

DOI: <http://dx.doi.org/10.22092/jppps.2016.106158>

کارایی چند قارچ کش بر جوانه زنی کنیدیومها و رشد میسلیمی قارچ *Beauveria bassiana* در کنترل سفید بالک پنبه، *Bemisia tabaci* Gennadius (Bals.-Criv.) Vuill.

اردشیر ماوندادی، جهانگیر خواجه علی* و بهرام شریف نبی

گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۲۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۲۹

چکیده

در محیط های کشاورزی جهت کنترل بیماری ها و حشرات آفت از قارچ کش ها و حشره کش های گوناگونی استفاده می شود. این آفت کش ها می توانند بر قارچ های بیمارگر حشرات با قابلیت کنترل آفات تاثیر نامطلوب بگذارند. قارچ *Beauveria bassiana* یک دشمن طبیعی برای دامنه وسیعی از حشرات و بند پایان است و یکی از مهمترین قارچ های بیمارگر حشرات است که در دنیا برای کنترل آفات استفاده می شود. در این پژوهش تاثیر ۱۰ قارچ کش بر رشد میسلیمی و میزان جوانه زنی کنیدیوم های این قارچ بیمارگر حشرات در غلظت های مختلف با روش رقیق سازی سریالی بر روی محیط های کشت PDA و SDAY و همچنین تاثیر سه قارچ کش آپرودیون+ کاربندازیم (WP 52.5%)، اکسی کلورومس (WP 35%) و بنومیل (WP 50%)، بر کارایی قارچ *B. bassiana* در کنترل سفید بالک پنبه، *Bemisia tabaci*، در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه ای در غلظت های توصیه شده، دو برابر غلظت توصیه شده و نصف غلظت توصیه شده مورد بررسی قرار گرفت. در بررسی جوانه زنی کنیدیومها، قارچ کش بنومیل و اکسی کلورومس با IC_{50} به ترتیب ۰/۲۱۸ و ۱۳۸۱/۹۴ میلی گرم بر لیتر بیشترین و کمترین بازدارندگی را داشتند. در بررسی رشد میسلیمی آپرودیون+ کاربندازیم با IC_{50} برابر با ۰/۰۷۶ و ۰/۱۱۲ میلی گرم بر لیتر به ترتیب بعد از سه و هفت روز برای این قارچ بیشترین بازدارندگی را داشت. بنومیل و آپرودیون + کاربندازیم در دو برابر غلظت توصیه شده بیشترین و اکسی کلورومس در نصف غلظت توصیه شده کمترین تاثیر را بر کارایی این قارچ در کنترل سفید بالک پنبه داشتند. بر اساس نتایج، استفاده از برخی قارچ کش های سیستمیک نظیر بنزیمیدازولها منجر به خسارت و از بین رفتن این قارچ بیمارگر حشرات خواهد شد.

واژه های کلیدی: بنزیمیدازولها، سفید بالک پنبه، قارچ های بیمارگر حشرات، کارایی قارچ.

مقدمه

سفيد بالک پنبه یکی از آفات مهم پنبه، سبزیجات و گیاهان زینتی در دنیا می‌باشد. در ابتدا سفید بالک *Bemisia tabaci* Gennadius به عنوان یک آفت جزئی در پنبه و دیگر محصولات گرمسیری و نیمه گرمسیری مانند سیب زمینی شیرین، توتون و گوجه‌فرنگی شناخته می‌شد (Cuthbertson et al., 2011). این سفید بالک به عنوان یک آفت جدی از روی بیش از ۶۰۰ گونه گیاهی مختلف گزارش شده است (Martins et al., 2012).

در مدیریت تلفیقی کنترل آفات (IPM)، تلفیق کنترل بیولوژیک با کاربرد آفت‌کش‌ها به عنوان یک راهکار مهم در کاهش جمعیت آفات در نظر گرفته می‌شود. کاربرد قارچ‌های بیمارگر حشرات به عنوان حشره‌کش‌های طبیعی برای استفاده در کنترل تلفیقی آفات هم در کشاورزی معمولی و هم در کشاورزی ارگانیک گسترش یافته است (Touhidul Islam et al., 2009).

قارچ *Beauveria bassiana* [Balsamo] Vuillemin یک آفت‌کش بالقوه (Jaros-Su et al., 1999) و یکی از پرمصرف‌ترین قارچ‌های حشره‌کشی است که در دنیا برای کنترل آفات استفاده می‌شود و دارای پتانسیل بالا برای کنترل آفات می‌باشد (Fan et al., 2011). قارچ *B. bassiana* روی مراحل مختلف زندگی حشرات موثر است و منجر به مرگ حشره آلوده می‌شود. این قارچ دامنه وسیعی از حشرات میزبان شامل بیش از ۲۰۰ گونه و ۹ راسته از حشرات را آلوده می‌کند که عمدتاً شامل بالپولکداران (Lepidoptera) و سخت بالپوشان (Coleoptera) می‌باشند (Touhidul Islam et al., 2009).

در بین بسیاری از قارچ‌های بیمارگر حشرات، قارچ *B. bassiana* دارای پتانسیل بسیار بالایی برای کنترل سفید بالک‌ها است ولی زنده بودن کنیدیوم‌های آن ممکن است در تداخل با مواد شیمیایی کشاورزی، شرایط محیطی، حشره‌کش‌های بیولوژیک و آفت‌کش‌ها تحت تاثیر قرار بگیرد (Alizadeh et al., 2007). نیاز به محافظت از قارچ-

های بیمارگر حشرات، منجر به توسعه مطالعات در مورد سازگاری قارچ‌های بیمارگر حشرات با سایر محصولاتی که جهت کنترل آفات و بیماری‌ها به کار می‌روند شده است که می‌توانند به میزان کمتر یا بیشتر مانع تکثیر و توسعه بیمارگر شوند (Olmert and Kenneth, 1974).

