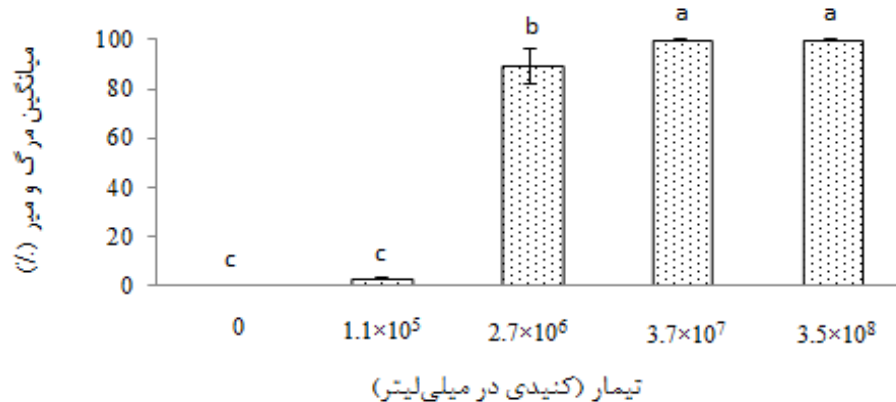
\*\* آزمون طعمه مسموم به وسیله چوب تیمار شده با سوسپانسیون کنیدی قارچ *M. anisopliae* و کاغذ صافی تیمار شده در مقابل موریانه *M. diversus*

جدول ۲: مقادیر  $LT_{50}$  و  $LT_{90}$  برای آزمون طعمه مسموم به وسیله چوب تیمار شده با سوسپانسیون کنیدی قارچ *M. anisopliae* و کاغذ صافی

تیمار نشده در مقابل موریانه <i>M. diversus</i>					
آزمون	غلظت	$LT_{50}$ (حدود اطمینان ۹۵٪)	$LT_{90}$ (حدود اطمینان ۹۵٪)	$X^2$	خطای استاندارد $\pm$ شیب خط
طعمه مسموم**	$1/1 \times 10^5$	40/3 (144-3714)	40/73 (782-144366)	59/8	$1/03 \pm 0/19$
	$2/7 \times 10^6$	9/87 (8/84-11/39)	40/06 (28/27-73/2)	62/15	$3/82 \pm 0/48$
	$3/7 \times 10^7$	3/89 (3/62-4/14)	7/08 (6/6-7/7)	48/18	$4/92 \pm 0/28$
	$3/5 \times 10^8$	2/83 (2/49-3/15)	5/06 (4/54-5/81)	79/3	$5/08 \pm 0/46$

\* مقادیر  $LT_{50}$  و  $LT_{90}$  بر حسب روز هستند.

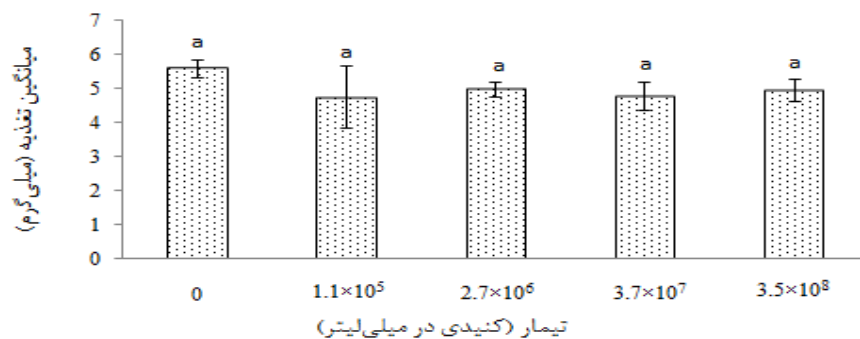
\*\* آزمون طعمه مسموم به وسیله چوب تیمار شده با سوسپانسیون کنیدی قارچ *M. anisopliae* و کاغذ صافی تیمار نشده در مقابل موریانه *M. diversus*



نمودار ۱- مقایسه میانگین مرگ و میر بعد از ۱۴ روز در آزمون طعمه مسموم به وسیله چوب تیمار شده با سوسپانسیون کنیدی قارچ

*M. anisopliae* و کاغذ صافی تیمار نشده در مقابل موریانه *M. diversus*

\* برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح ۵ درصد استفاده شد. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم تفاوت معنی‌دار هستند.



