Iranian Journal of Plant Protection Science
Vol 53, No 1, Spring and Summer 2022 (71-84)
DOI: 10.22059/IJPPS.2022.332742.1006982

دانش گیاهپزشکی ایران
دورهٔ ۵۳، شمارهٔ ۱، بهار و تابستان ۱۴۰۱ (ص۸۴-۷۱) مقاله پژوهشی

بیمارگری قارچ *Beauveria bassiana* IRAN 441C روی تریپس پیاز و سازگاری آن با حشره‌کش-های فلونیکامید و تیوسیکلام در شرایط آزمایشگاه

سانا لطفی[۱]، علی میرشکار[*۲]، عباس خانی[۳]، مهدی پیرنیا[۴]

۱، ۲، ۳و۴، به ترتیب، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استادیار و دانشیاران گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۸/۰۱- تاریخ پذیرش:۱۴۰۱/۰۱/۲۰)

چکیده

تریپس پیاز یکی از آفات مهم مزارع پیاز در سراسر جهان است که باعث کاهش میزان تولید گیاهان می‌شود. اعمال روش‌های کنترل جایگزین و کاهش غلظت سموم شیمیایی به همراه عوامل بیولوژیک به منظور جلوگیری از آلودگی محیط‌زیست و مقاومت حشرات ضروری است. بر همین اساس، ارزیابی سمیت حشره‌کش‌های فلونیکامید و تیوسیکلام، بیماری‌زایی قارچ *Beauveria bassiana* و کارایی اختلاط قارچ با حشره‌کش‌ها روی پوره سن دوم تریپس پیاز و فاکتورهای زیستی قارچ بیمارگر اهداف این تحقیق بودند. این مطالعه به صورت طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار و در شرایط آزمایشگاه انجام شد. حشرات گروه شاهد با آب مقطر تیمار شدند. نتایج نشان داد که مقادیر LC_{50} برای فلونیکامید، تیوسیکلام و قارچ *B.bassiana* به‌ترتیب ۲/۳ میلی‌گرم در لیتر، ۴/۳ میلی‌گرم در لیتر و $۵/۴\times۱۰^{۷}$ کنیدی در میلی‌لیتر بود. با افزایش غلظت حشره‌کش‌ها و قارچ بیمارگر و نیز با افزایش زمان کاربرد آن‌ها، میزان تلفات تریپس پیاز افزایش یافت. فلونیکامید هیچ تأثیری روی جوانه‌زنی و رشد میسلیومی قارچ بیمارگر نداشت و به‌عنوان حشره‌کش سازگار انتخاب شد. نتایج اختلاط قارچ بیمارگر با حشره‌کش‌های مورد مطالعه نشان داد که بیمارگر مورد مطالعه در غلظت ۶×۱۰^{۷} کنیدی در میلی‌لیتر به‌همراه فلونیکامید در غلظت ۱/۲ میلی‌گرم در لیتر، بهترین ترکیب برای مقابله با تریپس پیاز است. بنابراین، می‌توان مخلوط فوق را به‌عنوان یک روش جایگزین برای حشره‌کش‌های شیمیایی پس از مطالعات مزرعه‌ای در برنامه‌های مدیریت تلفیقی تریپس پیاز توصیه کرد.

واژه‌های کلیدی: حشره‌کش، کنیدی، قارچ بیمارگر، کنترل بیولوژیک، میسلیوم.

Effects of the grapefruit wastes and sesame oil cake to control Genetic diversity and pathogenicity of *Mauginiella scaettae* the causal agent of date palmEvaluating the pathogenicity of *Beauveria bassiana* IRAN 441C on onion thrips and its compatibility with Flonicamid and Thiocyclam insecticides in laboratory conditions

Sana Lotfi[1], Ali M**irshekar[2*], Abbas Khani[3], Mehdi Pirnia[4]**
1, 2, 3 and4, Former MSc student, Assistant Professor and Associate Professorse of Plant Protection, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.
(Received: October ,2021, 23 - Accepted: April 2022, 09)

ABSTRACT

Onion thrips is one of the most important pests of onion fields around the world, which reduces plant production. It is necessary to apply alternative strategies and reduce the concentration of chemical insecticides along with biological agents in order to prevent environmental pollution and insect resistance. Therefore, the objectives of this study were to evaluate the toxicity of Flonicamid and Thiocyclam, the virulence of entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*, and the efficiency of mixing fungus with insecticides on the 2nd instars of onion thrips and the biological factors of the pathogenic fungus. This study was performed as a completely randomized design with four replications under laboratory conditions. Insects in the control group were treated with distilled water. The results showed that LC_{50} values for Flonicamid, Thiocyclam and *B. bassiana* were 2.3 mgL^{-1}, 4.3 mgL^{-1}, and 5.4×10^{7} spores mL^{-1}, respectively. With increasing the concentration of insecticides and pathogenic fungus and also with increasing their application time, the mortality rate of onion thrips increased. Flonicamid had no effect on the germination and mycelium growth of the pathogenic fungus and was selected as a compatible insecticide. The results of mixing the pathogenic fungus with the studied insecticides showed that the studied pathogen at the concentration of 6×10^{7} spore mL^{-1} along with Flonicamid at the concentration of 1.2 mgL^{-1} is the best combination to deal with onion thrips. Therefore, the above mixture can be recommended as an alternative for chemical insecticides after field studies in integrated management programs of onion thrips.

Keywords: Biological control, Insecticide, Mycelium, Entomopathogenic fungus, Conidia.