آزمایش‌های بسیاری به منظور شناسایی تاثیر جانبی آفت-کش‌ها بر قارچ‌های حشره‌کش صورت گرفته است. لزوم توصیف تاثیر آفت‌کش‌ها بر دامنه وسیعی از قارچ‌های حشره‌کش توسط Olmert and Kenneth (1974) مورد بررسی قرار گرفت. تاثیر زمان استفاده از سه قارچ‌کش بر روی یک ایزوله از قارچ *B. bassiana* توسط Kouassi et al. (2003) ارزیابی شد و همچنین Gonzalez et al., (2012) به بررسی اثر شش قارچ‌کش بر روی قارچ *Lecanicillium (Verticillium) lecanii* Zare & Gams پرداختند.

مصرف بی‌رویه قارچ‌کش‌ها در کنترل بسیاری از بیماری‌های گیاهی می‌تواند منجر به تاثیر مخرب بر قارچ‌های بیمارگر حشرات شود و در نتیجه کنترل بیولوژیک آفاتی از قبیل سفید بالک پنبه توسط قارچ‌های بیمارگر حشرات از قبیل *B. bassiana* می‌تواند تحت تاثیر قرار بگیرد. در این پژوهش تاثیر ۱۰ قارچ‌کش بر رشد میسلومی و جوانه‌زنی کنیدیوم‌های قارچ *B. bassiana* مورد بررسی قرار گرفت و همچنین تاثیر بعضی از قارچ‌کش‌ها بر کارایی این قارچ در کنترل سفید بالک پنبه در گلخانه و آزمایشگاه ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها

جدایه *Beauveria bassiana* استرین ۱۳۹۵c جدا شده از پروانه فری، *Zeuzera pyrina*، از موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور تهیه شد و در کوتاه مدت تا زمان استفاده از آن‌ها روی محیط کشت PDA نگهداری شد.

قارچ‌کش‌های مورد استفاده در این تحقیق شامل کروزکسیم متیل (استروبی® WG %50)، اکسی کلرور مس (%35)

سطح آن را فراگیرد، سپس یک میلی‌لیتر ماده توپین^۱ ۸۰ به آن اضافه و تشکک پتری به شدت تکان داده شد تا کنیدیوم‌ها جدا شوند. بعد از قرار دادن یک قطره از سوسپانسیون در زیر لام گلوبول شمار، تعداد کنیدیوم‌ها شمارش شد.

پس از تعیین غلظت سوسپانسیون کنیدیوم با اضافه کردن آب مورد نیاز، سوسپانسیون ۲×۱۰^۵ کنیدیوم در هر میلی‌لیتر قارچ در شرایط کاملاً سترون تهیه شد. میزان ۳۵ میکرولیتر از این سوسپانسیون به محیط‌های کشت حاوی غلظت‌های مختلف قارچ‌کش و همچنین محیط کشت به همراه آب مقطر به عنوان شاهد اضافه شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت در زیر میکروسکوپ با عدسی چشمی ۴۰× تعداد ۵۰ الی ۱۰۰ کنیدیوم شمارش شد، کنیدیوم‌هایی که طول لوله تندش آن‌ها از نصف طول کنیدیوم بیشتر بود جوانه زده در نظر گرفته شد و درصد تعداد کنیدیوم‌های جوانه زده در مقایسه با شاهد پس از ۲۴ ساعت به دست آمد.

تأثیر قارچ‌کش‌ها روی رشد میسلیمی *B. bassiana*:

جهت انجام این آزمایش از روش انجام شده توسط (2003 Irigaray et al., پیروی شد. بدین منظور از محیط کشت PDA استفاده شد. این محیط با نسبت عصاره ۲۰۰ گرم سبب زمینی، ۱۸ گرم آگار و ۲۰ گرم گلوکز برای یک لیتر آماده شد. غلظت‌های مناسب قارچ‌کش‌ها به صورتی که قبلاً توضیح داده شد به دست آمدند و از محیط کشت به همراه آب مقطر نیز به عنوان شاهد استفاده شد. در شرایط کاملاً سترون از حاشیه در حال رشد یک پرگنه هفت روزه قارچ *B. bassiana* که در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شده بود، یک حلقه پنج میلی‌متری از محیط کشت به همراه قارچ و ارتفاع ۳ میلی‌متر برداشته شد و به صورت وارونه در مرکز محیط کشت PDA به تنهایی به عنوان شاهد و محیط کشت همراه با قارچ‌کش‌ها، در تشکک پتری مایه‌زنی شد و در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه

(WP)، مخلوط بردو (بردوفیکس[®] 18% SC)، بنومیل (WP /50)، کلروتالونیل (داکونیل[®] 75% WP)، زینب (WP /80)، کاپتان (WP /50)، آپرودیون + کاربندازیم (WP /52.5)، کاربندازیم (WP /60) و مانکوزب (WP /80) بودند که مشخصات آن‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است.

حشره سفید بالک پنبه *B. tabaci* از روی گیاه گوجه-فرنگی کشت شده در شهرک گلخانه‌ای فلاورجان جمع-آوری و جهت شناسایی گونه از خصوصیات مورفولوژیکی از قبیل شکل بالغین، نحوه تخمگذاری و شکل سفیره‌ها و پوره‌ها استفاده شد. گیاهانی که در این آزمایش استفاده شدند نشاء‌های گوجه‌فرنگی بودند که در گلدان‌های پلاستیکی و در خاک حاوی مواد غذایی مورد نیاز برای رشد گوجه‌فرنگی کشت شده بودند.

