JESI
DOI: 10.22117/JESI.2019.124295.1284

نامه انجمن حشره‌شناسی ایران ۴۵-۳۳ ,(۱)۳۹ ,۱۳۹۸
JOURNAL OF ENTOMOLOGICAL SOCIETY OF IRAN
2019, 39 (1), 33-45

بررسی کارایی رهاسازی تلقیحی قارچ *Metarhizium anisopliae* برای کنترل زیستی سوسک شاخدار خرما (Coleoptera: Scarabaeidae) *Oryctes elegans* در شرایط نخلستان

مسعود لطیفیان* و بهار راد

سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، پژوهشکده خرما و میوه‌های گرمسیری، اهواز، ایران

*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: masoud_latifian@yahoo.com

چکیده

این تحقیق به منظور ارزیابی روش رها سازی ا شباعی جدایه منا سب قارچ *Metarhizium anisopliae* در کنترل میکروبی سو سک شاخدار خرما انجام شد. برای این منظور از یک طرح آ شیانه‌ای ا ستفاده شد. آ شیان‌ها شامل رها سازی حداقل، متوسط و حداکثر بود که به ترتیب در آن‌ها از تعداد ۱، ۲ و ٤ تله در هر هکتار استفاده شد. رهاسازی‌ها به صورت روزانه و به مدت سه هفته ادامه دا شت. نتایج ن شان داد که بین کارایی قارچ *M. anisopliae* در حالات مختلف رها سازی ا شباعی براساس مقایسه ۵ صفت آسیب دم‌برگ، آسیب دم‌خوشه، تعداد لارو و حشره کامل سالم و بیمار تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد وجود دارد. بالاترین کارایی کنترل میکروبی سوسک شاخ‌دار خرما در کاهش جمعیت لارو، حشره کامل و آ سیب به دم‌برگ و دم‌خو شه در شرایط رها سازی حداکثر بود، به طوری که در هر ۲ سال انجام برر سی، کارایی کنترل حدود ۹۰ درصد بود. اس‌تقرار و انتشار قارچ *M. anisopliae* در شرایط رهاسازی حداکثر بالاتر از سایر روش‌های رهاسازی بود. در این تیمار از زمان رهاسازی تا ٤۵ روز پس از آن، شاخص رشد قارچ روند افزایشی دا شته است. نتایج این پروژه نشان داد که روش رهاسازی حداکثر علاوه بر کارایی بالای کنترل، از نظر اقتصادی، زیست محیطی و پایداری از شرایط مناسبی برخوردار بوده است.

واژه‌های کلیدی: سوسک شاخدار خرما، قارچ *Metarhizium anisopliae*، رهاسازی تلقیحی

Efficacy evaluation of *Metarhizium anisopliae* inoculative release for biological control of date palm horned beetle *Oryctes elegans* (Coleoptera: Scarabaeidae) in garden

Masoud Latifian* & Bahar Rad

Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Horticulture science research institute, Date palm and tropical fruits research center, Ahwaz, Iran
*Corresponding author, E-mail: masoud_latifian@yahoo.com

Abstract

This research was conducted to evaluate of inoculated release methods on appropriate isolate of *Metarhizium anisopliae* for microbial control of the date palm horned beetle (DPHB) *Oryctes elegans*. Nesting experimental method was used in this study. The nests were includes: minimum, average and maximum inoculate release which used 1, 2 and 4 traps per hectare accordingly, and this daily releasing was continued for three weeks. The results showed; there are significant different at 1 percent level between the efficiency of *M. anisopliae* in different inoculate releasing methods according theses parameters: Petiole and Bunch injured, number of healthy and infected larvae and adult. The maximum

دریافت: ۱۳۹۷/۰۹/۰۵، پذیرش: ۱۳۹۸/۰۲/۳۱.
دبیر تخصصی : مهران غزوی

releasing method had highest microbial control on decreasing of DPHB population (larva and adult), also Petiole and Bunch damage. This efficiency was assessed about 90 percent in two years study. Establishment and distribution of *M. anisopliae* in maximum inoculate release method was higher than other treatments. In this treatment, fungal growth increased from releasing date to 45 days. The results showed that maximum inoculate releasing method, not only had the highest efficiency in control, but also it was suitable considering economical, environmental and sustainability aspects.
Key words: Date Palm horned beetle, fungus, *Metarhizium anisopliae*, inoculate release
Received: 27 October 2018, *Accepted:* 21 May 2019.

مقدمه

سوسک‌های جنس *Oryctes* متعلق به بالاخانواده Scarabaeoidea و خانواده Dynastidae می‌باشند. تا به حال حدود ٤٥ گونه از این جنس شناخته شده است. در میان گونه‌های فوق، دو گونه‌ی *Oryctes rhinoceros* (L.) و *Oryctes elegans* Prell توانایی خسارت‌زایی روی انواع نخل‌ها از جمله نخل روغنی، نخل نارگیل و نخل خرما را دارا می‌باشند (Hussain, 1963). *O. elegans* یکی از مخرب‌ترین آفات نخل خرما است که سبب آسیب‌های جبران ناپذیری به جوانه، خوشه و دمبرگ نخل خرما می‌زند. بر اساس گزارش‌های بین‌المللی، این آفت می‌تواند تولید خرما را از ۳۰ تا ٦٨ درصد کاهش دهد (El-Shafie, 2012). این حشره هر دو سال، یک نسل داشته و به صورت لاروهای سن آخر زمستان گذرانی می‌کند. لاروها در اواخر اسفندماه شفیره می‌شوند. ظهور حشرات کامل تدریجی بوده و اوج ظهور به آب و هوای مناطق بستگی دارد. پرواز حشرات کامل از نیمه دوم ماه فروردین، اواسط اردیبهشت و اواخر اردیبهشت به ترتیب در خوزستان، جهرم و بم شروع می‌شود و تا اواسط ماه شهریور ادامه می‌یابد (Latifian, 2000 & 2017).