* Corresponding author E-mail: mirshekar@uoz.ac.ir

مقدمه

تریپس پیاز *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae)، یک آفت چندخوار مهم در محصولات زراعی، سبزیجات و گیاهان زینتی است که لارو و حشره بالغ آن با تغذیه از برگ‌های سبز و کاهش میزان فتوسنتز، خسارات زیادی در سراسر جهان به گیاهانی مثل تره‌فرنگی و پیاز وارد می‌کنند (Kachot *et al*., 2021). این آفت باعث کاهش بازارپسندی پیاز شده و ناقل ویروس‌های گیاهی مثل ویروس لکه زرد نیز می‌باشد (Gulzar *et al*., 2021). استفاده از سموم شیمیایی اصلی‌ترین روش مبارزه با تریپس پیاز است. از این‌رو، نیاز به راهکارهای غیرشیمیایی برای مدیریت آن به‌منظور کاهش خطر ایجاد مقاومت، بسیار مهم می‌باشد (Gulzar *et al*., 2021; Iglesias *et al*., 2021). کاربرد حشره‌کش‌ها به‌دلیل اثرات فوری در کنترل آفات به‌ویژه تریپس پیاز روشی رایج در تولید محصولات کشاورزی است (Iglesias *et al*., 2021). با این‌حال، چشم‌انداز امیدوارکننده‌ای که برای حفاظت گیاهان و سلامت عمومی جامعه در نتیجه معرفی حشره‌کش‌ها پیش‌بینی شده بود، اکنون به‌دلیل افزایش نگران‌کننده مقاومت حشرات، آلودگی‌های زیست محیط و اثرات مضر بر موجودات غیرهدف، به مسئله‌ای جدی تبدیل شده است (Dannon *et al*., 2020). در مواجهه با این چالش، استفاده از برنامه‌های مدیریت تلفیقی برای محافظت گیاهان در برابر آفات گزینه‌ای جذاب و سازگار با محیط‌زیست است. در این راستا، استفاده از دشمنان طبیعی حشرات یک راهکار جایگزین مفید است (Dannon *et al*., 2020; Gulzar *et al*., 2021). قارچ‌های بیمارگر حشرات عوامل بیولوژیکی هستند که می‌توانند در کنترل آفات مورد استفاده قرار گیرند (Sain *et al*., 2019; Dannon *et al*., 2020). قارچ بیمارگر *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Cordycipitaceae: Hypocreales) یکی از مؤثرترین این عوامل است که جدایه‌های متنوع آن برای حمله به حشرات مختلفی شناسایی شده‌اند. کاربرد آن‌ها در مقایسه با حشره‌کش‌های شیمیایی به‌عنوان یک روش محافظ محیط‌زیست که برای سلامتی انسان بی‌ضرر بوده و باعث کاهش مصرف حشره‌کش‌ها و مقاومت حشرات می‌شود، در نظر گرفته شده است (Dannon *et al*., 2020). مطالعات نشان داده‌اند که قارچ *B. bassiana* عاملی امیدوارکننده برای استفاده به‌عنوان حشره‌کش زیستی در کنترل حشرات مختلف به‌ویژه بال‌پولک‌داران، نیم‌بالان، جوربالان و سخت‌بالپوشان است (Dannon *et al*., 2020). برای مثال، قارچ *B. bassiana* علیه تریپس پیاز بسیار مؤثر بود و باعث تلفات ۹۰ درصدی تریپس روی گیاه پیاز شد (Gulzar *et al*., 2021). جهت کنترل حشرات از حشره‌کش‌های گوناگونی استفاده می‌شود که می‌توانند موجودات غیرهدف را نیز از بین ببرند؛ با این‌حال، احتمال تعامل بین قارچ‌های بیمارگر و حشره‌کش‌ها زیاد است (Kachot *et al*., 2021). اثرات مهارکنندگی حشره‌کش‌ها بر جوانه‌زنی و رشد میسلیوم قارچ‌های بیمارگر اغلب بین گونه‌ها و جدایه¬های مختلف قارچ‌های بیمارگر حشرات متفاوت می‌باشد؛ در مقابل، کاربرد حشره‌کش‌های ناسازگار ممکن است رشد و تکثیر عوامل بیماری‌زا را مهار کرده و بر مدیریت تلفیقی آفات تأثیر منفی داشته باشد (Sain *et al*., 2019). ترکیب سازگار حشره‌کش‌ها و قارچ‌های بیمارگر برای افزایش کارایی کنترل ممکن است به‌صورت هم‌افزایی عمل نموده و باعث مصرف غلظت‌های کم‌تر سموم و حفظ دشمنان طبیعی شود. این امر در حالی است که این موضوع می‌تواند آلودگی زیست محیطی و ایجاد مقاومت در حشرات را کاهش دهد (Sain *et al*., 2019; Kachot *et al*., 2021). لذا، به‌منظور توسعه برنامه‌های مدیریتی آفات می‌توان ژنوتیپ‌های قارچی سازگار با حشره‌کش‌های خاص را شناسایی نموده و مورد استفاده قرار داد (Sain *et al*., 2019).

در تحقیقی مشخص شد که کاربرد حشره‌کش‌های تیوسیکلام و آسفات به طور قابل توجهی تریپس پیاز را در محصول پیاز کنترل کرد (Aguilar Carpio *et al*., 2017). در مطالعه حشره‌کش‌های فلونیکامید، اسپینتورام و تلفن‌پیراد برای کنترل تریپس غربی گل (*Frankliniella occidentalis* Pergande) مشخص

شد که فلونیکامید مؤثرترین حشره‌کش در کاهش جمعیت تریپس بود (Bilbo *et al*., 2020). کاربرد حشره‌کش‌های فلونیکامید و اسپینوساد به صورت محلول‌پاشی بر گیاه ماش که میزبان انواع تریپس مثل تریپس پیاز و تریپس فلفل (*Scirtothrips dorsalis*) می‌باشد، توانست کنترل رضایت‌بخش تریپس را به‌دنبال داشته باشد (Kansagara *et al*., 2018). هم‌چنین، گزارش شده است که استفاده از حشره‌کش فلونیکامید منجر به ایجاد تلفات ۴۰ تا ۹۱ درصدی تریپس غربی گل می‌شود (Radosevich *et al*., 2020). محققان با بررسی تأثیر دو قارچ بیمارگر *B. bassiana* و *Metarhizium anisopliae* بر جمعیت تریپس پیاز در ارقام مختلف گیاه پیاز به این نتیجه رسیدند که قارچ *B. bassiana* می‌تواند به طور قابل توجهی جمعیت تریپس را کاهش داده و مدیریت پایدارتری را برای تریپس پیاز ارائه دهد. هم‌چنین، آن‌ها بیان کردند که قارچ بیمارگر *B. bassiana* اثر سمی بالایی را در برابر تولید نتاج تریپس پیاز در شرایط مزرعه نسبت به قارچ بیمارگر *M. anisopliae* داشت (Ain *et al*., 2021). استفاده از قارچ بیمارگر *B. bassiana* به طور قابل توجهی تریپس پیاز را در شرایط آزمایشگاه کنترل کرد (Gulzar *et al*., 2021). مشخص شده است که آلودگی تریپس غربی گل توسط جدایه BbYT12 قارچ بیمارگر *B. bassiana* با استفاده از غلظت 10^8 کنیدی بر میلی‌لیتر، منجر به ۸۱/۴۸ درصد مرگ و میر در حشرات بالغ شده است (Zhang *et al*., 2021). زیست‌سنجی چند جدایه قارچ *B. bassiana* در شرایط آزمایشگاه نشان داد که دو جدایه JEF-350 و JEF-341 تأثیر زیادی بر کنترل جمعیت تریپس خربزه داشتند (Li *et al*., 2021). گزارش شده است که کاربرد نصف دوز فلونیکامید رشد جدایه‌های Bb-409، Bb-4543، Ij-102 و Bb-4565 قارچ بیمارگر *B. bassiana* را در مقایسه با تیمار شاهد افزایش می‌دهد (Sain *et al*., 2019). اثرات افزایشی حشره‌کش فلونیکامید با قارچ بیمارگر *B. bassiana* در کنترل حشرات و سازگاری آن‌ها با یکدیگر در برخی مطالعات گزارش شده است (Sain *et al*., 2019; Hiremath *et al*., 2020; Wari *et al*., 2020). با توجه به خسارت زیاد تریپس پیاز در ایران و کاهش میزان تولید پیاز در کشور، مقاومت تریپس به حشره‌کش‌های مورد استفاده و ضرورت کاربرد روش‌های تلفیقی برای کنترل این آفت مهم، پژوهش حاضر به بررسی بیماری‌زایی قارچ *B. bassiana* روی تریپس پیاز در شرایط آزمایشگاه، تعیین احتمال سازگاری حشره‌کش‌ها و قارچ *B. bassiana* و بررسی میزان کارایی این بیمارگر در کاربرد هم‌زمان با سموم پرداخته است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و پرورش تریپس پیاز

تریپس پیاز از بوته‌های خیار آلوده در مزارع اطراف شهرستان زابل جمع‌آوری شده و جهت بررسی به آزمایشگاه حشره‌شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل منتقل شد. برای پرورش تریپس پیاز، ابتدا دمبرگ دو برگ اولیه گیاه لوبیای معمولی به‌عنوان میزبان (سه هفته بعد کاشت) داخل ظروف پلاستیکی حاوی ۲۰ میلی‌لیتر آب قرار داده شد. تریپس‌های بالغ ۲۴ ساعت روی برگ‌ها قرار گرفتند. یک روز در میان ظرف‌ها پر از آب شدند. ظروف پرورش در انکوباتور با دمای ۱±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۰ درصد، ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار داده شدند.