به منظور تهیه غلظت‌های مورد نیاز، ابتدا برای همه قارچ‌کش‌ها، غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از فرمولاسیون قارچ‌کش به دست آمد. سپس با استفاده از روش رقیق‌سازی مکرر (Serial dilution) غلظت‌های ۱۰۰۰، ۱۰۰، ۱۰، ۵، ۰/۵ و ۰/۰۵ میلی‌گرم بر لیتر از فرمولاسیون قارچ‌کش‌ها به دست آمد و در نهایت در مورد هر کدام از قارچ‌کش‌ها غلظت‌های مختلفی (بر مبنای میزان ماده موثره) مورد آزمون قرار گرفت.

تأثیر قارچ‌کش‌ها روی درصد جوانه‌زنی کنیدیوم‌های *B. bassiana*

جهت انجام این آزمایش از روش (Irigaray et al., 2003) استفاده شد. جهت اندازه‌گیری درصد جوانه‌زنی قارچ *B. bassiana* محیط کشت (Sabouraud dextrose agar and yeast extract) SDAY مورد استفاده قرار گرفت. این محیط با نسبت ۴۰ گرم دکستروز، ۱۰ گرم پیتون، ۱۰ گرم عصاره مخمر و ۱۵ گرم آگار برای یک لیتر آماده شد. برای به دست آوردن سوسپانسیون کنیدیوم قارچ‌ها، بر روی محیط کشت ۱۵ روزه قارچ آب مقطر ریخته شد تا

¹ - Tween80

تاثیر تلفیق قارچ کش ها و قارچ بیمارگر بر میزان تفریح تخم های سفید بالک پنبه در شرایط گلخانه:
 آزمایش در ماه های مهر و آبان سال ۱۳۹۲ در گلخانه گوجه فرنگی شهرک گلخانه ای فلاورجان واقع در ۱۵ کیلومتری شهر اصفهان صورت گرفت. قارچ کش هایی که در این آزمایش استفاده شدند شامل آیپرودیون + کاربندازیم، بنومیل و اکسی کلورومس بودند و در غلظت های، غلظت توصیه شده مزرعه ای، نصف غلظت توصیه شده مزرعه ای و دو برابر غلظت توصیه شده مزرعه ای استفاده شدند (جدول ۱).

سلسیوس و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفت. خط رشد آن ها بعد از سه و هفت روز به وسیله یک خط کش از چهار نقطه از حلقه گذاشته شده در مرکز پتری اندازه گیری شد. برای هر تیمار و شاهد چهار تکرار در نظر گرفته شد. نتایج به دست آمده در فرمول:

$$I=100((C-T)/C)$$

قرار گرفت (Vincent, 1947) که در آن I درصد بازدارندگی، C قطر پرگنه در شاهد و T قطر پرگنه در تیمار می باشد، درصد بازدارندگی در مورد هر قارچ کش بر روی رشد میسلومی قارچ *B. bassiana* به دست آمد.

جدول ۱- قارچ کش های استفاده شده به همراه نام تجاری، فرمولاسیون و غلظت توصیه شده مزرعه ای.

Table 1. Tested fungicides and their trade names, formulations and recommended field rates.

General name	Company	Formulation	Field Rate ¹ g/l
bordeaux mix	Baaghban taak	18% SC	3
iprodione + carbendazim	Golsam	52.5% WP	1.5
mancozeb	Aria Shimi	80% WP	2
copper oxychloride	Bisterfield	35% WP	3
carbendazim	Aria Shimi	60% WP	2
benomyl	Agrochemie	50% WP	2
captan	Moshkfaam	50% WP	3
kresoxim-methyl	Sinochemnigbo	50% WP	0.2
chlorothalonil	Syngenta	72% SC	2
zineb	Indofil	80% WP	3

۱. غلظت توصیه شده.

های آلوده به مدت یک دقیقه در این سوسپانسیون‌ها و محلول‌های قارچ‌کش قرار گرفتند. در تیمارهایی که هم قارچ‌کش‌ها و هم قارچ‌های بیمارگر حشرات استفاده شده بودند، قارچ‌کش‌ها دو ساعت قبل از قرار دادن برگ‌های آلوده به تخم‌ها در سوسپانسیون قارچ‌ها، استفاده شدند. در این دو ساعت، گیاهان در شرایط دمایی ۲۵ درجه سلسیوس قرار داشتند. هر آزمایش سه مرتبه تکرار شد. برای هر تکرار دو برگ با بیش از ۸۰ تخم سفید بالک در نظر گرفته شد. بعد از ۷ روز از انجام آزمایش که تخم سفید بالک‌ها به پوره سن یک تبدیل گردید، برگ‌ها جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند و میزان تفریخ تخم‌ها در مقایسه با شاهد بر اساس فرمول آبوت اندازه‌گیری شد.

