



هشتمین کنفرانس ملی زیست شناسی و علوم طبیعی ایران

اثر جمعیت نماتدهای بیمارگر حشرات در کنترل مگس میوه مدیترانه‌ای، *Ceratitis capitata* در شرایط آزمایشگاهی

علیرضا اکبری اشرفی، آیت اله سعیدی زاده* و علیرضا عسکریان زاده

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد - Email: aaalireza7@gmail.com

۲- دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، * نویسنده مسئول - Email: saeidizadeh@shahed.ac.ir

۳- دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد - Email: askarianzadeh@shahed.ac.ir

چکیده

مگس میوه مدیترانه‌ای، *Ceratitis capitata* Wiedemann یکی از مخرب‌ترین آفات درختان میوه در جهان می‌باشد. با توجه به دامنه میزبانی وسیع و خسارت کمی و کیفی این آفت و از طرفی رویکرد پژوهشی جهت توسعه روش‌های کنترلی سازگار با محیط زیست، کنترل زیستی این آفت در مرحله شفیرگی مدنظر این تحقیق قرار گرفت. هدف از این تحقیق، بررسی و مقایسه کارایی کنترل زیستی شفیره مگس میوه مدیترانه‌ای با استفاده از نماتدهای بیمارگر حشرات گونه‌های *Steinernema carpocapsae*، *S. feltiae* و *Heterorhabditis bacteriophora* در غلظت‌های ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ لارو سن سوم نماتد در میلی لیتر (IJs/ml) آب مقطر استریل، در شرایط آزمایشگاهی بود. آزمون به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. نمونه‌های شاهد فقط آب مقطر استریل دریافت کردند. پتری دیش‌ها در شرایط آزمایشگاهی به دمای 25 ± 1 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی به مدت ۱۰ روز نگهداری شد. نتایج نشان داد که نماتدهای بیمارگر بکار رفته در این آزمایش، در مقایسه با شاهد، قابلیت کنترل جمعیت شفیره مگس میوه مدیترانه‌ای را در شرایط آزمایشگاه دارا بوده‌اند. با افزایش غلظت نماتد به طور معنی‌داری ($p \leq 0.05$) بر میزان مرگ‌ومیر شفیره افزوده شده است، به ویژه از غلظت ۲۰۰ (IJs/ml)، به طوری که بیشترین تلفات ایجاد شده توسط نماتدهای *H. bacteriophora*، *S. carpocapsae* و *S. feltiae* به ترتیب ۷۵/۹۵، ۷۰/۸۴ و ۷۵/۵۶ درصد در غلظت ۴۰۰ (IJs/ml) بدست آمد.

کلمات کلیدی: مگس میوه مدیترانه‌ای، *Heterorhabditis*، *Steinernema*، شفیره، کنترل زیستی.

۱. مقدمه

مگس میوه مدیترانه‌ای (*Ceratitis capitata* Wiedemann (Dip.: Tephritidae)) یکی از مخرب‌ترین آفات میوه در جهان می‌باشد. منشا این گونه بخش نیمه‌بیابانی آفریقا است. مگس میوه مدیترانه‌ای به دلیل گسترش جهانی، توانایی تحمل آب و هوای سردتر در مقایسه با دیگر گونه‌های مگس‌های میوه گرمسیری و همچنین دامنه وسیع میزبانی، رتبه اول را بین گونه‌های مهم و اقتصادی مگس میوه به خود اختصاص داده است. در سال‌های اخیر، تلاش‌ها بر توسعه روش‌های کنترلی سازگار با محیط‌زیست برای مهار جمعیت مگس میوه مدیترانه‌ای متمرکز شده است. امروزه در مورد این آفت روش‌های مختلف کنترل زیستی در باغ‌های مرکبات اسپانیا در حال اجرا است. زیست‌شناسی نماتدهای بیمارگر حشرات (entomopathogenic nematodes: EPNs) و وجود جمعیت‌های طبیعی از آنها در محیط خاک، این نماتدها را به عنوان گزینه مناسبی جهت مهار حشرات خاکزی مطرح کرده است. این نماتدها شامل اعضای خانواده‌های *Steinernematidae* و *Heterorhabditidae* می‌باشد که از مؤثرترین عوامل کنترل زیستی حشرات محسوب می‌شوند. این نماتدها به کمک باکتری‌های همزیست خود، به عنن عامل کشنده‌ای برای بسیاری از حشرات محسوب می‌شوند. همچنین نماتدهای بیمارگر حشرات به دلیل داشتن کارایی و دامنه وسیع میزبانی و همچنین سهولت تکثیر در