کشت *B.bassiana* روی محیط کشت و تهیه مایه تلقیح

جدایه‌ی *B. bassiana* IRAN 441C که از شفیره ی سرخرطومی حنایی خرما در سراوان (بلوچستان) جدا شده است از کلکسیون بخش تحقیقات حشره‌شناسی کشاورزی مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور تهیه شد. برای کشت این جدایه، پس از آلوده کردن لارو شب‌پره موم‌خوار بزرگ (*Galleria mellonella*) به قارچ، از کنیدی‌هایی که در سطح لاشه لارو ظاهر شدند، برای کشت در محیط کشت سابورد دکستروز آگار همراه با ۱ درصد عصاره مخمر (SDA+Y) استفاده شد. پس از گذشت ۱۰ تا ۱۴ روز، سطح محیط کشت توسط تیغ آزمایشگاهی استریل خراش

داده شده و در شیشه‌هایی با درب فلزی ریخته شد. سوسپانسیون حاصل از دولایه پارچه ململ عبور داده شد تا قطعات میسلیوم از آن جدا گردد. برای جدا شدن کنیدی‌ها از یکدیگر و عدم تشکیل زنجیر یا توده در هنگام شمارش آن‌ها، سوسپانسیون را درون لوله حاوی مهره‌های شیشه‌ای ریخته و برای چند دقیقه به شدت تکان داده شد. مقداری توئین ۸۰ (به غلظت ۰/۰۵ درصد) به ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون کنیدی افزوده شد. غلظت سوسپانسیون با شمارش کنیدی‌ها توسط لام گلبول‌شمار تعیین شد. برای تهیه سایر غلظت‌های مورد نیاز از رابطه زیر استفاده گردید:

$$C1.V1 = C2.V2$$

در رابطه فوق C1 و V1 به‌ترتیب برابر با غلظت مورد نیاز و حجم مورد نیاز می‌باشند و C2 و V2 به‌ترتیب برابر با غلظت محاسبه شده و حجم مورد نیاز از غلظت محاسبه شده هستند.

از محلول پایه‌ای که میزان زنده‌مانی کنیدی‌های آن به وسیله آزمایش قابلیت‌زیست تعیین شده بود، در آزمایش‌ها استفاده گردید. به عبارت دیگر، پس از گذشت یک روز می‌توان با مشاهده علایم تندش (ایجاد لوله تندش) در زیر میکروسکوپ نوری این شاخص را تعیین کرد (تندش بیش از ۸۵ درصد کنیدی‌ها). بدین منظور، ابتدا روز قبل از انجام آزمایش، مقدار ۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون با غلظت 10^7 کنیدی بر میلی‌لیتر، از سوسپانسیون مورد نظر در شرایط سترون درون محلول ۰/۰۵ درصد توئین ۸۰ به‌حالت تعلیق درآمد و توسط ورتکس به خوبی مخلوط شد. سپس، کنیدی‌ها روی محیط SDA+Y کشت شده و ظروف پتری در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت، درصد جوانه‌زنی کنیدی‌ها با شمارش ۱۰۰ عدد کنیدی از هر محیط کشت در زیر میکروسکوپ نوری (40 x) مورد ارزیابی قرار گرفت. کنیدی‌هایی که طول لوله تندش آن‌ها از قطرشان بیش‌تر بود، به عنوان کنیدی‌های جوانه زده شمارش شدند. درصد جوانه‌زنی کنیدی‌ها به صورت زیر محاسبه شد (۸۵ درصد) و پس از اصلاح غلظت‌ها در روز بعد درآزمایش‌ها استفاده شد. سوسپانسیون فوق تا زمان انجام آزمایش، در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد.

۱۰۰ × (تعداد کنیدی‌های شمارش شده / تعداد کنیدی‌های جوانه‌زده) = درصد جوانه‌زنی کنیدی‌ها

سموم حشره‌کش و تهیه غلظت‌های آن‌ها

حشره‌کش‌های فلونیکامید با نام تجاری تپکی® (WG 50%) تولید شده توسط شرکت ISK (Ishihara Sangyo Kaisha, Japan) و تیوسیکلام با نام تجاری اویسکت® (SP 50%) محصول شرکت Arysta life Science (ژاپن) برای انجام پژوهش حاضر انتخاب و غلظت ۲۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از هر یک از حشره‌کش‌ها (غلظت توصیه شده حشره‌کش‌ها)، به عنوان غلظت پایه آماده شد. ابتدا یکسری آزمایش‌های مقدماتی، به منظور به دست آوردن غلظت‌های کمینه و بیشینه هر کدام از حشره‌کش‌ها روی تریپس گندم، به روش رقیق‌سازی مکرر انجام شد. سپس، بر اساس نتایج به دست آمده، غلظتی که بیش‌تر از ۲۵ درصد تلفات ایجاد کرد، به عنوان پایین‌ترین غلظت و غلظتی که حدود ۷۵ درصد تلفات ایجاد کرد به عنوان بالاترین غلظت مؤثر به همراه چهار غلظت بین این دو غلظت منظور گردید و آزمایش‌های نهایی با شش غلظت (۰/۰۵، ۰/۵، ۵، ۱۰، ۱۰۰، ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر)، بر مبنای میزان ماده‌ی مؤثره برای هر کدام از حشره‌کش‌ها، به همراه تیمار شاهد انجام گرفت.

ارزیابی اثر قارچ بیمارگر *B. bassiana* و سموم حشره‌کش روی تریپس پیاز

برای زیست‌سنجی تریپس، پنج غلظت جدایه قارچ و نیز یک شاهد در نظر گرفته شد و از تشتک‌های پتری پلاستیکی به قطر ۶ سانتی‌متر با لایه نازک آگار ۱/۵ درصد استفاده شد. ابتدا در آزمایش‌های مقدماتی، بیشینه و کمینه‌ی غلظت کشندگی (۷۵ و ۲۵ درصد) قارچ جهت تعیین LC_{50}، تعیین شد. در ادامه، سه غلظت در محدوده بیشینه و کمینه‌ی غلظت کشندگی انتخاب شدند و در نهایت آزمایش‌های نهایی با غلظت-

های 10^3، 10^4، 10^5، 10^6 و 10^7 کنیدی بر میلی‌لیتر انجام شد. دیسک‌های برگ خیار ۵ ثانیه در غلظت‌های آزمایشی غوطه‌ور شدند. پس از خشک شدن دیسک-های برگ خیار در مجاورت هوا، تعداد ۱۰ عدد پوره سن دوم تریپس توسط آسپیراتور از کلنی موجود در شرایط آزمایشگاهی جدا شده و به تشتک‌های پتری حاوی دیسک برگی آغشته به محلول کنیدی منتقل شدند. اطراف دهانه تشتک‌ها با نوار پارافیلم مسدود شد و در انکوباتور با دمای ۱±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت ۵±۶۰ درصد، ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند. تشتک‌ها روزانه در دوره‌ی ۷ روزه مورد بازدید قرار گرفتند و پوره‌های مرده (در مرگ و میر ناشی از بیماری، پوره‌ها حرکتی ندارند) از سایر پوره‌ها جدا شدند و به مدت یک هفته روی کاغذ صافی سترون و مرطوب درون تشتک پتری ۶ سانتی-متری در انکوباتور به روش ذکر شده نگهداری شدند. با مشاهده متلاشی شدن و تشکیل پوشش میسلیومی در سطح پوره توسط استریومیکروسکوپ، مرگ آنها ناشی از آلودگی به قارچ تلقی شد. در تیمار شاهد به جای سوسپانسیون قارچی، از آب مقطر سترون حاوی توئین ۸۰ با غلظت ۰/۰۵ درصد استفاده شد (Martin *et al.*, 2003).