تأثیر تلفیق قارچ‌کش‌ها و قارچ بیمارگر بر میزان تفریخ تخم‌های سفید بالک پنبه در شرایط آزمایشگاهی:

به بالغین *B. tabaci* اجازه داده شد روی برگ‌های گیاهان گوجه‌فرنگی به مدت ۴۸ ساعت تخم‌گذاری کنند تا حداقل ۴۰ تخم در هر برگ گذاشته شود. آزمایش مشابه آزمایش گلخانه‌ای در ۲۰ تیمار و سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. برگ‌های با تعداد کمتر از ۴۰ تخم دور ریخته شدند. تخم‌ها و برگ‌ها یک روز پس از تفکیک شدن مورد آزمایش قرار گرفتند. برگ‌ها به وسیله سم‌پاش دستی تا زمانیکه سوسپانسیون قارچ و قارچ‌کش از روی آن‌ها سرریز شوند، محلول‌پاشی شدند. اجازه داده شد تا برگ‌ها در شرایط آزمایشگاه خشک شوند، سپس هر کدام از برگ‌ها به مدت ۲۴ ساعت در کیسه‌های پلاستیکی با رطوبت بالای ۹۵ درصد گذاشته شدند. بعد از ۲۴ ساعت کیسه‌ها باز شده و برگ‌ها در دمای ۲۵ درجه سلسیوس با دوره نوری ۱۱ الی ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ الی ۱۳ ساعت تاریکی در محیط اتاق قرار گرفتند. میزان تفریخ تخم‌ها بعد از ۶ روز از محلول‌پاشی ثبت شد. میزان تفریخ تخم‌ها در مقایسه با شاهد بر اساس فرمول آبوت اندازه‌گیری شد.

روش اجرای آزمایش با توجه به آزمایشات Cuthbertson (et al., 2010) و (Touhidul Islam et al., 2009) بر روی تخم سفید بالک انجام گرفت. بوته‌های گوجه‌فرنگی که چهار تا شش برگ حقیقی داشتند و ۱۰ هفته از کاشت آن‌ها می‌گذشت، برای انجام ارزیابی مورد استفاده قرار گرفتند. جهت بررسی تأثیر ترکیب قارچ‌کش‌ها و قارچ *B. bassiana* بر روی درصد مرگ و میر سفید بالک پنبه *B. tabaci* از طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. این آزمایش در قالب ۲۰ تیمار به همراه سه تکرار اجرا شد. هر کرت آزمایشی شامل یک گلدان گوجه‌فرنگی بود و تیمارها به صورت تصادفی به آن‌ها اختصاص داده شدند. فاصله کرت‌ها (گلدان‌ها) از یکدیگر به گونه‌ای بود که اثری بر یکدیگر نداشته باشند و هر تیمار به صورت مستقل و جداگانه انجام گرفت. تیمارها شامل هر کدام از غلظت‌های نصف و دو برابر غلظت و غلظت توصیه شده مزرعه ای سه قارچ‌کش بنومیل، آبیرودیون+ کاربندازیم و اکسی کلرور-مس به تنهایی یا به همراه *B. bassiana* با غلظت کنیدیوم 2×10^5 و همچنین دو تیمار *B. bassiana* با غلظت کنیدیوم 2×10^5 به تنهایی و تیمار آب به عنوان شاهد بودند. غلظت مورد نظر کنیدیوم‌ها همان گونه که در قسمت "تأثیر قارچ‌کش‌ها روی درصد جوانه‌زنی کنیدیوم‌های *B. bassiana*" توضیح داده شد، تهیه گردید. جهت انجام آزمایش بوته‌های آلوده به جمعیت بالای *B. tabaci* در کنار گلدان‌های گوجه‌فرنگی مورد آزمایش قرار گرفتند و اجازه داده شد تا به مدت ۴۸ ساعت بر روی آن‌ها تخم‌گذاری کنند. سپس بالغین از اطراف بوته‌ها پراکنده شدند و پس از بررسی دقیق و اطمینان از عدم وجود سفید بالک بالغ، گلدان‌ها به یک اتاقک عاری از آلودگی با لایه‌های محافظتی به منظور جلوگیری از نفوذ سفید بالک، منتقل شدند. برگ‌هایی از بوته‌ها که دارای جمعیت بالای تخم سفید بالک بودند جهت اعمال تیمار در نظر گرفته شدند. از هر کدام از قارچ‌کش‌ها غلظت مورد نظر آماده شد و همچنین سوسپانسیونی از کنیدی قارچ نیز تهیه شد. برگ-

نتایج

B. bassiana برابر با ۰/۲۱۸ میلی گرم بر لیتر و قارچ کش استروبی ۰/۳۲۷ میلی گرم بر لیتر بود که بیشترین بازدارندگی جوانه زنی کنیدیومها را برای این قارچ داشتند.

تاثیر قارچ کشها روی جوانه زنی کنیدیومهای و رشد میسلومی قارچ *B. bassiana*: همانطور که در جدول (۲) نشان داده شده است در میان قارچ کشهای استفاده شده، مقدار IC_{50} بنومیل برای قارچ

جدول ۲- تاثیر قارچ کشها در بازدارندگی از جوانه زنی کنیدیومهای *B. bassiana*

Table 2. Inhibitory effect of fungicides on *B. bassiana* conidial germination.

Fungicides	IC_{50} mg/l (95% FL ¹)	Slope±SE	χ^2
benomyl	0.21 (0.19 -0.249)	0.09±1.28	5.40
kresoxim-methyl	0.32 (0.17 -0.544)	0.05±0.80	5.45
zineb	1.80 (1.51 -2.121)	0.07±0.65	8.74
captan	3.31 (2.07 -4.813)	0.08±0.94	3.28
chlorothalonil	7.93 (4.61 -15.269)	0.08±0.54	4.69
iprodione + carbendazim	8.09 (6.2 -10.61)	0.07±0.83	5.42
carbendazim	35.74 (21.81 -54.67)	0.06±0.92	14.3
mancozeb	242.29 (165.33 -380.21)	0.07±0.64	5.45
bordeaux mix	1023.51 (637.77 -1911.98)	0.09±0.58	7.11
copper oxychloride	1381.94 (889.35 -2280.18)	0.09±0.60	7.96

¹Fiducial limits

۰/۱۱۲ میلی گرم بر لیتر بعد از هفت روز بود که بیشترین بازدارندگی رشد میسلومی را برای این قارچ داشت. در هر دو مورد جوانه زنی کنیدیوم و رشد میسلومی قارچ کش-های مسی کمترین اثر را از خود نشان دادند.

