مقایسه کارایی نماتدهای انگل حشرات در کنترل حشره بالغ سوسک برگ‌خوار نارون، *Xanthogaleruca luteola* Muller (Col.: Chrysomelidae) در شرایط آزمایشگاه

نعیمه زین‌العابدین فرد[۱]، حبیب عباسی‌پور[۲]، آیت‌اله سعیدی‌زاده[۳] و جابر کریمی[۳]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد

۲ و ۳- به ترتیب استاد و استادیار گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه شاهد

Email: naeemehfard@yahoo.com

چکیده

درخت نارون درختی سایه‌دار است که در بسیاری از نواحی شهری ایران استفاده می‌شود و در معرض بیش از ۸۰ گونه حشره آفت می‌باشد. مهم‌ترین حشره آفت این درخت سوسک برگ‌خوار نارون، *Xanthogaleruca luteola* Müller است که روی برگ‌ها در مرحله لارو و بالغ تغذیه می‌کند. هدف از انجام این تحقیق بررسی و مقایسه کارآیی نماتدهای *Heterorhabditis bacteriophora*، *Steinernema carpocapsae* و *S. feltiae* در کنترل بیولوژیک سوسک برگ‌خوار نارون در غلظت‌های مختلف در شرایط آزمایشگاهی بود. آزمایش‌ها در دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی صورت گرفت. هر سه گونه نماتد روی لارو سن آخر پروانه‌ی موم‌خوار زنبورعسل، *Galleria mellonella* L. پرورش یافتند. در طی این بررسی، واکنش حشره بالغ آفت با استفاده از غلظت‌های ۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ لارو سن سوم (مرحله آلوده کننده) در هر میلی‌لیتر آب مقطر (IJs/ml)، در داخل پتری‌دیش‌های ۹ سانتی‌متری حاوی کاغذ صافی آغشته به ۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون از هرگونه نماتد مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیشترین درصد مرگ و میر حشره بالغ آفت در تیمارهای نماتدهای *S. feltiae*، *S. carpocapsae* و *H. bacteriophora* به ترتیب به میزان ۷۶/۲۴، ۵۶/۵۳ و ۶۰/۰۰ درصد بود. مقدار غلظت کشنده ۵۰٪ (LC_{50}) نماتدهای *S. feltiae*، *S. carpocapsae* و *H. bacteriophora* روی حشره بالغ آفت به ترتیب ۶/۷۳، ۲۰۴/۰۹ و ۷۰/۲۹ IJ/ml بدست آمد. بنابراین در بین سه گونه نماتد مورد بررسی گونه ی *S. feltiae* دارای بیشترین اثر بیوکنترلی روی حشره بالغ سوسک برگ‌خوار نارون است.

کلمات کلیدی: *Steinernema feltiae*، *Steinernema carpocapsae*، *Heterorhabditis bacteriophora*، سوسک برگ‌خوار نارون، کنترل بیولوژیک

۱. مقدمه

سوسک برگ‌خوار نارون به طور ناخواسته در دهه‌ی ۱۸۳۰ به شرق آمریکا معرفی شد و سرانجام در دهه‌ی ۱۹۲۰ به کالیفرنیا در غرب آمریکا رسید [3]. در ایران نیز نخستین بار توسط افشار در سال ۱۳۲۴ گزارش شد [2]. با توجه به اهمیت نارون در شهرها به لحاظ تأمین فضای سبز و پاکسازی هوای آلوده شهری لزوم نگهداری از این درختان ارزشمند مشخص می‌شود. در حال حاضر یکی از آفات جدی نارون‌های زینتی در سراسر ایران سوسک برگ‌خوار نارون است. تغذیه لارو و حشرات بالغ از برگ ها زیبایی درختان را تحت تأثیر قرار می‌دهد و می‌تواند مشکلات اقتصادی را سبب شود. تغذیه بالغین باعث ایجاد سوراخ‌های نامنظم روی سطح برگ نارون می‌شود. آسیب‌های مکرر ممکن است باعث کاهش قدرت درخت شده و حساسیت به آفات جدی‌تر مانند سوسک کوچک پوستخوار نارون اروپایی که مسئول گسترش بیماری مرگ هلندی نارون است، را افزایش دهد. همچنین از بین رفتن برگ‌ها، سایه درختان را در تابستان و ارزش زیبایی نارون‌ها ر ا کاهش می‌دهد [1].