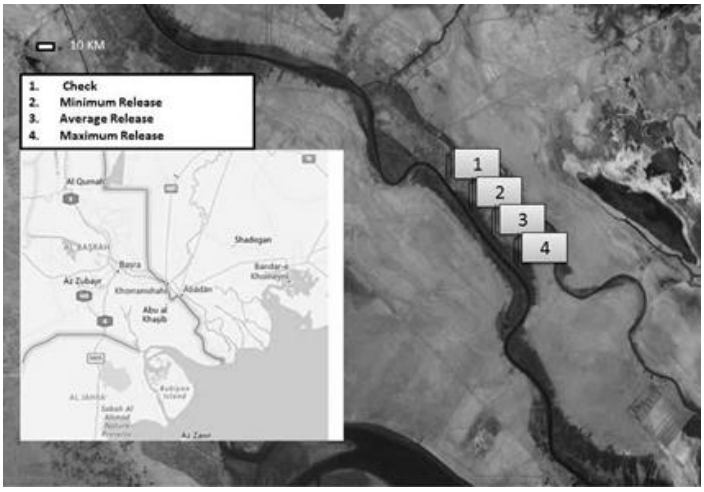
آزمایش‌های بین‌المللی نشان داده که بهترین روش کنترل جمعیت سوسک‌های کرگدنی جنس *Oryctes*، کنترل میکروبی است (Huger, 2005, Bedford, 2013). قارچ *Metarhizium anisopliae* Metschn به عنوان یک آفت-کش زیستی برای کنترل سوسک‌های کرگدنی این جنس در برنامه کنترل بیولوژیکی آنها با موفقیت به کار گرفته شده است (Manurung *et al.*, 2012). اثرات غلـــظت‌های کشنده و زیرکشنده‌ی قارچ‌های *Beauveria bassiana* Balsamo، *Beauveria brongniartii* Sacc و *M. anisopliae* روی لارو و حشرات کامل *O. elegans* بررسی شده است. نتایج حاصل نشان داده که قارچ *M. anisopliae* بالاترین میزان مرگ و میر و عوارض ضدباروری، ضد رشد و ضد تغذیه‌ای داشته و در میان عوامل بیمارگر مورد بررسی مناسب‌ترین عامل برای کنترل میکروبی این آفت است (Latifian & Rad, 2012).

رشد، استقرار و کارایی قارچ *M. anisopliae* در هر اکوسیستم کشاورزی به شرایط رهاسازی آن وابسته است (Roberts & Leger, 2004; Rehner, 2005). بنابراین داشتن اطلاعات کافی در مورد اثرات زیست محیطی، پتانسیل کنترل، شرایط رهاسازی و نحوه استقرار عامل میکروبی قبل از اجرای عملیاتی کنترل بیولوژیکی ضروری است (Lacey *et al*., 2001; Shah & Pell, 2003; Stuart *et al*., 2006). این اطلاعات از طریق اندازه‌گیری صفاتی شامل پایداری، انتشار و مقاومت زیست محیطی عامل بیمارگر در محیط طبیعی رهاسازی قابل برآورد می‌باشند (Tscharntke *et al*., 2005). این مطـــالعه به منظور تکمـیل اطـــلاعات فنـی مورد نیاز برای استفاده از قـــارچ *M. anisopliae* درکنترل بیولوژیکی سوسک شاخدار خرما *O. elegans* شامل نحوه رهاسازی، میزان رهاسازی، چگونگی استقرار و کارایی کنترل آن در شرایط نخلستان انجام شد.

مواد و روش‌ها

زمان و مکان اجرای پژوهش

این پژوهش در مناطق آبادان و اروندکنار در طول سال ۱۳۹٤ و ۱۳۹۵ به مدت ۲ سال انجام شده است. چهار نخلستان با مشخصات جغرافیایی (۳/۱۲، ٤۸/۲۹)، (۳۰/۲۸، ٤۸/۳۲)، (۳۰/۲٤، ٤۸/۳۷) و (۳۰/۲۲، ٤۸/٤۱) برای انجام مطالعات انتخاب شدند و که مکان آن‌ها در شکل ۱ نشان داده شده است.



شکل ۱- مکان‌های جغرافیایی نخلستان‌های محل انجام پژوهش

Fig. 1. Geographical locations of the date palm plantation in studied area

تکثیر قارچ بیمارگر

جدایه قارچ بیمارگر *M. anisopliae* به نام DEMID01 از موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور تهیه شد. این جدایه از منطقه سراوان در استان سیستان و بلوچستان در شرق ایران جمع آوری شده بود. لام گلبول شمار برای ارزیابی غلظت‌های مختلف اسپور قارچ استفاده شد. درصد جوانه زنی اسپور قارچ با برداشت ۰/۱ میلی لیتر از سوسپانسیون آن با غلظت ۵×۱۰^{۵} اسپور در میلی‌لیتر در محیط کشت SDA یک روز قبل از انجام آزمایش اندازه گیری شد. درصد جوانه زنی با شمارش ۱۰۰ اسپور از هر پتری دیش با بزرگنمایی٤۰× محاسبه شد. روز بعد فقط از کشت‌هایی استفاده شد که بیش از ۸۵ درصد اسپورهای آن جوانه زده بودند. سپس فرمولاسیون اسپور قارچ انجام شد. برای این منظور ۲۵۰ میلی‌لیتر روغن کلزا در هر تکرار استفاده شد. ضدعفونی روغن در دمای ۲۰- درجه سلسیوس به مدت ۲٤ ساعت انجام شد. غلظت اسپور قارچ مورد استفاده در فرمولاسیون روغن های گیاهی برابر با غلظت کشنده ۵۰ درصد و معادل ۵/٦۹×۱۰^{۹} اسپور در میلی‌لیتر بود (Latifian *et al*., 2013).

آزمایش‌های رهاسازی اسپور قارچ بیمارگر

برای این منظور از یک طرح آشیانه‌ای استفاده شد. هر آشیان شامل یک نخلستان به مساحت یک هکتار و با رقم غالب استعمران (سایر) بود. تیمارها شامل رهاسازی حداقل، متوسط و حداکثر بود که بصورت ذیل اجرا شدند.

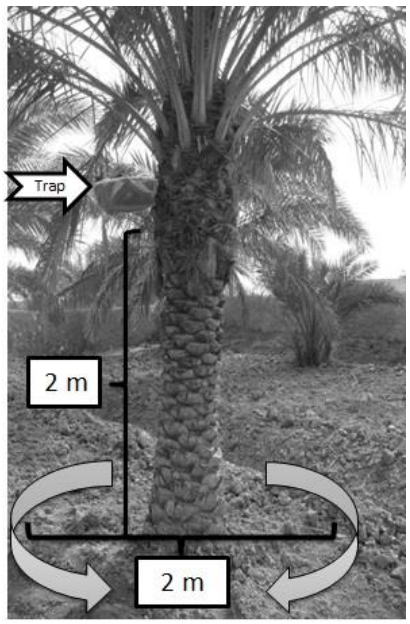
آشیان ۱: رهاسازی حداقل که در این روش تعداد ۱ تله در هر هکتار برای رهاسازی استفاده شد و این رهاسازی به صورت روزانه و به مدت سه هفته ادامه داشت.