تأثیر حشره‌کش‌ها بر رشد میسلیومی و جوانه-زنی کنیدی‌های بیماری‌زای قارچ *B. bassiana*

ابتدا *B. bassiana* در چند تشتک پتری حاوی محیط کشت SDAY کشت شد. فلاسک‌های محیط کشت SDAY پس از اتوکلاو، در شرایط اتاق قرار گرفته تا دمای آن‌ها به ۵±۴۵ درجه سلسیوس برسد. به روش اختلاط حشره‌کش‌ها با محیط کشت، غلظت‌های نصف میانگین (0.5 MC)، میانگین (MC) و دو برابر میانگین (2 MC) حشره‌کش‌ها به این فلاسک‌ها اضافه شد. غلظت میانگین از میانگین ریاضی غلظت‌های توصیه‌شده حشره‌کش‌ها به دست آمد. سپس در شرایط سترون، ۲۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون حاصل (فاز مایع محیط کشت با حشره‌کش‌ها) به هر تشتک پتری اضافه و پس از انعقاد، آزمایش تعیین درصد کنیدی‌های تندش یافته انجام شد. به طوریکه ابتدا از حاشیه در حال رشد یک پرگنه هفت روزه قارچ که در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شده بود، یک حلقه ۵ میلی‌متری با ارتفاع ۳ میلی‌متر از محیط کشت به‌همراه قارچ برداشته و به‌صورت وارونه در مرکز محیط کشت به‌تنهایی (شاهد) و محیط کشت با حشره‌کش‌ها گذاشته شد. ظروف پتری در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس، ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار داده شدند. خط رشد آن‌ها بعد از سه روز توسط خط‌کش از چهار نقطه از حلقه قارچی و به‌مدت ۱۵ روز اندازه‌گیری شد. از میانگین حاصل برای انجام محاسبات آماری استفاده گردید (Irigaray *et al.*, 2003). هر یک از تیمارها چهار تکرار داشتند.

روش اختلاط حشره‌کش‌ها با محیط کشت برای تعیین درصد جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها استفاده شد. شاهد، محیط کشت بدون حشره‌کش بود. برای شمارش کنیدی، دایره‌ای با قطر ۱۰ میلی‌متر از تشتک پتری بریده و داخل شیشه کوچک ریخته شد. سپس، ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون حاوی توئین ۸۰ (به غلظت ۰/۰۵ درصد) به آن اضافه گردید و برای جداسازی زنجیره کنیدیی ۵ دقیقه ورتکس شد. غلظت سوسپانسیون توسط لام نئوبار تعیین گردید. پس از ۲۴ ساعت، در زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی ۴۰ برابر، تعداد ۵۰ تا ۱۰۰ کنیدیوم شمارش شد. کنیدیوم‌هایی که طول لوله تندش آن‌ها از نصف طول کنیدیوم بیش‌تر بود، جوانه‌زده محسوب شدند (Irigaray *et al.*, 2003).

برای محاسبه درصد مهار رشد رویشی میسلیوم قارچ در تیمارهای مختلف، از فرمول زیر استفاده شد که در آن I درصد بازدارندگی از رشد رویشی، C رشد رویشی کلنی در شاهد به سانتی‌متر و T رشد رویشی کلنی در تیمارها به سانتی‌متر می‌باشد (Vincent, 1947):

$$I = [(C-T) / C] \times 100$$

درصد کنیدی‌های جوانه نزده در مقایسه با شاهد پس از ۲۴ ساعت و با استفاده از فرمول زیر محاسبه

گردید که در این رابطه، T مقدار تصحیح شده رشد رویشی و زایشی قارچ است و VG و SP به ترتیب برابر با درصد رشد رویشی و درصد کنیدیزایی در مقایسه با شاهد می‌باشند (Irigaray *et al*., 2003).

$$T = (20\ (VG) + 80\ (SP)) / 100$$

ارزیابی کاربرد توأم حشره‌کش‌ها و قارچ *B.bassiana* بر میزان مرگ و میر تریپس پیاز

این آزمایش، بر اساس آزمون ارزیابی سازگاری حشره-کش‌ها با قارچ *B. bassiana*، صورت گرفت. بر این اساس، حشره‌کش سازگار با قارچ *B. bassiana*، انتخاب گردید و آزمایش‌های زیست‌سنجی مخلوط جدایه قارچ با حشره‌کش، انجام شد. برای انجام این آزمایش، یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون حاصل از سه غلظت از قارچ *B. bassiana* کـه شـامل LC_{50} و دو غلظت کمتر از LC_{50} بود، با غلظت LC_{15} حشره‌کش در نظر گرفته شد. بدین منظور، سوسپانسیون حاصل از سه غلظت کنیدی قارچ *B. bassiana* (LC_{50} و دو غلظت کم‌تر از LC_{50} با مقدار $۱۰^{۷} \times ۵/۵$ و $۱۰^{۷} \times ۶$ کنیدی در میلی‌لیتر) با مقدار LC_{15} حشره‌کش در لوله آزمایش مخلـوط شد. تیمار شاهد توین ۸۰ با غلظت ۰/۰۵ درصد و بدون اضافه نمودن کنیدی قارچ بود. در این بررسی نیز از روش غوطه‌ورسازی برگ استفاده شد. برای هر تیمار ۱۰ پوره سن دوم تریپس استفاده شد. تلفات آن‌ها روزانه و به مدت ۱۰ روز ثبت و درصد تلفات تجمعی محاسبه شد (Trisyono and Whalon, 1999). در صورت مشاهده تلفات در تیمار شاهد، میزان تلفات مشاهده شده با استفاده از فرمول ابوت اصلاح گردید (Abbott, 1925).

تجزیه و تحلیل داده‌ها

مقادیر غلظت‌های کشنده و زیرکشنده با تجزیه پروبیت در نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ محاسبه شدند. تجزیه و تحلیل آماری توسط آنالیز واریانس یک طرفه و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام گردید. قبل از تجزیه داده‌ها، نرمال بودن آن‌ها توسط آزمون کولموگروف-اسمیرنوف ($P < 0.05$) مورد بررسی قرار گرفت. نمودارها توسط نرم افزار Excel 2010 ترسیم شدند.