با توجه به اهمیت سوسک برگخوار نارون در فضای سبز شهری و نیز خسارت این آفت به جنگل‌های طبیعی انواع نارون و همچنین وجود اثرات نامطلوب زیست محیطی در اثر کاربرد سموم، مطالعه کارایی نماتدهای انگل حشرات در کنترل سوسک برگ‌خوار نارون در شرایط آزمایشگاه مدنظر این تحقیق قرار گرفت.

۲. مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری آفت

حشرات بالغ سوسک برگ‌خوار نارون از اواسط فروردین‌ماه همزمان با افزایش دمای محیط (دمای ۱۷ درجه سلسیوس) تا اواخر تیرماه از فضای سبز و پارک‌های موجود در منطقه ۲۰ تهران (شهر ری) و نیز دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهد به‌طور تصادفی از تنه و شاخ و برگ درختان نارون جمع‌آوری شدند و به آزمایشگاه بیماری‌شناسی منتقل شدند.

تهیه مایه تلقیح نماتد

سوسپانسیون لاروهای سن سوم (مرحله آلوده کننده میزبان) نماتدهای بیمارگر *H. bacteriophora*، *S. carpocapsae* و *S. feltiae* (تهیه شده از شرکت کوپرت هلند) در آزمایشگاه بیماری‌شناسی گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه شاهد موجود بود. جهت تهیه مایه تلقیح این نماتدها به منظور انجام آزمایش های مورد نظر لازم بود جمعیت نماتدهای پاتوژن را روی لاروهای پروانه موم‌خوار (*Galeria melonella*) افزایش داد. به این منظور در ابتدا لاروهای پروانه موم خوار پرورش داده شد.

برای پرورش پروانه موم‌خوار شفیره و حشرات کامل در ظروف پلاستیکی استوانه‌ای حاوی موم سیاه به‌عنوان بستر تخم‌ریزی نگه‌داری شدند. تکه‌های موم سیاه هر دو روز تعویض و به ظروف پلاستیکی شفاف باحجم یک لیتر منتقل شدند. به‌منظور ایجاد تهویه مناسب و همچنین جلوگیری از فرار لاروها از پارچه توری و کش برای بستن درب ظروف استفاده گردید. پرورش این حشره در دمای ۱±۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی درون دستگاه ژرمیناتور GER SET 550 G صورت گرفت [8].

جهت تکثیر نماتدهای بیمارگر از پتری‌دیش‌هایی به‌قطر ۹ سانتی‌متر که کف آنها کاغذ صافی استریل پهن شده بود استفاده گردید. در هر پتری ۱۰ عدد لارو سن آخر پروانه موم‌خوار قرار داده شد، سپس به هر پتری یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون هر نماتد به‌طور جداگانه به غلظت ۱۰۰ لارو سن سوم در میلی‌لیتر اضافه شد.

پس از ۲۴ تا ۴۸ ساعت پتری‌ها بازبینی شده و در صورت ایجاد آلودگی نماتدی، لاشه لاروهای آلوده توسط نماتدها به روی شیشه ساعت دارای کاغذ صافی مرطوب منتقل شدند. شیشه ساعت حامل لاروهای پروانه مومخوار در پتری‌دیش‌های دربسته در انکوباتور به دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس نگه‌داری شدند. بعد از ۷ الی ۱۰ روز نماتدهای تکثیر یافته به‌تدریج از بدن لارو پروانه مومخوار خارج شده و از پتری‌دیش‌های مربوطه استخراج گردید. سوسپانسیون نماتد جمع‌آوری شده به درون لوله فالکون حاوی اسفنج خرد شده استریل ریخته همراه با ۲-۱ میلی‌لیتر آب مقطر در دمای شش درجه سلسیوس داخل یخچال نگه‌داری و ذخیره‌سازی گردید [8].