هشتمین کنفرانس ملی زیست شناسی و علوم طبیعی ایران

شرایط مختلف صنعتی و آزمایشگاهی، به عنوان عواملی مناسب برای کنترل حشرات آفت محسوب شده‌اند (Wright et al., 2005). با توجه به میزان خسارت کمی و کیفی قابل ملاحظه مگس میوه مدیترانه‌ای در مناطق مختلف ایران به ویژه استان مازندران، و همچنین بدلیل مزیت زیست محیطی کنترل زیستی بر ترکیبات شیمیایی حشره کش، هدف از این تحقیق بررسی اثر کنترلی نماتدهای بیمارگر حشرات گونه‌های *Steinernem* *S. feltiae*، *Heterorhabditis bacteriophora* بر جمعیت مگس میوه مدیترانه‌ای در مرحله شفیرگی در شرایط آزمایشگاه قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. نمونه برداری و پرورش آفت

جهت انجام آزمون کنترل زیستی بر روی شفیره مگس میوه مدیترانه‌ای، *C. capitata* در شرایط آزمایشگاه، نمونه برداری طی پاییز و زمستان سال ۱۳۹۸ از درختان مرکبات واقع در شهرستان بهشهر انجام گرفت. برای این منظور درختان نارنگی آسیب دیده از آفت شناسایی شد و میوه‌های دارای آلودگی جمع‌آوری گردید. میوه‌های آلوده به صورت چندتایی در درون چند ظروف پلاستیکی (۱۵×۱۳×۵ سانتی‌متر) که بخش رویی آن با پارچه توری با منافذ ریز (۳۰ مش) پوشانده شده قرار داده شد. و در دمای ۲۵-۳۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۷۰ درصد نگهداری شد. در بازدیدهای روزانه از ظروف پرورش لارو، لاروهایی که بر روی ماسه افتاده و تبدیل به شفیره شده بودند را جدا نموده و روزانه به صورت چندتایی در داخل ظروف شیشه‌ای قرار داده شد.

۲-۲. تهیه مایه تلقیح نماتدهای بیمارگر

جمعیت اولیه نماتدهای بیمارگر حشرات گونه‌های *S. feltiae*، *S. carpocapsae* و *H. bacteriophora* از ایزوله‌های تجاری شرکت کوپرت (Koppert B.V.) در هلند بودند. برای تکثیر نماتدهای مورد نظر از لاروهای سن آخر پروانه موم‌خوار زنبور عسل، *Galleria melonella* L. و روش تله وایت (White, 1927) استفاده شد.