نمودار ۲- مقایسه میانگین تغذیه از چوب تیمار شده بعد از ۱۴ روز در آزمون طعمه مسموم به وسیله چوب تیمار شده با سوسپانسیون کنیدی قارچ *M. anisopliae* و کاغذ صافی تیمار نشده در مقابل موربانه *M. diversus*

\* برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح ۵ درصد استفاده شد. حروف مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار هستند.

به وسیله چوب تیمار شده همراه با کاغذ صافی تیمار نشده در مقایسه با مقادیر به دست آمده برای آزمون طعمه مسموم به وسیله چوب تیمار شده همراه با چوب تیمار نشده مقدار کوچک تری داشتند. همین شرایط در مورد مقایسه مقادیر به دست آمده برای LT<sub>50</sub> و LT<sub>90</sub> در دو آزمون صدق می کرد. شاید یکی از دلایل مربوط به کوچکتر بودن میزان LC<sub>50</sub>، LC<sub>90</sub>، LT<sub>50</sub> و LT<sub>90</sub> در آزمون طعمه مسموم به وسیله چوب تیمار شده همراه با کاغذ صافی تیمار نشده در مقایسه با آزمون طعمه مسموم به وسیله چوب تیمار شده همراه با چوب تیمار نشده تأثیر مربوط به بخش تیمار نشده باشد.

نمودار ۳ مقایسه میانگین مرگ و میر را برای آزمون ذکر شده در بالا نشان می دهد. بیشترین میزان مرگ و میر در پایان آزمایش (بعد از ۱۴ روز) در غلظت های ۳/۷ × ۱۰<sup>۷</sup> و ۳/۵ × ۱۰<sup>۸</sup> (کنیدی در میلی لیتر) به دست آمد که با غلظت های پایین تر اختلاف معنی دار داشت. کمترین میزان مرگ و میر در غلظت ۱/۱ × ۱۰<sup>۵</sup> (کنیدی در میلی لیتر) اتفاق افتاد که با تیمار شاهد اختلاف معنی دار ندارد. به طور کلی با افزایش غلظت سوسپانسیون کنیدی قارچ، میزان مرگ و میر افزایش یافته است (df=۴، F=۳۱/۱۹، P<۰/۰۰۱).

مقادیر LC<sub>50</sub> و LC<sub>90</sub> به دست آمده برای آزمون طعمه مسموم

جدول ۳- مقادیر LC<sub>50</sub> و LC<sub>90</sub> برای آزمون طعمه مسموم به وسیله چوب تیمار شده با سوسپانسیون کنیدی قارچ *M. anisopliae* و چوب تیمار نشده در مقابل موربانه *M. diversus*

خطای استاندارد ± شیب خط	X <sup>2</sup>	LC <sub>90</sub> (حدود اطمینان ۹۵٪)	LC <sub>50</sub> (حدود اطمینان ۹۵٪)	آزمون
۱/۰۹ ± ۰/۱۷	۳۸/۸۷	۱/۲ × ۱۰ <sup>۸</sup> (۴/۸ × ۱۰ <sup>۷</sup> - ۵/۸ × ۱۰ <sup>۸</sup> )	۸/۲ × ۱۰ <sup>۶</sup> (۳/۵ × ۱۰ <sup>۶</sup> - ۱/۷ × ۱۰ <sup>۷</sup> )	طعمه مسموم**

\* مقادیر LC<sub>50</sub> و LC<sub>90</sub> بر حسب کنیدی در میلی لیتر هستند.