در بررسی رشد میسلومی قارچهای *B. bassiana* با توجه به جدولهای (۳) و (۴) مشخص شد که در میان قارچ-کشهای استفاده شده، بنزیمیدازولها تاثیر بالایی بر این قارچ دارند. مقدار IC_{50} کاربندازیم برای قارچ *B. bassiana* برابر با ۰/۰۷۶ میلی گرم بر لیتر بعد از سه روز و

جدول ۳- تاثیر قارچ کشها بر رشد میسلومی قارچ *B. bassiana* سه روز بعد از تیمار.

Table 3- Inhibitory effect of fungicides on *B. bassiana* mycelial growth after three days.

Fungicides	IC_{50} mg/l (95% FL ¹)	Slope±SE	χ^2
carbendazim	0.07 (0.05 -0.08)	0.77±0.04	7.72
kresoxim-methyl	0.10 (0.86 -0.13)	0.90±0.03	11.5
benomyl	0.22 (0.20 -0.24)	1.09±0.04	6.40
iprodione + carbendazim	0.42 (0.34 -0.52)	0.71±0.03	13.32
chlorothalonil	0.65 (0.51 -0.83)	0.64±0.04	6.90
captan	0.85 (0.64 -1.11)	0.50±0.03	6.28
mancozeb	1.69 (1.55 -1.84)	1.74±0.07	8.64
zineb	2.01 (1.85 -2.17)	1.46±0.05	13.41
bordeaux mix	14.4 (9.63 -20.54)	0.42±0.03	6.37
copper oxychloride	71.1 (60.0 -83.91)	1.20±0.06	6.61

¹Fiducial limits

جدول ۴- تاثیر قارچ کش ها بر رشد میسلیمی قارچ *B. bassiana* هفت روز بعد از تیمار.

Table 4- Inhibitory effect of fungicides on *B. bassiana* mycelial growth after seven days.

Fungicides	IC ₅₀ mg/l (95%FL ¹)	Slope±SE	χ ²
carbendazim	0.11 (0.09 -0.130)	0.04±0.80	10.30
benomyl	0.51 (0.46 -0.585)	0.04±1.09	29.27
iprodione+carbendazim	0.55 (0.44 -0.667)	0.03±0.73	13.80
captan	1.09 (0.81 -1.449)	0.03±0.46	5.52
kresoxim-methyl	1.47 (1.24 -1.747)	0.02±0.68	18.90
zineb	1.80 (1.56 -2.086)	0.04±0.73	6.07
mancozeb	2.02 (1.87 -2.819)	0.07±1.89	13.35
chlorothalonil	3.20 (1.84 -5.456)	0.01±0.22	7.71
bordeaux mix	62.54 (49.7 -78.29)	0.03±0.59	3.71
copper oxychloride	98.16 (80.98 -119.1)	0.04±0.81	3.67