آشیان ۲: رهاسازی متوسط که در این روش تعداد ۲ عدد تله در هر هکتار برای رهاسازی استفاده شد و این رهاسازی به صورت روزانه و به مدت سه هفته ادامه داشت.

آشیان ۳: رهاسازی حداکثر که در این روش تعداد ٤ عدد تله در هر هکتار برای رهاسازی استفاده شد و این رهاسازی به صورت روزانه و به مدت سه هفته ادامه داشت.

آشیان ٤: شاهد که بدون هر گونه عملیات رهاسازی بود.

هر تله شامل یک تشت پلی اتیلنی به قطر ۳۵ و ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر بود که به طور کامل با پوشال خرما پوشش داده شده بود. درون هر تله مقدار ۱۰۰ گرم مریستم انتهایی خرما که به وسیله روش غوطه‌ورسازی در سوسپانسیون قارچ با غلظت $۵/٤٤ \times ۱۰^{۵}$ اسپور در میلی‌لیتر قرار داده می‌شد که به صورت روزانه تعویض می‌شد. علاوه براین محیط اطراف سایه انداز درختان مورد این آزمایش به مقدار ۵ لیتر به ازای هر درخت با سوسپانسیون اسپور قارچ به صورت خاک کاربرد ضدعفونی شد (شکل ۲). آزمایشات دارای۱۰ تکرار بوده و هر تکرار شامل یک درخت در قسمت مرکزی یک سوم هکتاری از هر آشیان بود. به منظور مقایسه روش یک تیمار با ۱۰ تکرار به صورت شاهد بدون کنترل شیمیایی و کنترل بیولوژیک در نظر گرفته شد.



شکل ۲– تله مورد استفاده در رهاسازی *Metarhizium anisopliae* به عنوان عامل بیمارگر *Oryctes elegans*

Fig. 2. The trap used for releasing *Metarhizium anisopliae* as entomopathogenic agent of *Oryctes elegans*

ارزیابی جمعیت مراحل خسارت‌زای آفت

در هر آشیان به فاصله ۲۵ سانتی‌متر از اطراف ساقه درختان تیمارشده و شاهد را تا عمق نیم متری مورد بازدید قرار داده و لاروهای موجود جمع‌آوری شدند. لاروهای جمع‌آوری شده پس از حمل به آزمایشگاه در قفس‌های مخصوصی که برای تغذیه ٤۰۰ گرم بافت مریستم انتهایی خرما قرار داده شده بود، قرار گرفتند. مرگ و میر لاروها و ظهور علائم بیماری هر روز و به مدت ١٤ روز ثبت شد. تعداد لاروهای دارای علائم بیماری و سالم شمارش شد. نمونه برداری‌ها به فاصله ١٤ روز پس از رهاسازی انجام شد. در نهایت متوسط تعداد کل لارو، لاروهای سالم و بیمار در تیمارهای مختلف با استفاده از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن مورد مقایسه قرار گرفتند. برای برآورد جمعیت حشرات کامل نیز از یک تله نوری استفاده شد. این تله شامل یک چادر هرمی شکل

به ارتفاع ۲ متر بود. درون این تله برای تأمین روشنایی از لامپ ۲٤۰ وات استفاده شد. تله مزبور در وسط آشیان محل انجام هر تیمار از ۵ تا ٤۵ روز پس از رهاسازی از ساعت ۲۳ تا ٤ صبح روز بعد نصب شده و سوسک‌های شکار شده جمع آوری شد. حشرات کامل شکار شده پس از حمل به آزمایشگاه در قفس‌های مخصوصی که برای تغذیه ٤۰۰ گرم بافت مریستم انتهایی خرما قرار داده شده بود، قرار گرفتند. مرگ و میر حشرات کامل و ظهور علائم بیماری هر روز و به مدت ۱٤ روز ثبت شد. تعداد حشرات کامل دارای علائم بیماری و سالم شمارش گردید.

ارزیابی انواع آسیب آفت

از هر تکرار تعداد ۱۰ نخل خرما به صورت تصادفی انتخاب شده و از طریق رنگ آمیزی شماره گذاری شدند. سپس با فواصل زمانی دو هفته یک بار تعداد کل سوراخ‌های ایجاد شده توسط حشره کامل در دم برگ‌ها و دم‌خوشه‌ها در یک سطح افقی مشخص از تاج شمارش شد. به این ترتیب درصد آسیب که نشانه‌ی بیولوژیکی فعالیت آفت می‌باشد در تیمارهای مختلف و شاهد به صورت آسیب به دم‌خوشه و آسیب به دم‌برگ برآورد شد و سپس میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن با هم مقایسه شدند. کارایی تیمارها در کاهش میزان آسیب‌های برآورد شده با استفاده از روش هندرسون- تیلتون محاسبه شد (Henderson & Tilton, 1955).

میزان انتشار و استقرار قارچ عامل کنترل میکروبی

حشرات کامل سوسک شاخدار خرما پس از رهاسازی قارچ بیمارگر در هر آشیان توسط تله نوری شکار شدند. شاخص رشد قارچ بیمارگر *M. anisopliae* در بدن حشرات کامل با استفاده از پارامتر FDI (رابطه ۱) ارزیابی شد. این شاخص در فواصل زمانی ۱۵، ۳۰ و ٤۵ روز پس از اعمال تیمارهای رهاسازی محاسبه شد. برای محاسبه این شاخص نمونه برداری از همولنف بدن حشرات کامل سوسک به طور مستقیم توسط سرنگ همیلتون انجام شد. سپس همولمف در ۳۰ میلی‌لیتر آب مقطر همراه با ۰/۰۳ میلی‌لیتر توئین ۸۰ به حالت سوسپانسیون یکنواخت درآمد. سوسپانسیون‌های حاصل به صورت جداگانه با میکروسکوپ نوری با درشت نمایی(400x) مطالعه شد. تعداد اسپور در مراحل رشد قارچ ثبت شد.

$$FDI = 0.5a + b + 1.5c$$ رابطه (۱)

در رابطه ۱، پارامترهای a، b و c به ترتیب نشان دهنده تعداد کنیدی‌ها، تعداد بلاستوسپورهای جوانه نزده و بلاستوسپورهای جوانه زده می‌باشند (Latifian & Rahkhodaei, 2012).

عوامل بیمارگر می‌توانند از طریق انتقال عمودی به نسل‌های بعدی آفت حمله کنند که اصطلاحاً دور تسلسل پاتوژن نامیده می‌شود. یکی از ساده‌ترین مدل‌ها برای تعیین دور تسلسل برآورد ارتباط بین درصد فعالیت عامل بیمارگر با کل خسارت آفت هدف است که مدل آستانه رهاسازی نامیده می‌شود. در این پژوهش از رابطه بین درصد جمعیت لارو بیمار و متوسط تعداد کل دمبرگ و دم‌خوشه آسیب دیده مطابق رابطه (۲) استفاده شد.