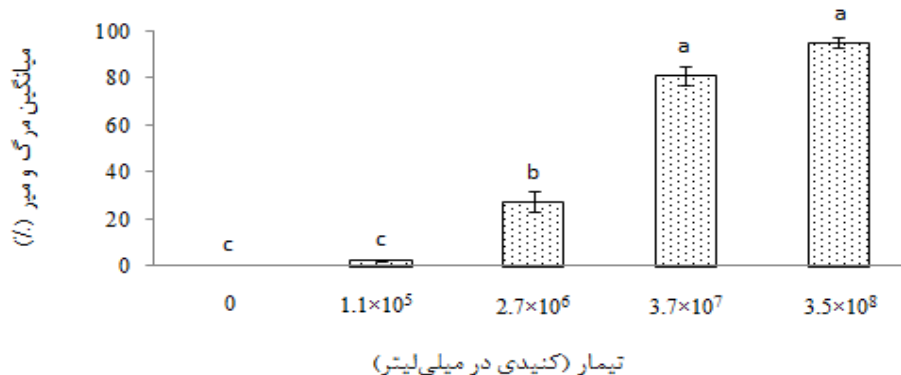
\*\* آزمون طعمه مسموم به وسیله چوب تیمار شده با سوسپانسیون کنیدی قارچ *M. anisopliae* و چوب تیمار نشده در مقابل موربانه *M. diversus*

جدول ۴- مقادیر LT<sub>50</sub> و LT<sub>90</sub> برای آزمون طعمه مسموم به وسیله چوب تیمار شده با سوسپانسیون کنیدی قارچ *M. anisopliae* و چوب تیمار نشده در مقابل موربانه *M. diversus*

خطای استاندارد ± شیب خط	X <sup>2</sup>	LT <sub>90</sub> (حدود اطمینان ۹۵٪)	LT <sub>50</sub> (حدود اطمینان ۹۵٪)	غلظت	آزمون
۱/۲۷ ± ۰/۲۳	۶۳/۹	۱۳۰/۷۱ (۱۸۶۲ - ۸/۱ × ۱۰ <sup>۵</sup> )	۷۵۸ (۲۲۹ - ۹۵۸۸)	۱/۱ × ۱۰ <sup>۵</sup>	طعمه مسموم**
۲ ± ۰/۲	۵۸/۷	۱۱۰ (۶۸ - ۲۳۵)	۲۵/۲۲ (۲۰/۲۴ - ۲۵/۳۲)	۲/۷ × ۱۰ <sup>۶</sup>	
۲/۵۷ ± ۰/۲۱	۶۶/۳	۱۷/۸۶ (۱۴/۹۵ - ۲۲/۷۶)	۵/۶۸ (۵/۰۸ - ۶/۳۱)	۳/۷ × ۱۰ <sup>۷</sup>	
۲/۶۹ ± ۰/۱۸	۸۴/۴۵	۱۱/۸۶ (۱۰/۴ - ۱۴)	۳/۹۷ (۳/۵ - ۴/۴۲)	۳/۵ × ۱۰ <sup>۸</sup>	

\* مقادیر LT<sub>50</sub> و LT<sub>90</sub> بر حسب روز هستند.

\*\* آزمون طعمه مسموم به وسیله چوب تیمار شده با سوسپانسیون کنیدی قارچ *M. anisopliae* و چوب تیمار نشده در مقابل موربانه *M. diversus*



نمودار ۳- مقایسه میانگین مرگ و میر بعد از ۱۴ روز در آزمون طعمه مسموم به وسیله چوب تیمار شده با سوسپانسیون کنیدی قارچ *M.*

*anisopliae* و چوب تیمار نشده در مقابل موریانه *M. diversus*

\* برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD در سطح ۵ درصد استفاده شد. حروف مشابه نشان دهنده عدم تفاوت معنی دار هستند.