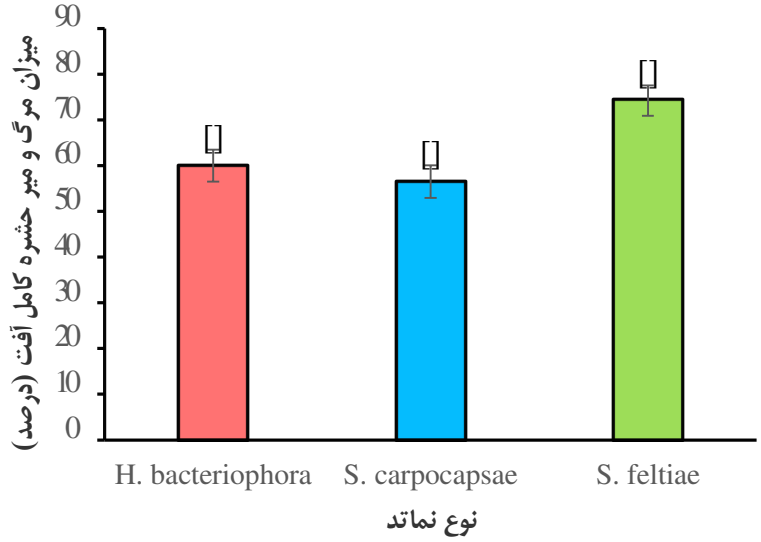
آزمون زیست سنجی

آزمایش در پتری‌دیش‌های پلاستیکی به قطر ۹ سانتی‌متر که کف آنها با کاغذ صافی (واتمن شماره یک) پوشانده شده بود انجام گرفت. مایه تلقیح هر یک از گونه‌های *S. feltiae*، *S. carpocapsae* و *H. bacteriophora* با غلظت‌های صفر(شاهد)، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ IJs/ml استفاده گردید و به هر پتری‌دیش یک میلی‌لیتر از غلظت مورد نظر اضافه شد، هر تیمار دارای سه تکرار بود. در تیمار شاهد یک میلی‌لیتر آب مقطر استفاده گردید. سپس ده حشره بالغ سوسک برگ-خوار نارون به هر پتری‌دیش اضافه شد و در درون دسیکاتور در دمای ۱±۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد نگه‌داری شد. در این آزمایش در هشت بازه زمانی صفر، ۱۶، ۳۲، ۴۸، ۶۴، ۸۰، ۹۶ و ۱۱۲ ساعت مرگ‌ومیر لاروها بررسی و تعداد افراد مرده شمارش شد [6]. به منظور بررسی آلودگی نماتدی، اجساد زیر بینوکولر تشریح شدند (شکل۱). داده‌ها به صورت آزمایش فاکتوریل در پایه طرح کاملاً تصادفی تجزیه شد. تجزیه آماری داده های مربوط به درصد مرگ و میر آفت با نرم افزار SAS و تهیه نمودارها با نرم افزار Excel انجام گرفت.

شکل ۱- لاروهای نماتد خارج شده از بدن حشره بالغ سوسک برگ‌خوار نارون (اصلی)