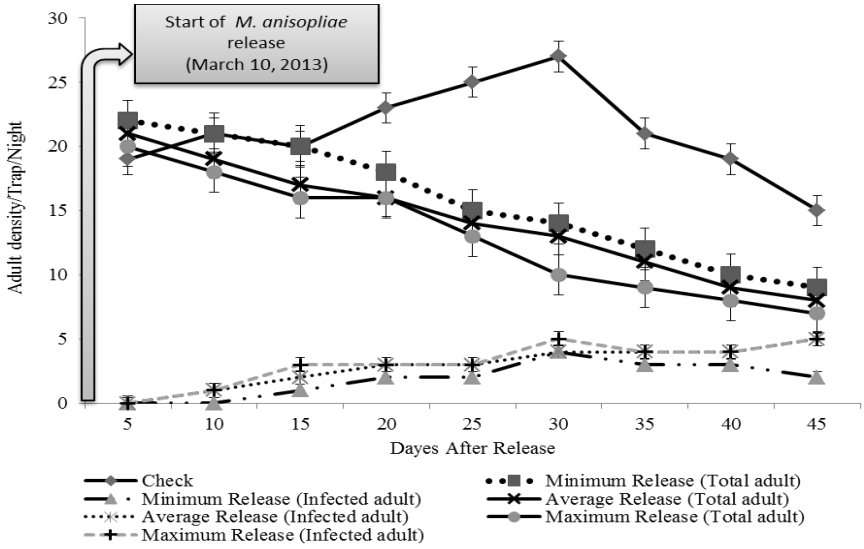
$$M_d = \frac{a}{(1+bEXP(-cI_p)}$$ رابطه (۲)

در رابطه (۲) a، b و c ثابت هستند. Md و Ip به ترتیب شامل میزان آسیب آفت (مجموع تعداد دم‌برگ و دم‌خوشه آسیب دیده) و میانگین جمعیت (مجموع تعداد کل لارو و حشره کامل) آلوده بود.

نتایج

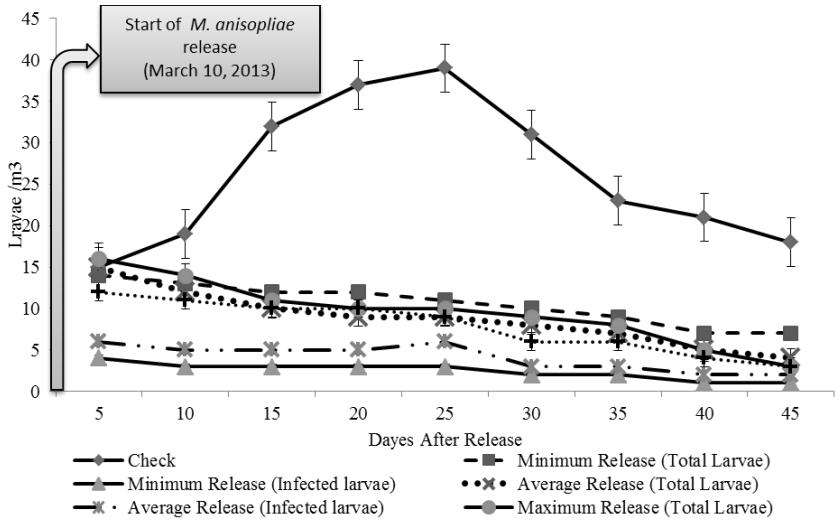
تأثیر روش‌های رهاسازی تلقیحی قارچ بیمارگر در کاهش جمعیت مراحل خسارت‌زای آفت

نوسانات جمعیت حشرات کامل و لاروهای سالم و آلوده سوسک شاخدار خرما در تیمارهای مختلف رهاسازی قارچ بیمارگر در طول ٤٥ روز به ترتیب در شکل‌های ۳ و ٤ نشان داده شده است.



شکل ۳- نوسان جمعیت جمعیت حشرات کامل سالم و آلوده *Oryctes elegans* در تیمارهای مختلف رهاسازی *Metarhizium anisopliae*

Fig. 3. Population fluctuation of total and infected *Oryctes elegans* adults in different *Metarhizium anisopliae* release treatments



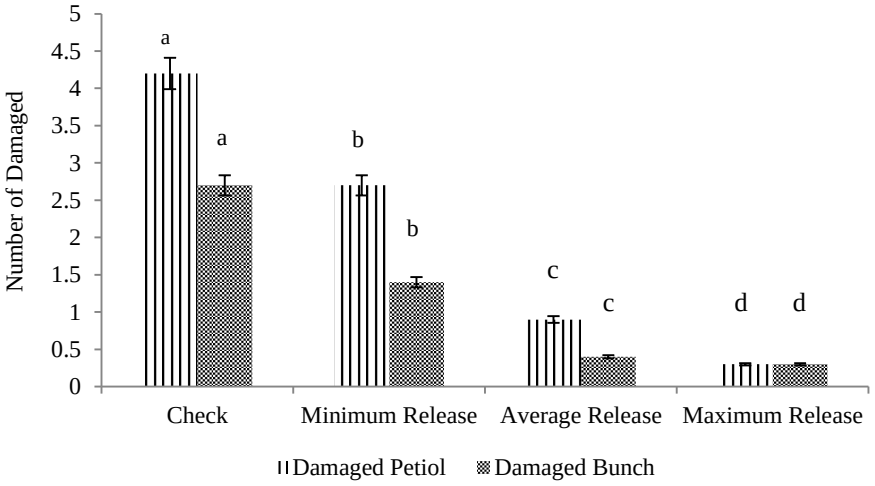
شکل ٤- نوسان جمعیت جمعیت لارو سالم و آلوده *Oryctes elegans* در تیمارهای مختلف رهاسازی *Metarhizium anisopliae*

Fig. 4. Population fluctuation of total and infected *Oryctes elegans* larvae in different *Metarhizium anisopliae* release treatments

نتایج نشان داد که بین تیمارهای مختلف رهاسازی عامل بیمارگر از نظر تفاوت تراکم با شاهد در کل جمعیت، حشرات کامل و لارو آلوده *O. elegans* اختلاف معنی داری وجود دارد. ضریب تطابق جمعیت کامل در سه تیمار رهاسازی و شاهد تفاوت معنی داری (α =۰/۰۱) نشان داد که برای تیمارهای رهاسازی حداقل، متوسط و حداکثر به ترتیب معادل ۰/۷۲، ۰/٦۳ و ۰/۷۲ و برای لارو (α =۰/۰۱) نیز به ترتیب برابر با ۰/۸۱، ۰/۷۱ و ۰/٦۹ بود.