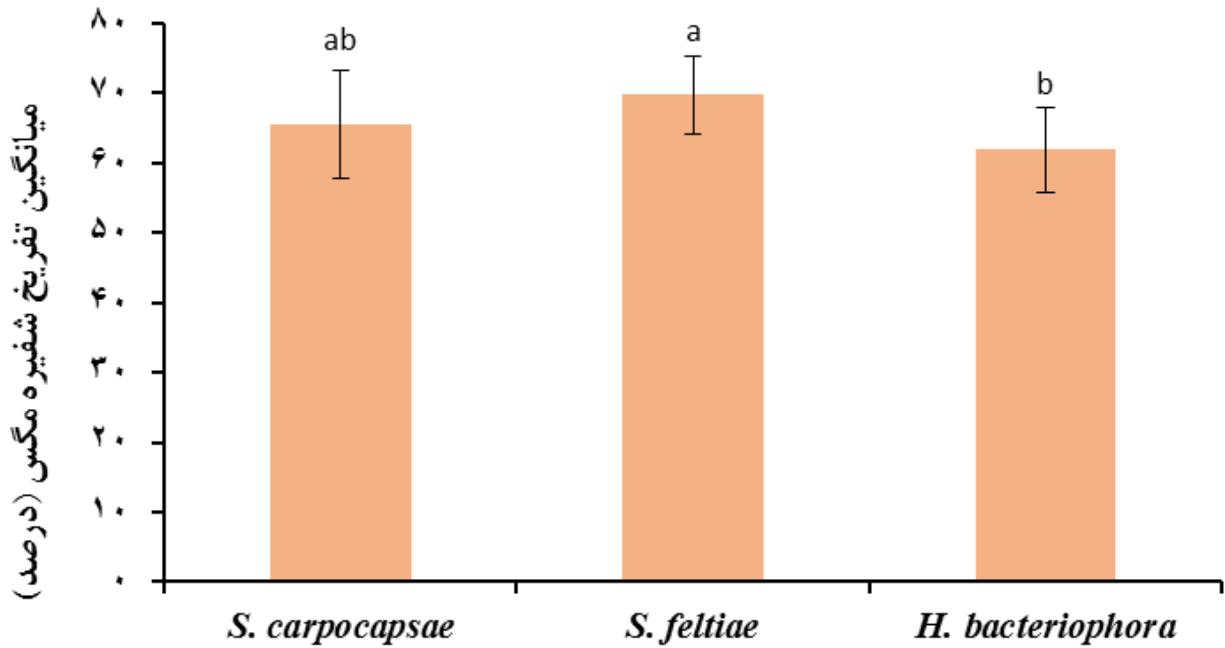
۲-۳. آزمون زیست‌سنجی

آزمایش در پتری‌دیش‌های پلاستیکی به قطر پنج سانتی‌متر که کف آنها با خاک استریل پوشانده شده بود انجام گرفت. تعداد ۱۰ شفیره مگس میوه مدیترانه‌ای در هر پتری‌دیش روی خاک قرار داده شد. مایه تلقیح هر یک از گونه‌های *S. feltiae*، *S. carpocapsae* و *H. bacteriophora* با غلظت‌های صفر (شاهد)، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ IJs/ml استفاده گردید و به هر پتری‌دیش یک میلی‌لیتر از غلظت مورد نظر اضافه شد. در تیمار شاهد یک میلی‌لیتر آب مقطر استفاده گردید. هر تیمار دارای سه تکرار بود. ظروف درون اتاقک پرورش به دمای 25 ± 1 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد نگهداری شد. در این آزمایش بصورت روزانه پتری‌دیش‌ها مورد بازبینی قرار گرفت و تعداد خروج حشرات بالغ (تفریخ شفیره‌ها) طی ۱۰ روز مورد شمارش قرار گرفت. به منظور بررسی آلودگی نماتدی، اجساد شفیره در زیر استریومیکروسکپ تشریح گردید. داده‌ها به صورت آزمون فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی تجزیه گردید (Zolfagharian et al., 2014).

۳. نتایج و بحث

نتایج نشان داد، گونه نماتدهای بیمارگر، غلظت و برهمکنش آنها، از لحاظ آماری اثر معنی‌داری ($P \leq 0.05$) بر درصد تفریخ شفیره مگس میوه مدیترانه‌ای داشته است. کمترین میزان تفریخ شفیره‌ها در غلظت ۴۰۰ IJ/ml، مشاهده شد. روند میزان عدم تفریخ شفیره در غلظت‌های مورد آزمایش برای هر سه گونه نماتد نشان داد که با افزایش میزان غلظت، درصد تفریخ شفیره نیز کاهش می‌یابد (شکل ۱).