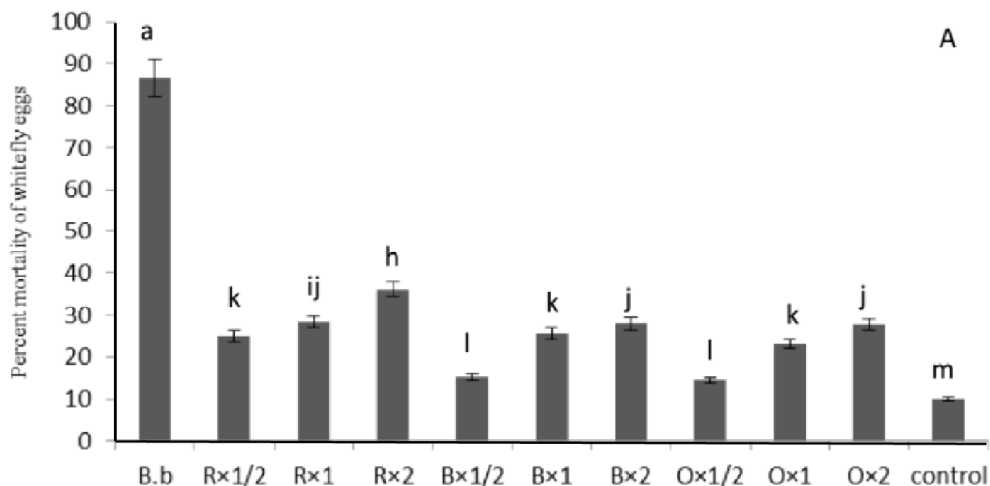
¹ Fiducial limits

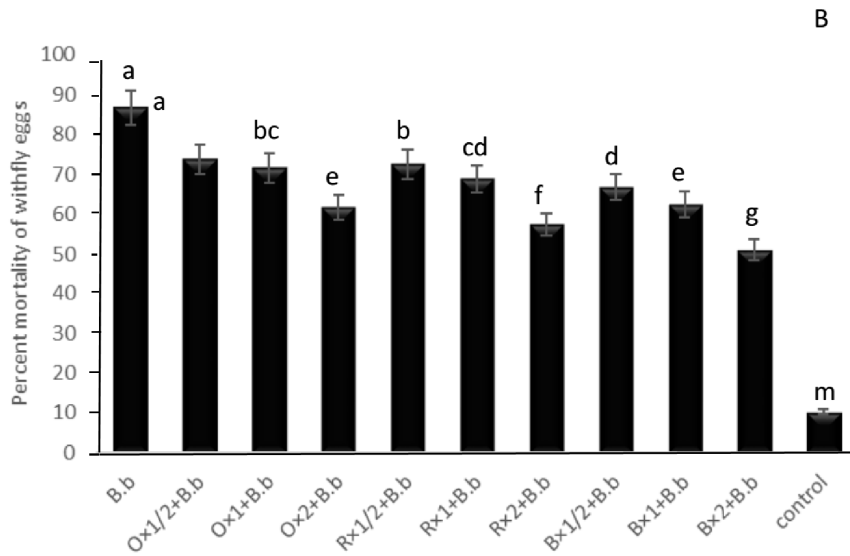
غلظت توصیه شده بیشترین میزان عدم تفریح در تخم های سفید بالک را باعث شد.

شکل (۱- B) نمایانگر این مطلب است که قارچ کش اکسی کلورومس در غلظت نصف غلظت توصیه شده کم-ترین تاثیر و بنومیل در دو برابر غلظت توصیه شده بیشترین تاثیر را بر کارایی قارچ *B. bassiana* در جلوگیری از تفریح تخم های سفیدبالک داشت و همچنین بین تمامی تیمارهای قارچ کش ها به همراه قارچ بیمارگر و قارچ *B. bassiana* به تنهایی تفاوت معنی داری مشاهده شد.

تاثیر قارچ کش ها بر کارایی قارچ های *B. bassiana* در کنترل سفید بالک پنبه در گلخانه و شرایط آزمایشگاهی:

در شرایط گلخانه ای قارچ کش های بنومیل و اکسی کلورومس در غلظت توصیه شده و دو برابر غلظت توصیه شده با آپیرودیون+ کاربندازیم در غلظت های نصف غلظت توصیه شده و غلظت توصیه شده تفاوت معنی داری نداشتند. در بین این قارچ کش ها آپیرودیون+ کاربندازیم در دو برابر





شکل ۱- مقایسه تاثیر قارچ کش های بنومیل (B)، آیپرودیون + کاربندازیم (R) و اکسی کلرور مس (O) در سه غلظت (1×)، نصف (1/2×) و دو برابر (2×) غلظت توصیه شده مزرعه ای به تنهایی (A) و همراه با *B. bassiana* (B.b) (B) در میزان مرگ و میر تخم های سفید بالک در شرایط گلخانه ای میانگین هایی (ستون هایی) که حداقل در یک حرف مشترک اند با استفاده از آزمون Tukey در سطح 0.05 با یکدیگر اختلاف معنی دار ندارند.

Figure 1- Comparison between the effectiveness of fungicides benomyl (B), iprodione + carbendazim (R) and copper oxychloride (O) at (×1), half (×1/2) and two-times (×2) the recommended field rate, alone (A) or with *B. bassiana* (Bb) (B) on the mortality rate of greenhouse whitefly eggs. Bars with the same letters do not differ significantly at P= 0.05 (Tukey's multiple range test)

همراه *B. bassiana* با آیپرودیون + کاربندازیم تفاوت معنی داری نداشت. در تیمار *B. bassiana* به تنهایی میانگین مرگ و میر برابر با ۷۳/۴۶ و در شاهد که تنها از آب استفاده شده بود این میانگین برابر با ۱۲/۶۶ بود که شاهد نسبت به تیمار اکسی کلرور مس در نصف غلظت توصیه شده تفاوت معنی داری نداشت.

با توجه به جدول ۵ قارچ کش اکسی کلرور مس در غلظت نصف غلظت توصیه شده، کمترین تاثیر را در کارایی قارچ *B. bassiana* در ایجاد مرگ و میر تخم سفید بالک داشت. همچنین قارچ کش آیپرودیون + کاربندازیم در غلظت دو برابر غلظت توصیه شده، بیشترین تاثیر را داشت و باعث کاهش کارایی *B. bassiana* در کنترل سفید بالک پنبه در شرایط آزمایشگاهی شد. بعد از آیپرودیون + کاربندازیم، بنومیل در غلظت دو برابر غلظت توصیه شده، بیشترین تاثیر را بر قارچ بیمارگر در کنترل تخم های سفید بالک داشت، این قارچ کش در غلظت دو برابر غلظت توصیه شده به

جدول ۵- میانگین (\pm انحراف معیار) مرگ و میر در تخم‌های سفید بالک پنبه در آزمایشگاه.

Table 5. The mean mortality (\pm SD) of cotton whitefly eggs under laboratory conditions.