تأثیر روش‌های رهاسازی قارچ عامل بیمارگر در کاهش میزان انواع مختلف آسیب ناشی از فعالیت آفت

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که بین میانگین تعداد دم‌برگ آسیب دیده (میانگین مربعات = ۹٤/۳، درجه آزادی=۳، α=۰/۰۱)، میانگین تعداد دم خوشه آسیب دیده (میانگین مربعات = ۲٤/۲ و درجه آزادی=۳، α=۰/۰۱) و میانگین مجموع دم‌برگ و دم‌خوشه آسیب دیده (میانگین مربعات = ۳۷/٤، درجه آزادی=۳، α=۰/۰۱) تفاوت معنی‌داری وجود داشت. مقایسه میانگین این صفت براساس آزمون چند دامنه دانکن جدید (MRT) در شکل ۵ نشان داده شده است. بر اساس نتایج، بین تمام تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود داشته به‌طوری که کمترین آسیب آفت در تیمار رهاسازی حداکثر رخ داده بود.

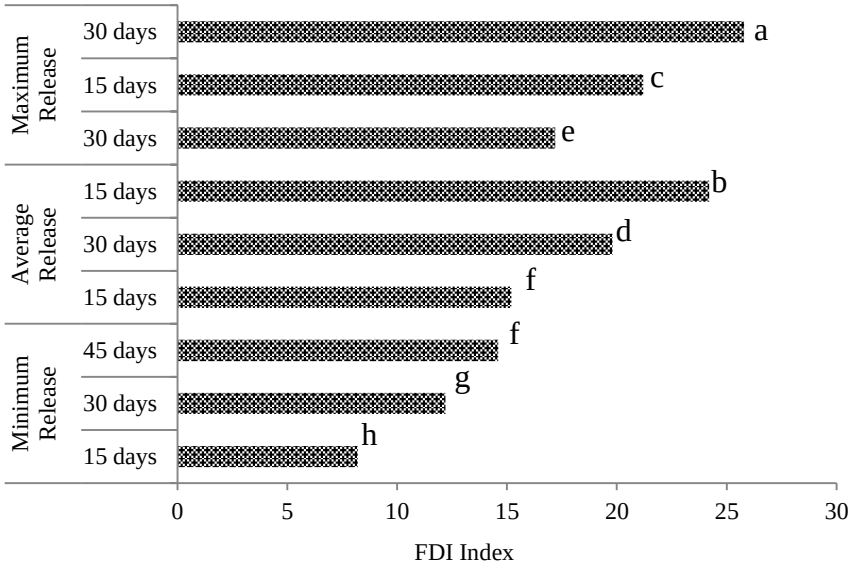


شکل ۵- مقایسه میانگین تعداد دم‌برگ، دم‌خوشه و کل آسیب دیده سوسک شاخدار خرما *Oryctes elegans* در تیمارهای مختلف رهاسازی *Metarhizium anisopliae*

Fig. 5. Comparison mean number of damaged petiole and bunch and total damage of date palm horned beetle (*Oryctes elegans*) in different *Metarhizium anisopliae* treatments

استقرار قارچ بیمارگر عامل کنترل زیستی

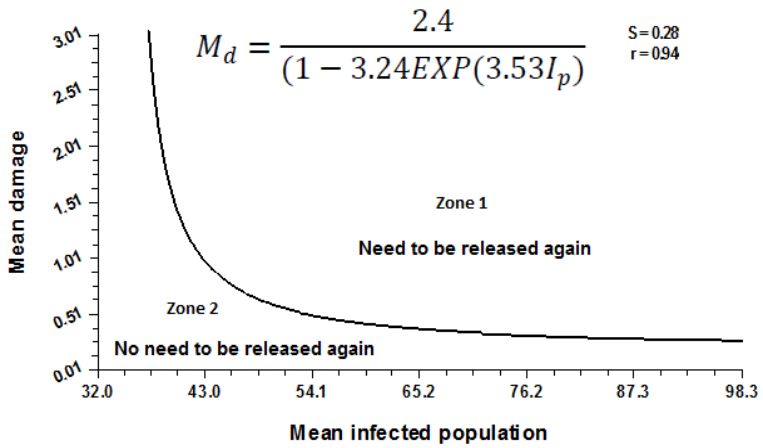
نتایج تجزیه واریانس میانگین شاخص رشد قارچ (FDI) در بدن حشرات کامل سوسک شاخدار خرما در ۳ تیمار رهاسازی قارچ عامل کنترل زیستی تفاوت معنی‌داری نشان داد (میانگین مربعات=۳٦/٦۳، درجه آزادی=۲، α=۰/۱). نتایج آزمون چند دامنه جدید دانکن در سطح ۵ درصد نشان داد که کلیه تیمارها اختلاف معنی‌داری با یکدیگر و شاهد دارند (شکل ٦). قارچ عامل کنترل زیستی بیشترین استقرار را در شرایط رهاسازی حداکثر داشت.



شکل ٦– مقایسه میانگین شاخص رشد قارچ (FDI) در بدن حشرات کامل *Oryctes elegans* در شرایط مختلف رهاسازی *Metarhizium anisopliae*

Fig. 6. Comparison of Fungi growth index mean (FDI) in *Oryctes elegans* adults bodies in different release conditions of *Metarhizium anisopliae*

ارتباط بین میانگین تعداد کل دم‌برگ و دم‌خوشه خرما آسیب دیده با میانگین درصد کل جمعیت آلوده (حشره کامل و لارو) با توجه به مدل معادله ۲ برازش شد که در شکل ۷ نشان داده شده است. تصمیم گیری برای باز رهاسازی با استفاده از مدل شکل ۷ انجام می‌شود. نقطه تلاقی بین میانگین آسیب دم‌برگ و دم‌خوشه و میانگین جمعیت آلوده در مناطق ۱ و ۲ به ترتیب نشان دهنده نیاز و عدم نیاز به رهاسازی مجدد عامل کنترل زیستی است. به این ترتیب که هرگاه نقطه ارزیابی میزان آسیب و میانگین جمعیت آلوده در ناحیه یک منحنی قرار گیرد، می‌بایست به رهاسازی مجدد اقدام نمود و اگر در ناحیه ۲ باشد، نیازی به رهاسازی مجدد نیست. نمونه‌برداری می‌بایست جهت اطمینان از استقرار و تکمیل دور تسلسل عامل بیمارگر هر ٤٥ روز یکبار تکرار شود.