نتایج

ارزیابی اثر حشره‌کش‌ها و قارچ بیمارگر *B.bassiana* بر تریپس پیاز

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، حشره‌کش‌های فلونیکامید و تیوسیکلام بر تلفات پوره سن دوم تریپس در مدت ۲۴ تا ۷۲ ساعت تأثیر معنی‌داری ($P<۰/۰۱$) داشتند. هم‌چنین، بین غلظت‌های مختلف قارچ بیمارگر برای مقابله با این آفت اختلاف معنی‌داری ($P<۰/۰۱$) وجود داشت و میزان تلفات ثبت شده در غلظت‌های مختلف، متفاوت بود. بیش‌ترین تلفات تریپس در غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر فلونیکامید بود و افزایش بیش‌تر از آن تأثیری در میزان تلفات نداشت (شکل 1a). بیش‌ترین تلفات تریپس در غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر تیوسیکلام بود و با افزایش غلظت، میزان تلفات افزایش یافت. حداکثر کشندگی در ۲۴ ساعت بعد مصرف تیوسیکلام بود (شکل 1b). طبق نتایج پروبیت، مقدار LC_{50} برای فلونیکامید و تیوسیکلام به‌ترتیب ۲/۳ و ۴/۳ میلی‌گرم در لیتر بود (جدول ۱). میزان LC_{50} برای قارچ بیمارگر $۵/۴ \times ۱۰^{۷}$ کنیدی بر میلی‌لیتر بود که ۵۰ درصد تلفات در آفت ایجاد کرد (جدول ۱). با توجه به اینکه زمان زیست-سنجی هفت شبانه روز بود، حداقل میزان تلفات تریپس پس از ۴۸ ساعت با غلظت ۳×۱۰^{۷} کنیدی در میلی‌لیتر قارچ بود و بیش‌ترین تلفات (۷۷ درصد) در زمان ۱۴۴ ساعت در غلظت ۶×۱۰^{۷} کنیدی در میلی-لیتر حاصل شد (جدول ۲).

اثرات حشره‌کش‌ها بر قارچ بیمارگر

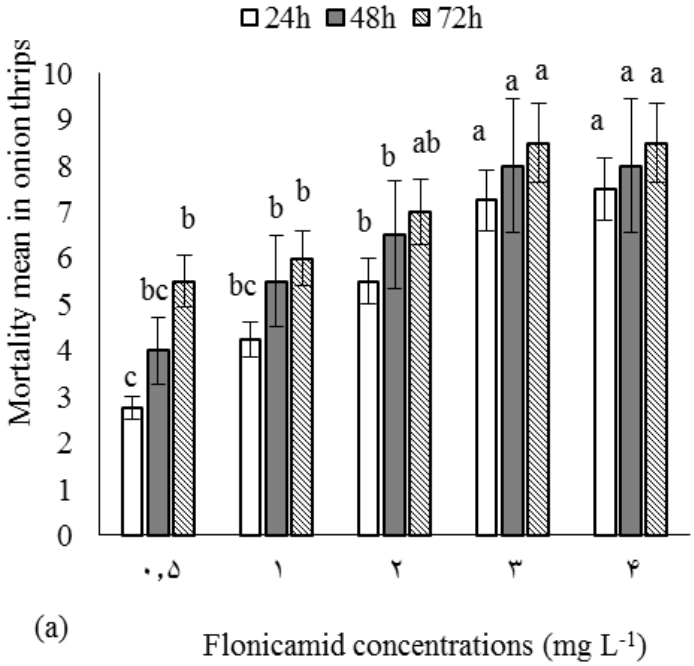
نتایج کاربرد سه غلظت (میانگین، نصف میانگین و دو برابر میانگین توصیه شده) فلونیکامید بر فاکتورهای زیستی قارچ بیمارگر (جوانه‌زنی، رشد میسیلیوم و تعداد کنیدی) نشان داد که اثر منفی و نقش کشندگی

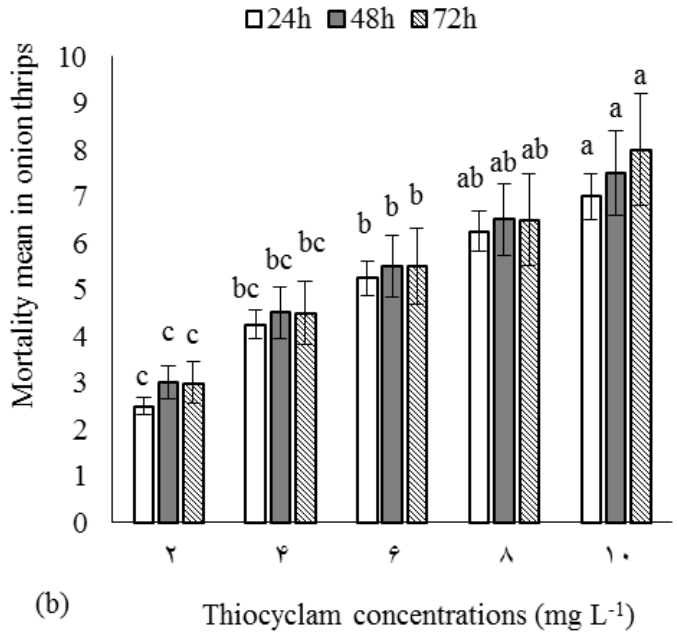
فلونیکامید بر جوانه‌زنی و رشد میسیلیوم کم بود و بین غلظت‌های آن اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد مشاهده نشد؛ درحالی‌که تعداد کنیدی با مصرف فلونیکامید بیش از ۵۰ درصد کاهش یافت و بین غلظت‌های مختلف مورد مطالعه این حشره‌کش نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید (جدول ۳). کم‌ترین میزان جوانه‌زنی، رشد میسیلیوم و تعداد کنیدی مربوط به تیمار دو برابر LC_{50} فلونیکامید بود (جدول ۳). نتایج کاربرد سه غلظت تیوسیکلام نشان داد که بازدارندگی رشد میسیلیوم قارچ در حشره‌کش تیوسیکلام نسبت به فلونیکامید بالا بود به‌طوری که حداقل غلظت تیوسیکلام باعث کاهش جوانه‌زنی (۳۵/۴ درصد)، رشد میسیلیوم (۳۲ درصد) و تولید کنیدی (۶۵ درصد) شد. با افزایش غلظت تیوسیکلام، میزان بازدارندگی با شیب فزاینده‌ای افزایش یافت و کم‌ترین جوانه‌زنی، رشد میسیلیوم و تولید کنیدی مربوط به غلظت دو برابر میانگین تیوسیکلام بود (جدول ۳). میزان کاهش فاکتورهای زیستی در غلظت‌های تیوسیکلام نسبت به هم دارای اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد بود که بیانگر این است که در تعیین غلظت مناسب تیوسیکلام برای کاربرد توأم باید دقت بیش‌تری کرد.

جدول ۱. تجزیه پروبیت داده‌های زیست‌سنجی برای پاسخ غلظت-تلفات در پوره سن دوم تریپس پیاز به حشره‌کش‌های فلونیکامید و تیوسیکلام و قارچ بیمارگر *Beauveria bassiana*.

Table 1. Probit analysis and LC_{50} values of Flunicamide and Thiocyclam and *Beauveria bassiana* on 2nd instar of *Thrips tabaci*.

Treatments	Number of insects	LC_{50} (mg L^{-1}) (spore mL^{-1})	χ^2 df = 1	*P*	Slope±SE	y-intercept
Flonicamid	280	2.3	2.79	0.99	0.17±0.06	0.04
Thiocyclam	280	4.3	3.87	0.99	0.24±0.02	0.01
Beauveria bassiana	240	5.4×10^{7}	1.30	0.99	0.46±0.35	-2.59





شکل ۱. میزان تلفات پوره سن دوم تریپس پیاز تحت تأثیر غلظت‌های مختلف حشره‌کش‌های فلونیکامید (a) و تیوسیکلام (b). میانگین‌های با حروف غیرمشابه طبق آزمون دانکن در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند.