Treatment	Mortality (\pm SD)		
	Recommended Field dose ¹		
	dose	dose \times 2	dose \times 1/2
benomyl	24.36 \pm 1.54 j	35.60 \pm 1.64 h	19.18 \pm 3.13 k
iprodione + carbendazim	24.82 \pm 2.70 j	31.92 \pm 6.01 i	17.31 \pm 1.34 kl
copper oxychloride	23.33 \pm 2.43 j	36.15 \pm 2.59 h	14.88 \pm 2.46 lm
benomyl+ B.b	59.98 \pm 3.02 d	56.03 \pm 2.62 f	61.71 \pm 1.84 cd
iprodione + carbendazim+ B.b	62.15 \pm 2.81 cd	50 \pm 2.37 g	63.09 \pm 0.93 c
copper oxychloride+ B.b	62.65 \pm 2.77 cd	58.05 \pm 2.52 ef	67.78 \pm 3.53 b

¹ Described in Table 1

The means in each column with at least one common letter are not significantly different (Tukey's multiple range test $P=0.05$)

بحث

تأثیر قارچ‌کش‌ها روی رشد میسلومی و جوانه‌زنی

کنیديوم‌های قارچ *B. bassiana*:

قارچ‌کش‌های مسی با رشد میسلومی و جوانه‌زنی کنیديوم‌های قارچ *B. bassiana* سازگاری خوبی داشتند و جهت جلوگیری از جوانه‌زنی ۵۰ و ۹۰ درصد کنیديوم‌ها و همچنین رشد میسلومی این قارچ به غلظت‌های بالایی از آن‌ها نیاز بود. در آزمایش (Martins et al. 2012) اکسی کلور مس در میزان غلظت‌های توصیه شده و دو برابر غلظت توصیه شده بطور میانگین ۵۸٪ از جوانه‌زنی کنیديوم‌های این قارچ جلوگیری کرد. همچنین این محققین در مقایسه قارچ‌کش‌های بردو و اکسی کلور مس، بردو را در جلوگیری از جوانه‌زنی کنیديوم‌های این قارچ موثرتر دانسته است. در بررسی اثر دوازه قارچ‌کش بر روی جوانه‌زنی کنیديوم‌های قارچ *B. bassiana* توسط (Khan et al., 2012) بنومیل بیشترین اثر بازدارندگی را از خود نشان داد. قارچ‌کش کاربندازیم که در دسته قارچ-کش‌های بنزیمیدازول می‌باشد، نسبت به بنومیل که آن نیز در این گروه دسته‌بندی می‌شود تأثیر کمتری بر جوانه‌زنی کنیديوم‌های این قارچ داشت. نتایج آزمایشات نشان داد قارچ‌کش بنومیل در غلظت‌های بسیار پائین نیز باعث عدم

جوانه‌زنی در بسیاری از کنیديوم‌های این قارچ شده است و بیشترین اثر را بر روی کنیديوم‌های آن داشته است در حالی که در مورد رشد میسلومی قارچ‌کش کاربندازیم بیشترین تأثیر را داشت و نسبت به بنومیل اثر بیشتری در بازدارندگی از رشد میسلومی این قارچ از خود نشان داد. قارچ‌کش استروبی نیز اثر بالایی در بازدارندگی از رشد میسلومی و جوانه‌زنی کنیديوم قارچ داشت.

تأثیر قارچ‌کش‌ها بر کارایی قارچ *B. bassiana* در کنترل سفید بالک پنبه در گلخانه و شرایط آزمایشگاهی:

با انجام این آزمایش مشخص شد که قارچ‌کش‌های مصرفی در این آزمایش به تنهایی تأثیر بالایی روی مرگ و میر و عدم تفریح تخم‌های سفید بالک نمی‌گذارند. همان‌طور که در شکل (A-1) مشاهده می‌شود تمامی غلظت‌های مختلف قارچ‌کش‌ها نسبت به مرگ و میر ایجاد شده توسط این قارچ بیمارگر حشرات تفاوت معنی‌داری داشتند. با بررسی در شرایط آزمایشگاهی نیز مشاهده شد قارچ-کش‌ها به تنهایی تأثیر چندانی بر میزان مرگ و میر تخم-های سفید بالک‌ها ندارند (جدول ۵). بطوری که در غلظت‌های نصف غلظت مصرفی در قارچ‌کش اکسی

نتایج این پژوهش نشان داد در میان گروه های قارچ کش استفاده شده، قارچ کش های سیستمیک به مراتب اثر مخرب تری بر روی رشد میسلومی و جوانه زنی کنیدیوم-های قارچ *B. bassiana* نسبت به قارچ کش های غیرسیستمیک دارند. در این بین گروه بنزیمیدازولها دارای اثر شدیدتری بوده و استفاده از آنها منجر به خسارت و از بین رفتن این قارچ بیمارگر حشرات خواهد شد. در بین قارچ کش های استفاده شده در این پژوهش ترکیبات مسی سازگاری خوبی با *B. bassiana* داشتند. به نظر می رسد در برنامه مدیریت تلفیقی استفاده از این گروه قارچ کش ها به همراه این قارچ مناسب تر باشند.

سپاسگزاری:

از موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور به خاطر در اختیار قرار دادن جدایه *Beauveria bassiana* تشکر و قدردانی می شود.

کلرور مس با شاهد اختلاف معنی داری مشاهده نشد. از سوی دیگر اختلاف مرگ و میر در قارچ بیمارگر حشرات که به تنهایی استفاده شده بودند با میزان مرگ و میر ایجاد شده توسط قارچ بیمارگر به همراه قارچ کش ها زیاد بود. که علت این امر را می توان ناشی از تاثیر منفی این قارچ-کش ها بر کارایی این قارچ بیمارگر در کنترل سفید بالک دانست.

در بررسی که توسط (Gatarayiha et al., 2009) انجام شده قارچ کش استروبی با وجود این که باعث کاهش کارایی قارچ *B. bassiana* بر روی تخم های کنه دو نقطه-ای شده بود اما در مجموع نسبت به استفاده *B. bassiana* به تنهایی تفاوت معنی داری ایجاد نکرده بود. همچنین در آزمایش (Cuthbertson et al., 2011) جهت کنترل سفید بالک پنبه از چند حشره کش به همراه *B. bassiana* استفاده شده بود که تیمارهای حشره کش ها با *B. bassiana* و استفاده *B. bassiana* به تنهایی تفاوت معنی داری را نداشتند.