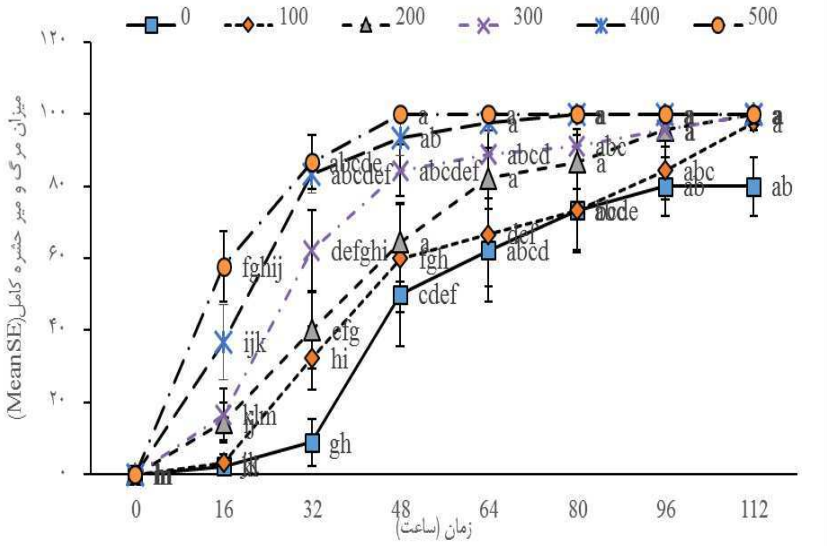
۳. نتایج و بحث

نتایج به‌دست آمده از مقایسه میانگین درصد مرگ و میر حشره بالغ تحت اثر سه نوع نماتد، نشان داد که گونه ی *S. feltiae* در مقایسه با دو گونه نماتد دیگر، روی حشره بالغ سوسک برگ‌خوار نارون دارای بیشترین اثر کنترلی است. بعد از آن گونـه-های *H. bacteriophora* و *S. carpocapsae* قرار گرفتند (شکل ۲).



شکل ۲- مقایسه میانگین مرگ و میر حشره بالغ سوسک برگخوار نارون تحت اثر سه نوع نماتد به روش توکی (α=۰/۰۵). حروف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار است.

نتایج مقایسه میانگین درصد مرگ و میر حشره بالغ سوسک برگ‌خوار نارون تحت اثر بر همکنش غلظت نماتد و زمان‌های مختلف تأثیر نشان داد که با افزایش غلظت هر سه گونه نماتد میزان تلفات و مرگ و میر حشرات بالغ نسبت به شاهد افزایش یافت. همچنین با افزایش زمان در معرض‌گذاری حشرات بالغ سوسک برگ‌خوار نارون با هر سه گونه نماتد، تلفات حشرات بالغ سوسک برگ‌خوار نارون افزایش یافت (شکل ۳).



شکل ۳- مقایسه میانگین درصد مرگ و میر حشره بالغ سوسک برگ‌خوار نارون تحت اثر برهمکنش غلظت نماتد و زمان‌های مختلف تاثیر به روش توکی (α=۰/۰۵). حروف مشترک نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار است.

نتایج تجزیه پروبیت به منظور تعیین LC_{50} در جدول ۱ آورده شده است. همان‌طور که نتایج این جدول نشان می‌دهد میزان LC_{50} برای سه گونه نماتد *S. feltiae*، *S. carpocapsae* و *H. bacteriophora* به ترتیب ۶/۷۳، ۲۰۴/۰۹ و ۷۰/۲۹ لارو سن سوم در میلی‌لیتر برای حشره بالغ آفت بود (جدول ۱). با توجه به میزان کل مرگ و میر و میزان LC_{50}، نماتد *S. feltiae* به عنوان موثرترین گونه در کنترل حشره بالغ سوسک برگ‌خوار نارون بود.

جدول ۱- درجه سمیت (غلظت کشنده، IJ/ml) نماتدهای مطالعه شده بر روی حشره بالغ سوسک برگ‌خوارنارون، *Xanthogaleruca luteola*