تفاوت معنی دار داشت. میانگین جمعیت روی چوب‌های تیمار نشده مرحله اول، ۱۷۵۶ موریانه و روی چوب‌های تیمار نشده مرحله دوم، ۶۹۱ موریانه بود ( $F=7/02$ ,  $P=0/004$ ,  $df=30$ ). میانگین تغذیه از چوب‌های تیمار نشده مرحله اول، ۵۹/۷۵ گرم و میانگین تغذیه از چوب‌های تیمار نشده مرحله دوم، ۲۷/۸۱ گرم بود ( $F=7/88$ ,  $P=0/002$ ,  $df=30$ ). زمان اجرای آزمون صحرایی در این کار تحقیقی از دی ماه تا اردیبهشت ماه بود. زمان تلقیح قارچ در محیط، اوایل اسفندماه بود. نتایج آزمون صحرایی بیشتر از جهتی قابل تأمل می‌باشد که انتظار می‌رود با پایان فصل سرما و شروع فصل گرما جمعیت و فعالیت موریانه *M. diversus* افزایش یابد ولی علیرغم این موضوع نتایج به دست آمده نشانگر کاهش جمعیت و تغذیه موریانه مورد نظر بود. از طرف دیگر تعدادی از جمعیت‌هایی که از روی چوب‌های تیمار نشده مرحله دوم (بعد از ارائه قارچ به محیط) جمع‌آوری شدند پس از چند روز در آزمایشگاه تلف شدند و علائم موسکاردین روی سطح بدن آن‌ها ظاهر شد. با قراردادن این اجساد روی سطح محیط کشت، قارچ مورد نظر (*M. anisopliae*) روی سطح محیط کشت رشد کرد و با انجام مراحل مربوط به آزمون کخ بیماری‌زایی قارچ نیز اثبات گردید. این موضوع سبب امیدواری بیشتری به امکان موفقیت قارچ *M. anisopliae* در برابر موریانه *M. diversus* گردید چرا که بعد از گذشت ۲/۵ ماه از ارائه قارچ در محیط، مجدداً قارچ مورد نظر از روی موریانه هدف جمع‌آوری گردید. بنابراین ضمن توجه به این مورد، باید گام‌های مؤثرتری جهت کاربردی کردن امکان کنترل بیولوژیک موریانه *M. diversus* با قارچ *M. anisopliae* برداشته شود. سینگها و همکاران (۱۰) در تحقیقی قابلیت قارچ‌های *M. anisopliae* و *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin را در مقابل موریانه *Microtermes obesi* Holmgren (Iso.: Termitidae)

در حالتی که بخش تیمار نشده کاغذ صافی در نظر گرفته شد به نظر می‌رسد نوعی کشش به سمت چوب وجود داشت. اما در حالتی که چوب به عنوان بخش تیمار نشده و تیمار شده در یک واحد آزمایشی استفاده شد، اهمیت این موضوع کمتر شد. در واقع این مورد نشان می‌دهد که با توجه به اینکه موریانه می‌تواند از منابع مختلفی استفاده کند باید تلاش شود که بستر غذایی جذاب‌تری نسبت به دیگر منابع غذایی که در دسترس موریانه قرار دارد فراهم شود تا از این طریق موریانه به سمت طعمه تیمار شده کشش پیدا کرده و احتمال موفقیت روش‌های کنترلی بر مبنای استفاده از طعمه مسموم افزایش یابد. بایون و همکاران (۴) بیان کردند که کنیدی‌های *M. anisopliae* برای موریانه *Reticulitermes santonensis* Feytaud (Iso.: Rhinotermitidae) دورکننده نیست و بنابراین به راحتی می‌توان آن‌ها را به عنوان مکمل غذایی در طعمه‌ها بکار برد. همچنین وانگ و پاول (۱۵) بیان داشتند طعمه پودر سلولزی که حاوی قارچ *M. anisopliae* بود در مقابل موریانه‌های *R. flavipes* Kollar (Iso.: Rhinotermitidae) و *Coptotermes formosanus* (Iso.: Rhinotermitidae) در غلظت‌های مؤثر دورکنندگی مشخصی نداشت. آن‌ها بیان داشتند طعمه سلولزی حاوی اسپوره‌های *M. anisopliae* سبب حذف گروه‌های موریانه تحت شرایط آزمایشگاهی شد. ضمن اینکه اضافه کردن استفاده از طعمه‌های جذاب‌تر باعث افزایش تأثیر قارچ *M. anisopliae* در مقابل موریانه‌های مذکور می‌گردد. نتایج تحقیق حاضر با نتایج تحقیق آن‌ها مطابقت داشت.