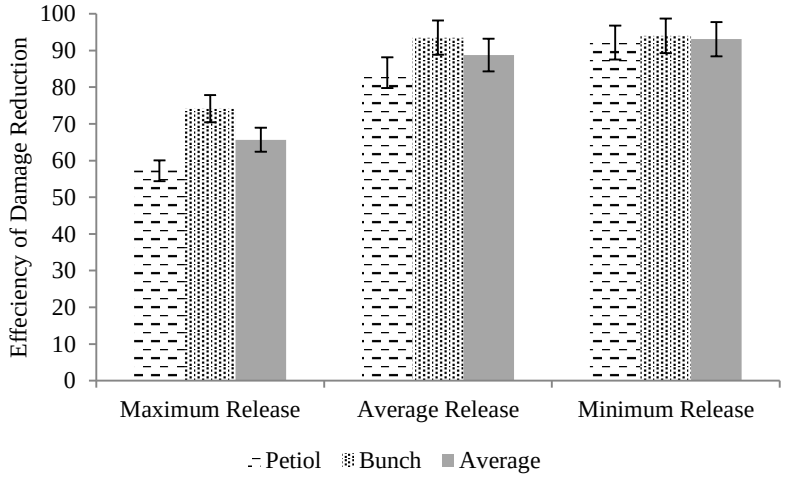


شکل ۷– مدل آستانه باز رهاسازی قارچ *Metarhizium anisopliae* در کنترل زیستی *Oryctes elegans*

Fig. 7. Re-releasing threshold Model of *Metarhizium anisopliae* for biological control of *Oryctes elegans*

کارایی کنترل رهاسازی قارچ بیمارگر درشرایط مختلف رهاسازی

کارایی سه روش مختلف رهاسازی حداقل، متوسط و حداکثر قارچ بیمارگر *M. anisopliae* در کاهش آسیب سوسک شاخدار خرما به دم‌برگ و دم خوشه در شکل ۸ مقایسه شده‌اند. بر اساس نتایج بدست آمده، بیشترین کارایی کنترل برای کاهش خسارت سوسک شاخدار در شرایط رهاسازی حداکثر یعنی ٤ تله در هکتار و رهاسازی روزانه به مدت ۳ هفته بوده است. در این حالت، کارایی کنترل ۹۳ درصد بود. در تیمار رهاسازی متوسط نیز کارایی کنترل معادل ۸۸/۷ درصد بود که از نظر اقتصادی قابل قبول بوده است. اما در تیمار رهاسازی حداقل متوسط کارایی کنترل معادل ٦٥/۷ درصد بود که در این شرایط نیز در تلفیق با روش کنترل به باغی از جمله هرس برگ و دم‌برگ کنترل مؤثری خواهد داشت.



شکل ۸- مقایسه اثر بخشی روش‌های مختلف رهاسازی قارچ *Metarhizium anisopliae* در کاهش آسیب سوسک شاخدار خرما *Oryctes elegans*

Fig. 8. Comparison of the efficacy of different release methods *of Metarhizium anisopliae* in decreasing the damage of date palm horned beetle *Oryctes elegans*

بحث

کنترل شیمیایی سوسک شاخ‌دار خرما بسیار مشکل بوده و به منظور دستیابی به سطح کارایی قابل قبول از آن‌جا که ظهور حشرات کامل تدریجی می‌باشد، تکرار عملیات سم‌پاشی از اردیبهشت ماه تا شهریور ماه به فواصل ۱۵ روز یکبار ضرورت دارد. از طرف دیگر لاروهای آفت نیز درون بافت چوبی به صورت درون زی فعال بوده و در معرض مستقیم آفت‌کش شیمیایی نیستند. اما نتایج این مطالعه نشان داد که عامل بیمارگر در بوم سامانه‌ی نخلستان مستقر شده و در طی دوسال چرخه زندگی آفت نیاز به رهاسازی مجدد نیست. همچنین تفاوت معنی‌داری بین روش‌های کنترل زیستی و شیمیایی از نظر هزینه انجام عملیات و ایمنی وجود دارد (Latifian, 2017). نتایج مطالعات سایر پژوهشگران نیز نشان داده است که هزینه کنترل میکروبی به طور متوسط ۱۰ درصد کمتر از هزینه‌های کنترل شیمیایی است. علاوه بر این مخاطرات انسانی، محیط زیستی و مقاومت آفات ناشی از استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی نیز مشکل ساز بوده و منجر به جستجوی جایگزین‌های پایدار برای آن‌ها در برنامه‌های کنترل آفات شده است (Pretty & Bharucha, 2015). بنابراین، استفاده از این روش مزایای اقتصادی بالاتری نسبت به کنترل شیمیایی دارد. مطالعات سایر پژوهشگران نشان داده است که سوسپانسیون اسپور

قارچ *M. anisopliae* دارای سمیتی به ترتیب ۲۰۰۰۰۰ و ۸۰۰۰ بار کمتر از آفت‌کش‌های دیازینون و کاربارایل است که در کنترل شیمیایی سوسک شاخدار خرما استفاده می‌شوند. بنابراین با روش کنترل میکروبی خطرات ناشی از روش کنترل برای محیط زیست و سلامت جامعه به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد (Tiago *et al.*, 2014; Erler & Ates, 2015).

نتایج آزمایش‌های مشابه در گونه‌های دیگر سوسک‌های جنس *Oryctes* نشان داد که قارچ بیمارگر *M. anisopliae* در کنترل لاروها و حشرات کامل آن‌ها بیشتر از سایر قارچ‌های بیمارگر حشرات مؤثر بوده است (Ibrahim, 2017). هر چند که در این مطالعه کارایی کنترل قارچ بیمارگر می‌تواند درصد کنترل مناسبی در شرایط رهاسازی متوسط و حداکثر ایجاد کند و نیازی به کاربرد تلفیقی و تکمیلی سایر انواع عوامل بیمارگر ندارد. ولی در مواردی برای تکمیل اثرات قارچ‌های بیمارگر می‌توان از سایر عوامل کنترل زیستی بهره برد. به عنوان مثال *M. anisopliae* و نماتدهای بیمارگر حشرات (EPN) میکروارگانیسم‌هایی هستند توانایی بیمارگری در جمعیت لاروهای سوسک شاخدار *O. rhinoceros* دارند. کارایی رهاسازی *M. anisopliae*، EPN و ترکیبی از هر دو در کنترل لاروهای این آفت در اندونزی مورد مطالعه قرار گرفته است. نتایج نشان داده که تلفیقی از دو عامل کنترل به طور همزمان در کنترل لاروهای این آفت مؤثرتر بود (Indriyanti *et al.*, 2017).