LC_{50}		Goodness-of-Fit Test		Parameter Estimate		
LC_{50}	Lower- Upper	χ^2	درجه آزادی	Slope (B) ± SE	Intercept± SE	نماتد
۷۰/۲۹	۳۱/۷۳-۱۰۳/۸۵	۱/۳۹ ns	۳	۰/۸±۰/۱۵	-۱/۴۹±۰/۳۷	*H.b.*
۲۰۴/۰۹	۱۳۶/۲۴-۲۶۷/۰۶	۱۲/۸ *	۳	۲/۱۷±۰/۱۶	-۵/۰۲±۰/۳۹	*S.c.*
۶/۷۳	۰-۳۰/۲۳	۳۲/۱ ns	۳	۰/۴۶±۰/۱۶	-۰/۳۸±۰/۳۹	*S.f.*

۴. بحث

جهت بررسی کارایی نماتدهای بیماری‌زای حشرات برای کنترل سوسک کلرادو سیب زمینی، *Leptinotarsa decemlineata* آزمایشاتی با دو نماتد *Steinernema* sp. و *Heterorhabditis* sp. انجام شد. نتایج نشان داد که با دز ۱۶۰ Ig/cm^2 به ترتیب ۸۳/۷۵٪ و ۹۰٪ لاروهای آفت کنترل گردید [7].

در زمینه کاربرد *S. carpocapsae* برای کنترل سوسک پوست‌خوار *Scolytus scolytus* که ناقل مهم بیماری مرگ هلندی نارون است، تلاش‌های زیادی صورت گرفته است [4]. این محققین متوجه شدند که لارو، شفیره و حشره بالغ *S. scolytus* به استرین DD-136 نماتد *S. carpocapsae* در شرایط آزمایشگاهی حساسیت دارد. در آزمایشات صحرائی در چوب‌های تیمار شده، به‌طور معنی‌داری تعداد حشرات کشته شده توسط نماتد بالا بوده است [5].

پیشنهادات

بررسی اثر بیوکنترلی نماتدهای انگل حشرات روی سوسک برگخوار نارون در شرایط مزرعه.

کاربرد تلفیقی سه گونه نماتد انگل حشرات جهت کنترل آفت.

بررسی اثر بیوکنترلی نماتدهای انگل حشرات بر افراد بالغ در پناه‌گاه‌های طبیعی آن‌ها.

قدردانی

بدینوسیله از حمایت های دانشگاه شاهد در انجام این تحقیق کمال تشکر و قدردانی را دارم.

۵. مراجع

1. Arbab, A., Jalali, J., Sahragard, A., 2001. On the biology of elm leaf beetle *Xonthogaleruca luteola* (Coleoptera: Chrysomellidae) in laboratory conditions. Journal of Entomological Society of Iran, 21:73–85.

2. Behdad, A., 1996. Encyclopedia of Plant Protection. Yadbood publication, Isfahan.

3. Dahlsten, D.L., Rowney, D.L. and Tait, S.M. 1994. Development of integrated pest management programs in urban forests: The elm leaf beetle (*Xanthogaleruca luteola* (Muller)) in California, USA. Forestry Ecological Management, 65:31-44.

4. Finney, J.R. and Mordue, W. 1976. The susceptibility of the elm bark beetle *Scolytus scolytus* to the DO-136 strain of *Neoaplectana* sp. Annals of Applied Biology, 83: 311-312.

5. Finney, J. R. and Walker, C. 1979. Assessment of a field trial using the DD-136 strain of *Neoaplectana* sp. for the control of *Scolytus scolytus*. Journal of Invertebrate Pathology, 33: 239–241.

6. Kondo, E. 1989. Studies on the infectivity and propagation of entomogenous nematodes, *Steinernema* spp. (Rhabditida: Steinernematidae) in the common cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). Bulletin of the Faculty of Agriculture, Saga University. 67: 1-87.

7. Parvizi, R. 2000. Possibility of biological control of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, with entomopathogenic nematodes. In: Proceedings of the 14th Iranian Plant Protection Congress. September 4-7, Esfahan, Iran. p. 66.

8. Zolfagharian, M., Saeedizadeh, A., Abbasipour, H., Joyandeh, A. and Ahmadian Yazdi, A. 2015. Efficacy of entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae* against the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) in laboratory condition. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 48(5): 393–399.