تأثیر قارچ روی جمعیت موریانه در شرایط صحرایی

تجزیه داده‌های آزمون صحرایی نشان داد میانگین جمعیت و تغذیه موریانه‌ها روی چوب‌های تیمار نشده در مرحله اول و دوم با هم

می‌توانند مانع از بوجود آمدن حالت همه‌گیری در کلنی موربانه‌های زیرزمینی شوند. آن‌ها ۳ مکانیسم دفاعی عمده در موربانه‌ها شامل تیمارگری، احاطه سلولی و فعالیت ضد قارچی دستگاه گوارش را مورد بررسی قرار دادند و پیشنهاد کردند که این مکانیسم‌ها اثر افزایشی در ایجاد یک دفاع مؤثر علیه آلودگی قارچ‌ها در سطح فرد و گروه دارند و بنابراین از کلنی موربانه در برابر حالت همه‌گیری محافظت می‌کنند (۵).

### نتیجه‌گیری

در پایان می‌توان گفت که باید آزمایش‌ها برای پیدا کردن ترکیبات جذاب‌تر به عنوان بستر غذایی، جهت ارائه ماده کنترلی به صورت مخلوط با آن در جمعیت موربانه‌ها ادامه پیدا کنند. از طرفی با توجه به نتایج به‌دست آمده از آزمون صحرایی می‌توان بیان کرد که قارچ *M. anisopliae* قابلیت توسعه در مدیریت تلفیقی موربانه *M. diversus* را دارد. البته تلاش‌ها جهت بهبود کارایی قارچ *M. anisopliae* برای کنترل موربانه *M. diversus* باید ادامه یابد. در مجموع مطابق نظر محققین زیادی مثل جایاسیمها و هندرسون (۷) کاربرد مقادیر زیادی از حشره‌کش‌های پایدار و مقاوم برای کنترل موربانه‌ها، به عنوان تهدیدی زیست محیطی برای جمعیت انسان محسوب می‌شود؛ چرا که این مواد باعث آلودگی منابع آبی می‌شوند. حشره‌کش‌های شیمیایی همچنین ممکن است روی موجودات و ارگانیسم‌های غیرهدف نیز تأثیر بگذارند.

شرایط آزمایشگاهی و صحرایی بررسی کردند. آن‌ها نتایج حاصل از کار صحرایی را امیدبخش دانستند. نتایج تحقیق حاضر با نتایج کار آن‌ها مطابقت داشت. حسین و همکاران (۶) مطالعه‌ای را با عنوان ارزیابی قارچ *M. anisopliae* var. *anisopliae* در شرایط آزمایشگاهی و صحرایی جهت کنترل موربانه‌های زیرزمینی انجام دادند. آن‌ها سوسپانسیون تهیه‌شده از قارچ مذکور را به صورت مجزا و همچنین مخلوط با روغن‌های نفتی و سم تیماتوکسام<sup>۱</sup> در مقابل دو موربانه آفت نیشکر به‌نام‌های *M. obesi* و *Odontotermes obesus* Rambur (Iso.: Termitidae) در آخر بیان داشتند که نتایج نشان داد کاربرد مخلوط قارچ *M. anisopliae* و روغن ممکن است یک انتخاب مناسب برای مدیریت موربانه‌ها در مزارع نیشکر باشد. آن‌ها کاهش خسارت ناشی از تیمار قلمه‌های نیشکر با ترکیب‌های ذکر شده را به عنوان دلیل اظهارنظر خود ذکر کردند. طبق گفته برخی از محققین، قارچ‌های بیمارگر عموماً در مقابل موربانه‌ها در مطالعه آزمایشگاهی مؤثر بوده‌اند. اما موفقیت خیلی کمی را در آزمایش‌های صحرایی داشته‌اند (۸). راث بیان کرد دلیل اصلی شکست بیمارگرها در شرایط صحرایی و در مقابل موربانه‌ها، به رفتار اجتماعی این حشرات بر می‌گردد. به عبارت دیگر به اجتناب، دفع افراد بیمار و رفتار تیمارگری بر می‌گردد. وی توضیح داد که به نظر می‌رسد تیمارگری و دیگر واکنش‌های اجتماعی موربانه‌ها پتانسیل گسترش قارچ‌های بیمارگر را در کلنی موربانه‌ها افزایش می‌دهند (۹). چاونک و سو مطالعه‌ای را با هدف بررسی مکانیسم‌های دفاعی موربانه‌ها در مقابل قارچ‌های بیمارگر حشرات انجام دادند. آن‌ها سعی در بررسی این موضوع را داشتند که آیا این مکانیسم‌های دفاعی