مطالعات مختلف نشان داده‌اند که قارچ‌های بیمارگر حشرات تنش‌های محیطی را به خوبی تحمل کرده و توانایی بیمار کردن جمعیت آفت‌های هدف را در نسل‌های بعدی آن دارند. به عبارت دیگر علاوه بر انتقال افقی در جمعیت یک نسل، از طریق انتقال عمودی از نسلی به نسل دیگر نیز منتقل می‌شوند. این چرخه تحت عنوان دور تسلسل عامل بیمارگر شناخته شده یکی از عوامل مهم در استفاده از قارچ‌های بیمارگر حشرات برای کنترل میکروبی به روش رهاسازی تلقیحی است. زیرا در روش رهاسازی تلقیحی انتظار می‌رود که عامل بیمارگر حداقل برای یک دوره مشخص در جمعیت آفت بماند و از نسلی به نسل دیگر منتقل شود. مطالعات مختلف نظیر پژوهش حاضر نشان داده‌اند که قارچ مورد استفاده در این پژوهش دارای این شاخص مثبت بوده و مناسب برای رهاسازی تلقیحی می‌باشد. برای مثال، نشان داده شده که قارچ *M. anisopliae* تا ٦ ماه پس از رهاسازی آن سطح کنترل مناسبی در جمعیت آفات نیشکر داشته است (Tiago *et al.*, 2011). این قارچ تا ۳۰ ماه در کنترل *Antitrogus* sp در مزارع نیشکر مؤثر بوده است (Samuels *et al.*, 1990). بر اساس نتایج این مطالعه در مورد شاخص رشد قارچ (FDI)، عامل بیمارگر رهاسازی شده می‌تواند به طور کامل در نخلستان استقرار پیدا کند. بنابراین برای کاهش هزینه‌ها تنها باید عوامل بازدارنده غیر ضروری کنترل میکروبی نظیر استفاده از قارچ‌کش‌ها را حذف کرد. رهاسازی مجدد قارچ *M. anisopliae* باید تنها در صورت نیاز و بر اساس مدل ارائه شده در این مطالعه انجام شود. از طرفی روش‌های کنترل زیستی با سایر روش‌ها و تکنیک‌های مناسب نظیر مدیریت به باغی قابل تلفیق هستند. در مواردی که به دلایل قهری نظیر شرایط آب و هوایی نامناسب و یا شرایط مدیریتی نظیر ضرورت کاربرد برخی آفت‌کش‌های نامناسب از کارایی آن کاسته می‌شود. برای رساندن آسیب‌های ناشی از آفت به پایین‌تر از سطح زیان اقتصادی می‌توان از آن بهره برد (Pedigo & Higley, 1992). نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که عامل میکروبی در یک دوره‌ی کوتاه نسبت به طول نسل آفت دارای اثرات کنترل ضربه‌ای با حالت تمایل بازگشت به حالت تعادل پایدار دارد. این رفتار دینامیسمی عامل کنترل میکروبی میزان تأثیر آن بر جمعیت سوسک شاخدار و وضعیت دوره‌ای پایداری سیستم تأثیر مثبتی دارد.

در این مطالعه، رهاسازی اسپور قارچ عامل بیمارگر به صورت خاک کاربرد برای کنترل لارو *O. elegans* موفق بوده است. به طوری که ۹۰ درصد از جمعیت لاروهای آفت آلوده بودند. این روش رهاسازی قارچ‌های بیمارگر در بسیاری از موارد موفق بوده است. به عنوان مثال استفاده خاک کاربرد اسپور این قارچ بیمارگر حشرات

برای کنترل مگس میوه نیز پیشنهاد شده است (Lezama-Gutiérrez *et al*., 2000). علت موفقیت روش رهاسازی خاک کاربرد این است که قارچ‌های بیمارگر حشرات به طور طبیعی خاک‌زی بوده و در محیط خاک بقای آن‌ها بیشتر حفظ می‌شود (Gaugler *et al*. 1989). با این حال، مقدار اسپور مورد نیاز برای رهاسازی و اثرات متقابل بقای اسپور با عوامل زیستی و غیر زیستی تحت شرایط مختلف خاک باید مورد بررسی قرار گیرد، زیرا این عوامل به شدت کارایی این روش کاربرد را تحت تأثیر قرار می‌دهند. خطر عوارض جانبی رهاسازی بر موجودات غیر هدف و در معرض خطر نیز می‌بایست ارزیابی گردد (Ekesi *et al*., 2005).

مطالعات نشان داده است که بقای جمعیت حشرات کامل *O. elegans* تحت تأثیر قارچ بیمارگر *M. anisopliae* قرار می‌گیرد. به طوری که در چند روز اول پس از تلقیح عامل بیمارگر، شاخص‌های جمعیت شناختی نظیر امید زندگی و نرخ بقاء کاهش و نرخ خطر مرگ و میر جمعیت نسبت به شاهد افزایش قابل توجهی را نشان می‌دهد (Latifian & Rad, 2012). در این مطالعه، اثربخشی استفاده از تله‌های مواد غذایی آلوده برای رهاسازی قارچ بیمارگر تا ۸۰ درصد ثبت شده است. مطالعات مشابه توسط تله برای رهاسازی همین گونه قارچ برای کنترل میکروبی آفت Newman *Popillia japonica* کارایی مناسبی داشته است. نتایج آزمایش‌های زیست سنجی مختلف نشان داده که این روش برای رهاسازی قارچ‌های بیمارگر *B. bassiana* و *M. anisopliae* در جمعیت حشرات کامل مناسب است (Kelein & Lacy, 2010). در مطالعات دیگری اثر بخشی تله فرومون جنسی برای رهاسازی قارچ بیمارگر Brefeld *Zoophthora radicans* در جمعیت حشرات کامل(L.) *Plutella xylostella* مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج نشان داده که استفاده از رژیم غذایی مصنوعی همراه با فرومون در تله رهاسازی باعث افزایش ۸۷ درصدی کارایی کنترل میکروبی می‌شود (Pell *et al*., 2008). با توجه به این که فرمون‌های این آفت نیز سنتز شده و در دسترس می‌باشند، تکمیل مطالعات به روش مشابه برای سوسک شاخدار خرما نیز ضروری است.

References

Bedford, G. O. (2013) Biology and management of palm dynastid beetles: recent advances. *Annual Review of Entomology* 58, 353-72.