Figure 1. Mean comparison of mortality rate of 2nd instar of *Thrips tabaci* affected by the different concentrations of Flonicamid (a) and Thiocyclam (b). Means with dissimilar letters are significantly different (Duncan, $P<0.05$).

جدول ۲. میانگین درصد تلفات در پوره سن دوم تریپس پیاز تحت تأثیر قارچ *Beauveria bassiana*.

Table 2. Mean mortality rate in the 2nd instar of onion thrips affected by *Beauveria bassiana*.

Concentrations (spore mL^{-1}) / Time	2 (48 h)	4 (96 h)	7 (144 h)
3×10^7	20.5^c	28^b	35^b
4×10^7	30^b	35^b	37^b
5×10^7	32^b	36^b	38^b
6×10^7	64^a	75^a	77^a
7×10^7	65^a	74^a	76^a

در هر ردیف، اعداد با حروف غیرمشابه طبق آزمون دانکن در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند.

In each row, means with dissimilar letters are significantly different (Duncan, $P<0.05$).

ارزیابی اثرات توأم حشره‌کش و قارچ بیمارگر بر تریپس پیاز

این ارزیابی در چهار بازه زمانی ۴۸، ۹۶، ۱۴۴ و ۲۴۰ ساعت انجام شد. طبق نتایج تجزیه واریانس، میزان تلفات تریپس در تمامی تیمارها در بازه‌های زمانی مختلف در سطح یک درصد معنی‌دار بود و مشخص شد که غلظت‌های انتخابی کارایی بالایی برای مدیریت تلفیقی تریپس دارند. بیش‌ترین تلفات تریپس در تیمار تلفیقی $۵/۵\times۱۰^۷$ کنیدی در میلی‌لیتر *B.bassiana* + غلظت LC_{15} تیوسیکلام بود و کم‌ترین مقدار مربوط به کاربرد توأم $۵/۵\times۱۰^۷$ کنیدی در میلی‌لیتر قارچ + غلظت LC_{15} فلونیکامید بود (شکل ۲). در تیمارهای مختلف با افزایش زمان از ۴۸ به ۲۴۰ ساعت، میزان تلفات تریپس افزایش یافت. در همه تیمارها، میزان تلفات در بازه‌های زمانی ۹۶، ۱۴۴ و ۲۴۰ ساعت نسبت به ۴۸ ساعت در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود (شکل ۲).

جدول ۳. تأثیر حشره‌کش‌های فلونیکامید و تیوسیکلام بر فاکتورهای زیستی قارچ بیمارگر *Beauveria bassiana*

Table 3. The effect of Flonicamid and Thiocyclam on the biological factors of *Beauveria bassiana*

	Concentrations	Germination rate (%)	Germination reduction (%)	Mycelium rate (mm)	Mycelium reduction (%)	Number of conidia*	Spore reduction (%)
Flonicamid	0.5MC	75	20.1a	41	24.1c	1.5	53.1c
	0.5MC	76	20.0a	40	25.9c	1.4	56.3cb
	0.5MC	79	20.8a	40	25.9c	1.3	59.4b
	0.5MC	77	21.9a	42	22.2c	1.6	50.0c
	1MC	69	27.4a	38	29.6c	1.2	62.5ab
	1MC	70	26.3a	38	29.6c	1.1	65.6a
	1MC	69	27.4a	36	33.3b	1	68.8a
	1MC	68	25.4a	39	27.8c	1.2	62.5ab
	2MC	68	28.4a	35	35.2ab	1	68.8a
	2MC	66	26.9a	34	37.0a	1	68.8a
	2MC	69	27.4a	30	44.4a	1.1	65.6a
	2MC	69	27.2a	32	40.7a	0.9	71.9a
Thiocyclam	0.5MC	61	35.8c	32	40.7c	1	68.8b
	0.5MC	60	36.8c	33	38.9c	1.1	65.6bc
	0.5MC	58	38.9c	35	35.2c	1	68.8b
	0.5MC	60	36.8c	34	37.0c	1.2	62.5c
	1MC	48	49.5b	28	48.1cb	1	68.8b
	1MC	45	52.6a	29	46.3c	0.7	78.1a
	1MC	47	50.5ab	26	51.9b	0.8	75.0ab
	1MC	49	48.4b	25	53.7ab	0.9	71.9b
	2MC	42	55.8a	26	51.9b	0.7	78.1a
	2MC	40	57.9a	24	55.6ab	0.7	78.1a
	2MC	43	54.7a	23	57.4a	0.6	81.3a
	2MC	44	53.7a	20	63.0a	0.7	78.1a
Control		95	0.0	54	0.0	3.2	0.0
	SEM	27	3.92	11.3	3.24	1.41	3.74

* تعداد × $۱۰^{۷}$ کنیدی بر میلی‌لیتر

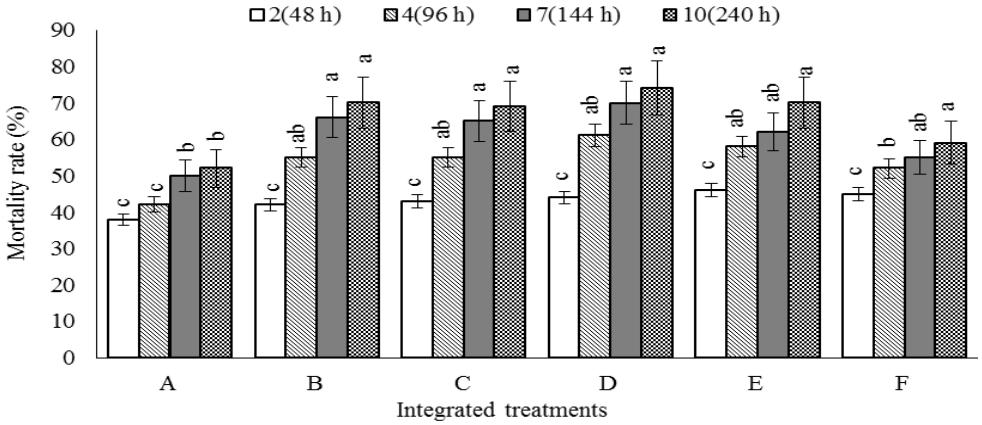
در هر ستون، میانگین‌های با حروف غیرمشابه طبق آزمون دانکن در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند.

* Number × 10^{7} conidia ml^{-1}

In each column, means with dissimilar letters are significantly different (Duncan, $P<0.05$).