### منابع

- ۱- حبیب پور ب. ۱۳۷۳. بررسی فون، زیست‌شناسی و اهمیت اقتصادی موربانه‌های خوزستان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهیدچمران اهواز. ۱۴۳ صفحه.
- ۲- حبیب پور ب. ۱۳۸۵. ارزیابی کارایی طعمه‌های سمی در کنترل موربانه‌های زیرزمینی در شرایط آزمایشگاهی و صحرایی منطقه اهواز. پایان‌نامه دکترا، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهیدچمران اهواز. ۱۵۰ صفحه.
- ۳- حبیب پور ب.، مصدق م. س. و محرمی پور س. ۱۳۸۵. ارزیابی آزمایشگاهی مواد شیمیایی افزودنی به عنوان محرک‌های تغذیه‌ای برای موربانه *Microcerotermes diversus* Silvestri (Isoptera: Termitidae). مجله علمی کشاورزی، جلد ۲۹، شماره ۲، صفحات ۳۳ تا ۴۲.
- 4- Bayon I. L., Ansard D., Brunet C., Girardi S. and Paulmier I. 2000. Biocontrol of *Reticulitermes santonensis* by entomopathogenic fungi improvement of the contamination process. The International Research Group on Wood Protection, IRG/WP/DOC 00-10359.
- 5- Chouvenec T. and SU N. Y. 2010. Apparent synergy among defense mechanisms in subterranean termites (Rhinotermitidae) against epizootic events: Limits and potential for biological control. Journal of Economic Entomology, 103(4): 1327-1337.
- 6- Hussain A., Ahmed S. and Shahid M. 2011. Laboratory and field evaluation of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* for controlling subterranean termites. Neotropical Entomology, 40(2): 244-250.
- 7- Jayasimha, P. and Henderson, G. 2007. Effect of *Aspergillus flavus* and *Trichoderma harzianum* on

1- Thiamethoxam

- Survival of *Coptotermes formosanus* (Iso.: Rhinotermitidae). *Sociobiology*, 49(3): 135-141.
- 8- Milner R. J. and Staples J. A. 1996. Biological control of termites. results and experience within a CSIRO project in Australia. *Biological Science and Technology*, 6: 3-9.
  - 9- Rath A. C. 2000. The use of entomopathogenic fungi for control of termites. *Biocontrol Science and Technology*, 10: 563-581.
  - 10- Singha D., Singha B. and Dutta B. K. 2010. Potential of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in the control of tea termite *Microtermes obesi* Holmgren in vitro and under field condition. *Journal of Pest Science*, 84(1): 69-75.
  - 11- Su N. Y. 1991. Evaluation of bait-toxicants for suppression of subterranean termite population. *Sociobiology*, 19(1): 211-220.
  - 12- Tajick Ghanbalani M. A., Asgharzadeh A., Hadizadeh A. R. and Mohammadi Sharif M. 2009. A quick method for *Metarhizium anisopliae* isolation from cultural soils. *American Journal of Agricultural and Biological Science*, 4(2): 152-155.
  - 13- Triplehorn C. A. and Johnson N. F. 2005. Borrer and Delong's introduction to the study of insects, 7<sup>th</sup> edition, CRC Press. 864pp.
  - 14- Verma M., Sharma S. and Prasad R. 2009. Biological alternatives for termite control: A review. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 63: 959-972.
  - 15- Wang C. and Powell J. E. 2004. Cellulose bait improves the effectiveness of *Metarhizium anisopliae* as a microbial control of termites (Iso.: Rhinotermitidae). *Biological Control*, 30: 523-529.
  - 16- Wood T. G. and Johnson R. A. 1986. The biology, physiology and ecology of termites. In: Vinson, S.B. (ed.) *The economic impact and control of social insects*, Praeger publications: pp. 1-68.