El-Shafie, H. A. F. (2012) Review: list of arthropod pests and their natural enemies identified worldwide on date palm, *Phoenix dactylifera* L. *Agriculture and Biology Journal of North America* 3, 516-524.

Ekesi, S., Maniania N. K., Mohamed, S. A. & Lux, S. A. (2005) Effect of soil application of *Metarhizium anisopliae* on African tephritid fruit flies and their associated endoparasitoids. *Biological Control* 35, 83-91.

Erler, F. & Ates, A. O. (2015) Potential of two entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Coleoptera: Scarabaeidae), as biological control agents against the June beetle, *Journal of Insect Science* 15(1), 44.

Gaugler, R., Costa, S. D. & Lashomb, J. (1989) Stability and efficacy of *Beauveria bassiana* soil inoculations. *Environmental Entomology* 18, 412-417.

Henderson, C. F. & Tilton, E. W. (1955) Tests with acaricides against the Brown wheat. *Journal of Economic Entomology* 48, 157-160.

Huger, A. M. (2005) The *Oryctes* virus: Its detection, identification, and implementation in biological control of the coconut palm rhinoceros beetle, *Oryctes rhinoceros* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 89,78–84.

Hussain, A. A. (1963)Notes on borers' pf date palm in Iraq. *Bulletin Entomological Research* 54, 345 – 348.

Ibrahim, R. A. (2017) Laboratory evaluation of entomopathogenic fungi, commercial formulations, against the Rhinoceros beetle, *Oryctes agamemnon* arabicus (Coleoptera: Scarabaeidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 27(1), 49-55.

Indriyanti, D. R., Widiyaningrum, P., Slamet, M. & Maretta, Y. A. (2017) Effectiveness of *Metarhizium anisopliae* and Entomopathogenic Nematodes to control *Oryctes rhinoceros* Larvae in the Rainy Season. *Pakistan Journal Bioliogical Science* 20(7), 20-327.

Kelein, M. G. & Lacy, L. A. (2010) An attractant trap for autodissemination of entomopathogenic fungi into populations of the Japanese beetle *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Biocontrol Science and Technology* 9(2), 151-158.

Latifian, M. (2000) The bioecology of date palm pests. *Date Palm and Tropical Fruits Research Institute*, pp: 24.

Latifian, M. & B. Rad. (2012) Pathogenicity of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillmin, *Beauveria brongniartii* Saccardo and *Metarhizium anisopliae* Metsch to adult *Oryctes elegans* Prell and effects on feeding and fecundity. *International Journal Agriculture Crop Science* 4, 1026-1032.

Latifian, M. & Rahkhodaei, E. (2012) Development of a novel bioassay for evaluating of the infectivity and between generation transmission effects of entomopathogenic fungi *Beauvaria bassiana* (Balsamo) vuilleminon on population of sawtoothed beetle (*Oryzaephilus surinamensis* L.) fed on date palm cultivars. *International Journal Agriculture Crop Science* 4, 811-817.

Latifian, M., Rad, B., Amani, M. & Rahkhodaei, E. (2013) Mass production of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Balsamo) by using agricultural products based on liquid- solid diphasic method for date palm pest control. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences* 5 (19), 2337-2341.

Latifian, M. (2017) Integrated pest management of date palm fruit pests: A review. *Journal of Entomology* 14, 112-121.

Lacey, L. A., Frutos, R., Kaya, H. K. & Vail, P. (2001) Insect pathogens as biological control agents: Do they have a future? *Biological Control* 21, 230–248.

Lezama-Gutiérrez, R., la Luz, A. T., Molina-Ochoa, J., Rebolledo-Domínguez, O., Pescador, A. R., López-Edwards, M. & Aluja, M. (2000) Virulence of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae): Laboratory and field trials. *Journal Economic Entomology* 93, 1080-1084.

Manurung, E. M. Tobing, M. C. Lubis, L. & Priwiratama, H. (2012) Efficacy of *Metarhizium anisopliae* formulations against *Oryctes rhinoceros* L. larvae (Coleoptera: Scarabaeidae) di Insektarium. *Journal Online Agroekoteknology* 1, 47-63

Pedigo, L.P. & Higley, L.G. (1992) A new perspective of the economic injury level concept and environmental quality. *American Entomology* 38, 12–20.

Pretty, J. & Bharucha, Z. (2015) Integrated pest management for sustainable intensification of agriculture in Asia and Africa. *Insects* 6 (1), 152–182.

Pell, J. K., MaCaulay, E. D. M. & Wilding, N. (2008) A pheromone trap for dispersal of the pathogen *Zoophthora radicans* Brefeld. (zygomycetes: Entomophthorales) amongst populations of the diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (lepidoptera: Yponomeutidae). *Biocontrol Science and Technology* 3(3), 315-320.

Rehner, S. A. (2005) Phylogenetics of the insect pathogenic genus *Beauveria*. In: Vega, F.E., Blackwell, M. (Eds.), Insect-Fungal Associations: Ecology and Evolution. *Oxford University Press*, pp. 3–27.

Roberts, D.W. & St Leger, R. J. (2004) *Metarhizium* spp., cosmopolitan insect-pathogenic fungi: Mycological aspects. *Advance Applied Microbiology* 54, 1–70.

Samuels, K. D. Z., Pinnok. D. E. & Bull, R. M. (1990) Scarabeid larvae control in sugarcane using *Metarhizium anisopliae*. *Journal Invertebrate Pathology* 55,135-137.

Shah, P.A. & Pell, J.K. (2003) Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Applied Microbiology Biotechnology* 61, 413–423.

Stuart, R.J., Barbercheck, M.E., Grewal, P.S., Taylor, R.A.J. & Hoy, C.W. (2006) Population biology of entomopathogenic nematodes: concepts, issues, and models. *Biological Control* 38, 80–102.

Tiago, P. V., Souza, H. M. D. L., Moysés, J. B., Oliveira, N. T. D. & Lima, E. Á. D. L. A. (2011) Differential pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* and the control of the sugarcane root spittlebug *Mahanarva fimbriolata*. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 54(3), 435-440.

Tiago, P. V., Oliveira, N. T. D. & Lima, E. Á. D. L. A. (2014) Biological insect control using *Metarhizium anisopliae*: morphological, molecular, and ecological aspects. *Ciência Rural* 44(4), 645-651.

Tscharntke, T., Klein, A.M., Kruess, A., Steffan-Dewenter, I. & Thies, C. (2005) Landscape perspectives on agricultural intensification and biodiversity ecosystem service management. *Ecological Letter* 8, 857– 874.