با توجه به این‌که به‌جز تیمار اول، تمامی تیمارها از قابلیت بالایی جهت مقابله با تریپس برخوردار بودند، بنابراین اثر تیمارهای تلفیقی بر فاکتورهای زیستی قارچ بررسی شد تا بهترین تیمار با حداقل بازدارندگی رشد قارچ، انتخاب شود. با در نظر گرفتن فاکتورهای زیستی و کم‌ترین درصد کاهش در جوانه‌زنی، رشد میسلیوم و تولید کنیدی، تیمار تلفیقی ۶×۱۰^{۷} کنیدی در میلی‌لیتر قارچ بیمارگر *B.bassiana* +۱/۲ میلی‌گرم در لیتر فلونیکامید بهترین ترکیب برای مقابله با تریپس بود (جدول ۴). ترکیب‌های تلفیقی تیوسیکلام

هرچند در برخی تیمارها تأثیر کشندگی بیش‌تری روی تریپس نسبت‌به تیمارهای حاوی فلونیکامید داشتند (شکل ۲)، ولی به‌دلیل اثرات منفی بیش‌تر تیوسیکلام بر قارچ بیمارگر، حشره‌کش فلونیکامید نسبت به تیوسیکلام به‌منظور استفاده تلفیقی با بیمارگر مورد مطالعه میزان کارایی بالاتری داشت (جدول ۴).



شکل ۲. میانگین میزان تلفات سن دوم تریپس پیاز تحت تأثیر تیمارهای تلفیقی مختلف حشره‌کش و قارچ بیمارگر *Beauveria bassiana* بعد از ۴۸، ۹۶، ۱۴۴ و ۲۴۰ ساعت. میانگین‌های با حروف غیرمشابه طبق آزمون دانکن در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با یکدیگر دارند. A: ۵/۵×۱۰^{۷} کنیدی بر میلی‌لیتر *B. bassiana* +۱/۲ میلی‌لیتر فلونیکامید، B: ۶×۱۰^{۷} کنیدی بر میلی‌لیتر *B. bassiana* +۱/۲ میلی‌لیتر فلونیکامید، C: ۶/۵×۱۰^{۷} کنیدی بر میلی‌لیتر *B. bassiana* +۱/۲ میلی‌لیتر فلونیکامید، D: ۵/۵×۱۰^{۷} کنیدی بر میلی‌لیتر *B. bassiana* +۲/۸ میلی‌لیتر تیوسیکلام، E: ۶×۱۰^{۷} کنیدی بر میلی‌لیتر *B. bassiana* +۲/۸ میلی‌لیتر تیوسیکلام، F: ۶/۵×۱۰^{۷} کنیدی بر میلی‌لیتر *B. bassiana* +۲/۸ میلی‌لیتر تیوسیکلام.

Figure 2. Mean mortality rate in 2nd instar of *Thrips tabaci* affected by the different integrated treatments of insecticides and *Beauveria bassiana* after 48, 96, 144, and 240 h. Means with dissimilar letters are significantly different from each other according to Duncan test at 5% level. A: 5.5×10^7 spore mL^{-1} *B.bassiana* +1.2 mL Flonicamid , B: 6×10^7 spore mL^{-1} *B.bassiana*+1.2 mL Flonicamid , C: 6.5×10^7 spore mL^{-1} *B.bassiana* +1.2 mL Flonicamid , D: 5.5×10^7 spore mL^{-1} *B.bassiana* +2.8 mL Thiocyclam , E: 6×10^7 spore mL^{-1} *B.bassiana* +2.8 mL Thiocyclam , F: 6.5×10^7 spore mL^{-1} *B.bassiana* +2.8 mL Thiocyclam .

جدول ۴. تأثیر تیمارهای تلفیقی بر فاکتورهای زیستی قارچ بیمارگر *Beauveria bassiana*

Table 4. Effect of integrated treatments on the biological factors of *Beauveria bassiana*

Integrated treatments		Germination rate (%)	Germination reduction (%)	Mycelium rate (mm)	Mycelium reduction (%)	Number of spore*	Spore reduction (%)
1.2 mL Flonicamid	5.5×10^7 spore mL^{-1} *B.bassiana*	58b	34	38c	27	4.2c	24
	6×10^7 spore mL^{-1} *B.bassiana*	59b	33	41b	22	5b	10
	6.5×10^7 spore mL^{-1} *B.bassiana*	56c	36	39bc	25	4.8b	13
2.8 mL Thiocyclam	5.5×10^7 spore mL^{-1} *B.bassiana*	58b	34	40b	24	4.3c	22
	6×10^7 spore mL^{-1} *B.bassiana*	54d	38	39bc	25	4.4c	20
	6.5×10^7 spore mL^{-1} *B.bassiana*	58b	34	38c	27	4.1d	26
Control		87a		52a		5.5a	
SEM		1.37	4	1.21	3	0.29	8

* تعداد × ۱۰^{۷} کنیدی بر میلی‌لیتر

* Number × 10^7 conidia ml^{-1}

بحث

در تحقیق حاضر، رویکردی دوجانبه (شیمیایی، بیولوژیک و شیمیایی+بیولوژیک) برای تعیین راهکار مدیریت تریپس پیاز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که کاربرد جداگانه سموم فلونیکامید و تیوسیکلام و قارچ بیمارگر *B.bassiana* و نیز افزایش غلظت آن‌ها باعث افزایش تلفات تریپس می‌شود و فلونیکامید با قارچ سازگار می‌باشد. سازگاری حشره-کش‌ها با قارچ‌های بیمارگر جهت کنترل تلفیقی آفات به ویژه تریپس پیاز و کاهش مصرف سموم شیمیایی بسیار حائز اهمیت می‌باشد. محققان گزارش کردند که حشره‌کش فلونیکامید باعث افزایش تلفات تریپس غربی گل، تریپس پیاز و تریپس فلفل می‌شود (Kansagara *et al*., 2018; Bilbo *et al*., 2020; Radosevich *et al*., 2020). بر اساس یافته‌های گزارش شده، حشره‌کش‌های اسپینوساد و کلرفناپیر بر اساس درصد مرگ و میر حشرات بالغ تریپس غربی گل نسبت به فلونیکامید مؤثرتر بودند و هر سه حشره-کش تأثیر قابل توجهی بر کنترل این آفت در برابر شاهد داشتند. هم‌چنین افزایش غلظت فلونیکامید تا ۱۰ میلی‌لیتر موجب افزایش مرگ و میر حشرات بالغ تریپس غربی گل شد (Radosevich *et al*., 2020). تعداد حشرات بالغ تریپس غربی گل با استفاده از حشره‌کش فلونیکامید ۳ و ۷ روز بعد از کاربرد کاهش یافت (Bilbo *et al*., 2020). نتایج مطالعه حاضر مبنی بر تأثیر فلونیکامید در کنترل تریپس پیاز مطابق با نتایج مطالعات فوق بود. هم‌چنین، نتایج این مطالعه پتانسیل بالایی را برای کنترل مؤثر تریپس پیاز توسط حشره‌کش تیوسیکلام به ویژه در شرایط آزمایشگاه نشان داد که با نتایج مطالعه دیگر محققان در یک راستا بود (Aguilar Carpio *et al*., 2017). فلونیکامید یک مسدودکننده تغذیه انتخابی است که به وسیله مهار مسیر بلع، باعث گرسنگی حشره و در نهایت مرگ آن می‌شود (Radosevich *et al*., 2020).