هشتمین کنگره ملی زیست شناسی و علوم طبیعی ایران



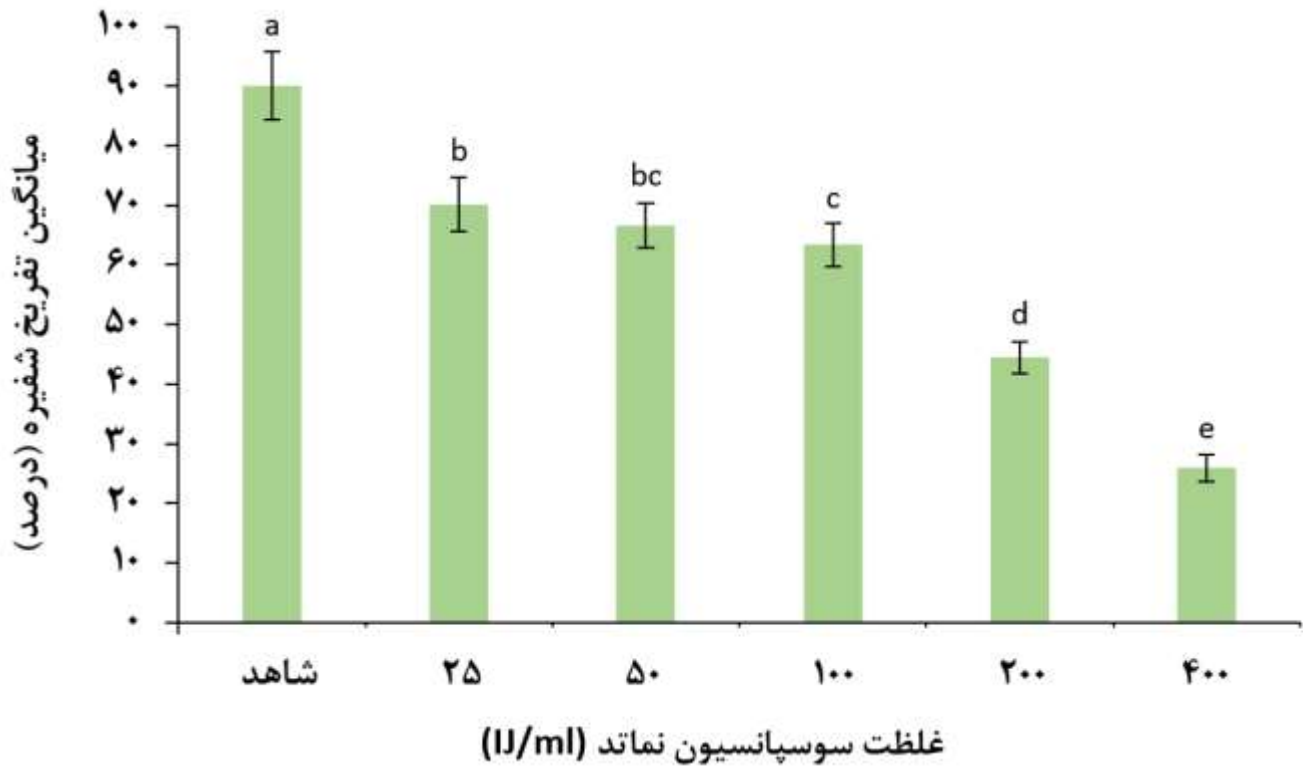
نماتد بیمارگر حشرات

شکل ۱. درصد تفریح شفیره مگس میوه مدیترانه‌ای در تیمارهای مربوط به سه گونه نماتد بیمارگر حشرات

روند میزان تفریح در غلظت‌های مورد آزمایش برای هر سه گونه نماتد نشان داد که با افزایش میزان غلظت، درصد تفریح نیز کاهش می‌یابد. تفریح شفیره مگس میوه مدیترانه‌ای در تمامی غلظت‌ها معنی‌دار ($P \leq 0.05$) بوده است (شکل ۲). در برخی غلظت‌ها بین سه نماتد عملکرد مشابه بوده و در غلظت ۴۰۰ IJ/ml دو گونه نماتد *S. feltiae* و *H. bacteriophora* عملکردی مشابه داشتند، ولی بطور کلی نماتد *H. bacteriophora* عملکرد بهتری و در نتیجه میزان تلفات بالاتری نسبت به دو گونه دیگر داشته است (شکل ۳).