References:

- Alizadeh, A., Samih, M. A., Khezri, M. and R. Saberi Rish. 2007. Compatibility of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. with several pesticides. International Journal of Agricultural and Biological Engineering. (9): 31–34.
- Cuthbertson, A. G. S., Blackburn, L. F., Luo, Ph. W., Cannon, R. J. C. and Walters, K. F. A. 2010. Chemical compatibility testing of the entomopathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* to control *Bemisia tabaci* in glasshouse environment. Insect Science. (7): 405-409
- Cuthbertson, A. G. S., Blackburn, L. F., Eyre, D. P., Cannon, R. J. C., Miller, J. and Northing, Phil. 2011. *Bemisia tabaci*: The current situation in the UK and the prospect of developing strategies for eradication using entomopathogens. Insect Science. (18): 1-10
- Fan, Y., Zhang, Sh., Kruer, N. and Keyhani, N. O. 2011. High-throughput insertion mutagenesis and functional screening in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. Journal of Invertebrate Pathology. (106): 274–279
- Gatarayiha, M., Laingal, M. D. and Millerb, R. M. 2009. In vitro effects of flutriafol and azoxystrobin on *Beauveria bassiana* and its efficacy against *Tetranychus urticae*. Pest Management Science. (66): 773–778
- Gonzalez, L. C., Nicao, M. E. L., Muino, B. L., Perez., R. H., Sanchez, D. G. and Martinez, V. L. 2012. Effect of six fungicides on *Lecanicillium (Verticillium) lecanii* (Zimm.) Zare & Gams. Food, Agriculture and Environment. (10): 1142-1145
- Irigaray, F., Marco-Manceb, V. and Perez-Moreno, I. 2003. The entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and its compatibility with triflumuron: effects on the twospotted spider mite

Tetranychus urticae. Biological Control. (26): 168–173

Jaros-Su, J., Groden, E. and Zhang, J. 1999. Effects of selected fungicides and the timing of fungicide application on *Beauveria bassiana*-induced mortality of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). Biological Control. (15): 259–269

Khan, S., Fatima, B. S. and Asef, M. 2012. *In vitro* compatibility of two entomopathogenic fungi with selected insecticides, fungicides and plant growth regulators. Libyan Agriculture Research Center Journal International. (3): 36-41

Kouassi, M., Coderre, D. and Todorova, S. I. 2003. Effects of the timing of applications on the incompatibility of three fungicides and one isolate of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Deuteromycotina). Journal of Applied Entomology. (127): 421–426

Martins, F., Soares, M., Oliveira, I., Pereira, J., Lourdes, D., Bastos, M. and Baptista, P.

2012. Tolerance and bioaccumulation of copper by the entomopathogen *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. exposed to various copper-based fungicides. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. (89): 53-60

Olmert, I and Kenneth, R. G. 1974. Sensitivity of the entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana*, *Verticillium lecanii*, and *Verticillium* sp. to fungicides and insecticides. Environmental Entomology. (3): 33-38

Touhidul Islam, Md., Castle, S. J. and Ren, Sh. 2009. Compatibility of the insect pathogenic fungus *Beauveria bassiana* with neem against sweetpotato whitefly, *Bemisia tabaci*, on eggplant. Entomologia Experimentalis et Applicata. (134): 28-34

Vincent, J. M. 1947. Distortion of fungal hyphae in the presence of certain inhibitors. Nature. (159): 850.

The Effect of Some Fungicides on Conidial Germination and Mycelial Growth of *Beauveria bassiana* and its Efficacy against Cotton Whitefly, *Bemisia tabaci* Gennadius

Mavandadi, A., Khajehali, J.* and Sharifnabi, B.

Department of Plant Protection, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

Received: Feb, 18, 2015

Accepted: Feb, 17, 2016

Abstract

Various fungicides and pesticides often have been used in agriculture for controlling diseases and pests. These pesticides may have detrimental effects on entomopathogenic fungi which have pesticidal ability. In this study several experiments were performed to assess the effect of 10 fungicides on mycelial growth and conidial germination rate at different rate using serial dilutions on PDA and SDAY media. Also effect of three fungicides, copper oxychloride (35% WP), Benomyl (50% WP) and Iprodione+carbendazim (52.5% WP) on the efficacy of *Beauveria bassiana* in controlling the cotton whitefly under laboratory and greenhouse conditions at recommended rate, twice the recommended rate and half the recommended rate were investigated. By evaluation of conidial germination of the fungicide-treated fungi, benomyl with IC_{50} value of 0.218 mg L^{-1} showed the highest inhibitory effect and copper oxychloride with IC_{50} value of $1381.94 \text{ mg L}^{-1}$ showed the lowest inhibitory effect. Carbendazim with IC_{50} values of 0.076 mg L^{-1} and 0.112 mg L^{-1} had the highest inhibitory effect on *B. bassiana* mycelial growth after 3 and 7 days, respectively, Benomyl and iprodione+carbendazim at two times recommended field rates showed the highest and copper oxychloride at half the recommended field rate had the lowest effect on the fungal efficacy against the whitefly. Based on the present results, some systemic fungicides such as benzimidazoles were found to have detrimental effects to this entomopathogenic fungus.

Key words: Benzimidazoles, *Bemisia tabaci*, Entomopathogenic fungi, Fungal efficiency.

* Corresponding author: Jahangir Khajehali, Email: khajeali@cc.iut.ac.ir