هشتمین کنگره مله

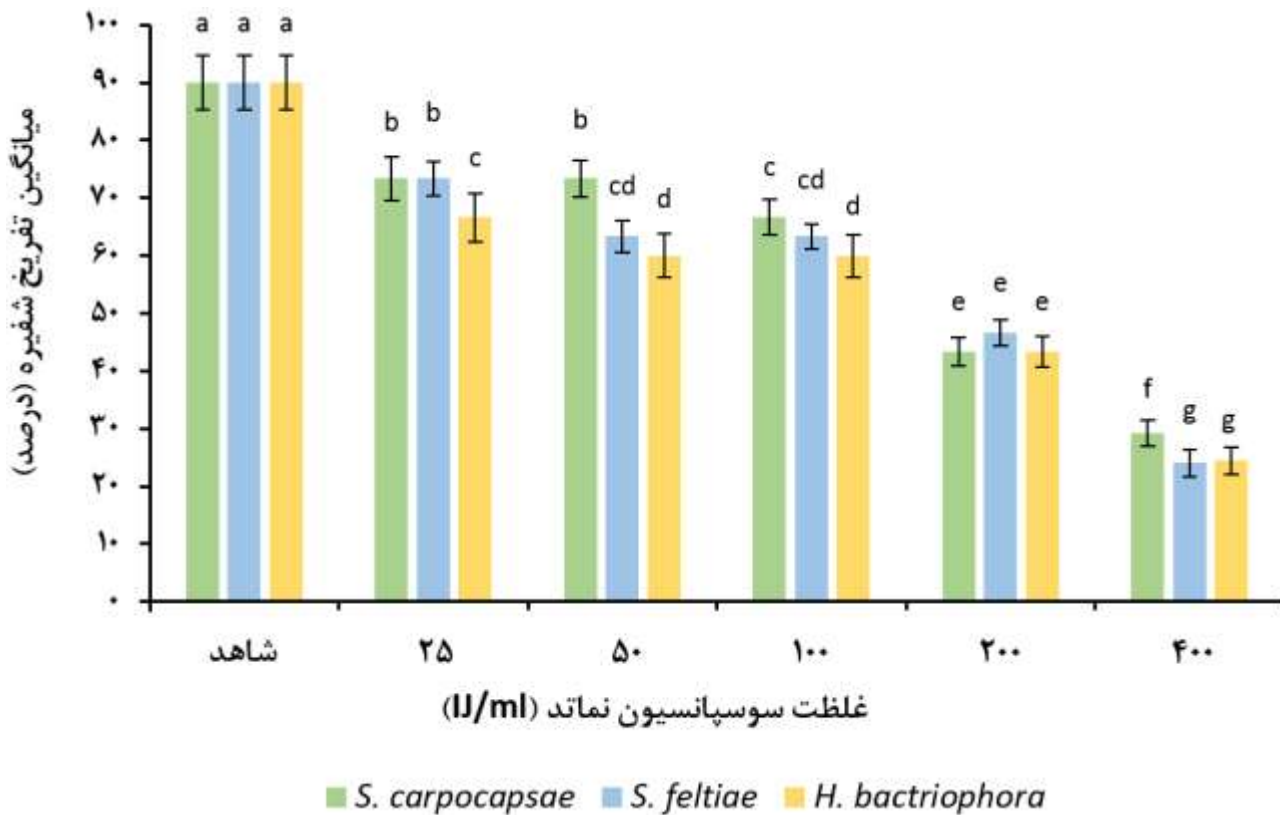
زیست شناسی و علوم طبیعی ایران



شکل ۲. میانگین درصد تفریح شفیره مگس میوه مدیترانه‌ای در تیمارهای مربوط به پنج سطح غلظت از نماتدهای بیمارگر حشرات

از نتایج حاصل از آزمایش می‌توان استنباط کرد که استفاده از هر یک از سه گونه نماتدهای بیمارگر در بالاترین غلظت نتایج نسبتاً یکسانی دربرخواهد داشت، با توجه به این امر می‌توان پیشنهاد کرد که در صورت نبود یکی از گونه‌های مذکور گونه دیگر جایگزین آن شود (به ویژه دو گونه *S. carpocapsae* و *H. bacteriophora*). بر اساس نتایج بدست آمده از خروج حشرات کامل و تجزیه داده‌ها بر اساس دو فاکتور نوع نماتد و غلظت آن، اثر نماتدها در سطح پنج درصد معنی‌دار بود اما در تجزیه داده‌های درصد تلفات تجمیعی شفیره که با دو فاکتور نوع نماتد و غلظت نماتد، تفاوتی بین گونه‌های مورد آزمایش مشاهده نشد. موطن نماتد، بیمارگری استرین‌های مختلف، بیمارگری مربوط به باکتری‌های جدایه‌های نماتد، توانایی برهمکنش با حشره، نحوه پرورش و اثر متقابل نماتد-باکتری نیز می‌تواند در زهراگینی نماتد بیمارگر مؤثر باشد (Gaugler and Georgis, 1991).

هشتمین کنگره ملی زیست شناسی و علوم طبیعی ایران



شکل ۳. مقایسه میانگین درصد تفریح شفیره مگس میوه مدیریتانه‌ای در تیمارهای مربوط اثر متقابل گونه‌های نماتد بیمارگر حشرات و پنج سطح غلظت نماتدهای بیمارگر حشرات

از طرفی با توجه به هزینه بالای استفاده از نماتدهای بیمارگر حشرات برای کشاورزان، می‌توان پیشنهاد کرد که از غلظت‌های پایین‌تر برای کنترل شفیره مگس میوه مدیریتانه‌ای استفاده کنند که در غلظت‌های پایین و همچنین سرعت آلوده سازی نماتد *H. bacteriophora* نسبت به *S. carpocapsae* و *S. feltiae* نتایج نسبتاً بهتری را به همراه داشت که می‌توان در کاربرد نماتد در غلظت پایین به منظور کاهش هزینه‌ها به کشاورز مورد استفاده قرار گیرد و دو نماتد دیگر در غلظت‌های پایین بهتر است برای کنترل شفیره مگس میوه مدیریتانه‌ای در اولویت‌های بعدی قرار گیرد. نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر در زمینه کنترل زیستی آفات با استفاده از نماتدهای بیمارگر حشرات با نتایج دیگر محققین (Minas et al., 2016; Rohde et al., 2010؛ آذرنیا، ۱۳۹۵) مطابقت دارد. به عنوان مثال، Minas و همکاران (۲۰۱۶) با آزمایش روی هشت گونه از نماتدهای بیمارگر حشرات در ستون‌های شن علیه مگس میوه مدیریتانه‌ای، *C. capitata* به این نتیجه رسیدند که با افزایش غلظت نماتدهای بیمارگر میزان مرگ‌ومیر افزایش می‌یابد. در آزمایش ما نیز با افزایش جمعیت نماتدها میزان تلفات افزایش یافت. در حالت کلی نماتدهای مورد مطالعه تفاوت‌هایی در عملکرد داشتند و در تحلیل دقیق‌تر نماتد *H. bacteriophora* بهترین عملکرد کنترلی و نماتد *S. carpocapsae* به نسبت دو گونه دیگر دارای عملکرد ضعیف‌تری بودند.

۴. نتیجه‌گیری

در بین جمعیت اعمال شده از نماتد بیمارگر روی شفیره مگس میوه مدیریتانه‌ای، در بین سه گونه *S. carpocapsae*، *S. feltiae* و *H. bacteriophora* جمعیت ۴۰۰ لارو سن سوم نماتد بیشترین اثر کنترلی را در این آزمون از خود نشان داد. بر اساس نتایج بدست آمده، با افزایش جمعیت نماتد بیمارگر میزان تفریح شفیره کاهش یافت. نتایج آزمون زیست‌سنجی در شرایط آزمایشگاه نشان داد که نماتد گونه *H. bacteriophora* در مقایسه با دو گونه نماتد دیگر بر روی شفیره مگس میوه مدیریتانه‌ای از نظر میزان غلظت دارای بیش‌ترین اثر کنترلی بود.



هشتمین کنگره ملی زیست شناسی و علوم طبیعی ایران

۵. سپاسگزاری

نویسندگان از دانشگاه شاهد برای حمایت مالی از این تحقیق تشکر و قدردانی می کنند.

مراجع

۱. آذرنیا، س. ۱۳۹۵. اثر بیوکنترلی و تلفیقی نماتد و قارچ بیمارگر حشرات بر شب‌پره زنبورمانند چوبخوار *Paranthrene diaphana* Dalla در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه. پایان نامه کارشناسی ارشد حشره شناسی کشاورزی، دانشگاه شاهد.
2. R. Gaugler, and R. Georgis, "Culture method and efficacy of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae), " Bio. Control, vol. 1, pp. 269-274, 1991.
3. R.D.S. Minas, R.M. Souza, C. Dolinski, R.D.S. Carvalho, and R.D.S. Burla, "Potential of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae) to control Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) soil stages," Nematoda, vol. 3., 2016.
4. C. Rohde, Jr.A. Moino, M.A. Da-Silva, F.D. Carvalho, and C.S. Ferreira, "Influence of soil temperature and moisture on the infectivity of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae) against larvae of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae), " Neotrop. Entomo., vol. 39, No.4, pp. 608-611, 2016.
5. G.F. White, "A method for obtaining infective nematode larvae from cultures," Sci. Washington, vol. 66, pp.1709, 1927.
6. D.J. Wright, A. Peters, S. Schroer, and J.P. Fife, "Application technology," In: Grewal, P.S., Ehlers, R. U., Shapiro-Ilan, D.I. (Eds.). Nematodes as Biocontrol Agents. Centre for Agriculture and Bioscience International, pp. 91-106. 2005.
7. M. Zolfagharian, A. Saeedizadeh, H. Abbasipour, A. Joyandeh, and A. Ahmadian Yazdi, "Efficacy of entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae* against the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) in laboratory condition, " Archiv. Phytopatho. Plant Protec., vol. 48, No. 5, pp. 393-399. 2014.