مشخص شده است که در بین قارچ‌های بیمارگر مختلف، قارچ *B. bassiana* نتایج بهتری در کاهش جمعیت تریپس پیاز دارد (Boopathi *et al*., 2011). حداکثر درصد کاهش جمعیت لارو تریپس پیاز با ۸۶/۶۲ درصد در گیاهان پیاز اسپری شده با قارچ *B. bassiana* با غلظت $۱۰^{۱۱} \times ۱$ کنیدی بر میلی‌لیتر پس از ۱۰ روز در مقایسه با شاهد مشاهده شد (Ain *et al*., 2021). گزارش شده است که *B.bassiana* بر تریپس پیاز تأثیر منفی دارد و تلفات آن را در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه‌ای افزایش می‌دهد (Gulzar *et al*., 2021). محققان بیان کردند که قارچ *B. bassiana* باعث کاهش ۵۴ تا ۸۴ درصدی تریپس پیاز پس از ۱۱ روز می‌شود (Ansari *et al*., 2008). کاربرد *B. bassiana* در کنترل تریپس پیاز (Ain *et al*., 2021; Gulzar *et al*., 2021)، تریپس غربی گل (Zhang *et al*., 2021) و تریپس خربزه (Li *et al*., 2021) بسیار مؤثر بود. با کاربرد جدایه¬های مختلف (BbYT12، BbYT13 و BbYT14) قارچ *B. bassiana* و نیز با گذشت زمان از ۲۴ تا ۱۴۴ ساعت از کاربرد این قارچ، میزان مرگ و میر تریپس غربی گل افزایش یافت (Zhang *et al*., 2021). با افزایش غلظت کنیدی قارچ *B. bassiana* جدایه JEF-350 تا $۱۰^{۸}$ کنیدی بر میلی‌لیتر، درصد مرگ و میر تریپس خربزه افزایش یافت (Li *et al*., 2021). گزارش شده است که استفاده از قارچ *B. bassiana* برای کنترل جمعیت تریپس پیاز می‌تواند کاربرد حشره‌کش‌های شیمیایی را کاهش دهد و در نتیجه از ایجاد نسل‌های مقاوم تریپس جلوگیری نموده و یا آن را به تأخیر اندازد (Maniania *et al*., 2003; Ain *et al*., 2021). نتایج مطالعه حاضر مبنی بر تأثیر قارچ *B. bassiana* روی تریپس پیاز مطابق با نتایج مطالعات فوق بود. مشخص شده است که در طول چسبندگی قارچ‌های بیمارگر به اپی‌کوتیکول تریپس، موسیلاژ متراکمی ترشح می‌شود که علاوه بر تقویت چسبندگی بیش‌تر قارچ، می‌تواند به عنوان وسیله‌ای برای انتقال آنزیم‌های تخریب کننده کوتیکول حشره نیز عمل کند. هم‌چنین، بیان ژن پروتئاز، *Pr1*، در قارچ *B. bassiana* که در هدف قرار دادن کوتیکول میزبان نقش دارد، با عملکرد آن به عنوان یک آنزیم تجزیه کننده کوتیکول سازگار بود (Zhang *et al*., 2021).

حشره‌کش‌ها ظرفیت تأثیرگذاری بر مراحل مختلف رشد قارچ‌های بیمارگر حشرات را دارا می‌باشند. لذا، بررسی سازگاری جدایه¬های مختلف این گروه از عوامل بیولوژیک با حشره‌کش‌ها برای استفاده در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات بسیار ضروری می‌باشد (Sain *et al*., 2019). سازگاری فلونیکامید با قارچ *B. bassiana* و اثرات کاهشی کم‌تر این حشره‌کش بر کلونی این قارچ گزارش شده است (Vineet and Divender, 2019). فلونیکامید با ۳۶/۶۷ درصد، مهار رشد نسبتاً متوسطی را در قارچ *B. bassiana* در مقایسه با حشره‌کش کربوسولفان (با ۱۰۰ درصد بازدارندگی رشد) ایجاد کرد (Patel *et al*., 2020). بالاترین غلظت کنیدی در قارچ *B. bassiana* جدایه Bb-6097 با غلظت‌های نصف و کامل حشره-کش فلونیکامید ثبت شد (Sain *et al*., 2019). نتایج تحقیق حاضر درباره تأثیر فلونیکامید بر فاکتورهای زیستی قارچ *B.bassiana* و سازگاری بین آن‌ها با نتایج دیگر محققان مطابقت داشت (Sain *et al*., 2019; Vineet and Divender, 2019). طبق نظر این محققان، با افزایش غلظت سموم شیمیایی فاکتورهای زیستی قارچ بیمارگر کاهش یافت (Sain *et al*., 2019; Vineet and Divender, 2019). در این پژوهش، قارچ پس از مواجهه با حشره‌کش‌ها، درجه‌های مختلف زنده‌مانی را نشان داد، به طوری‌که فلونیکامید در غلظت‌های یک‌دوم MC و MC کم‌ترین تأثیر را بر جوانه‌زنی و رشد میسلیوم قارچ بیمارگر داشت و سازگار بود، در حالی‌که تیوسیکلام در هر سه غلظت حتی در غلظت‌های پایین اثرات منفی بر فاکتورهای زیستی داشت. در این زمینه مشخص شده است که حشره‌کش فلونیکامید در نصف دوز در مقایسه با سموم ایمیداکلوپراید، فیپرونیل و پروفنوفوس، با قارچ *B.bassiana* سازگار می‌باشد (Sain *et al*., 2019). کاربرد حشره‌کش فلونیکامید نسبت به اسپیروتترامات، با *B. bassiana* نسبتاً سازگار بود (Vineet and Divender, 2019). اهمیت میزان جوانه‌زنی در سازگاری حشره‌کش‌ها با قارچ‌های بیمارگر از این جهت می‌باشد که اولین مرحله برای ایجاد آلودگی توسط قارچ، جوانه‌زنی کنیدیوم و نفوذ آن به بافت بدن حشره میزبان است (Dannon *et al*., 2020). برخی از حشره‌کش‌ها با قارچ *B.bassiana* سازگار نیستند (Sain *et al*., 2019) که با نتیجه این تحقیق درباره عدم سازگاری تیوسیکلام مطابقت داشت.

ترکیب غلظت‌های زیرکشنده حشره‌کش‌های شیمیایی و قارچ‌های بیمارگر می‌تواند باعث افزایش اثرات منفی بر حشرات شود (Halder *et al*., 2021). در این مطالعه، تلفیق ۶×۱۰^{۷} کنیدی در میلی‌لیتر از قارچ بیمارگر *B.bassiana* +۱/۲ میلی‌گرم در لیتر فلونیکامید توانسته تلفاتی نزدیک به کاربرد انفرادی حشره‌کش ایجاد کند. محققان زیادی کاربرد موفق تیمارهای تلفیقی *B.bassiana* با فلونیکامید و دیگر حشره‌کش‌ها را گزارش کرده‌اند و بیان کردند که *B.bassiana* با حشره‌کش‌ها می‌تواند در کنترل حشرات اثر هم‌افزایی داشته باشد. کاربرد توأم *B. bassiana* با فلونیکامید در کاهش جمعیت شته خردل بسیار مؤثر بود (Patel *et al*., 2021). کاربرد مخلوط حشره‌کش نئونیکوتینوئیدی استامی‌پراید در نیمی از دوز توصیه شده آن به‌همراه *B.bassiana* در کم‌ترین زمان موجب مرگ ۵۰ درصد جمعیت شته سبز هلو شد (Halder *et al*., 2021). در شرایط آزمایشگاهی، تیمار تلفیقی حشره‌کش دیمتوات با غلظت ۱ میلی-لیتر در لیتر به‌همراه نصف دوز (۲/۵ گرم در لیتر) از *B.bassiana* باعث تلفات ۹۵ درصدی تریپس پیاز پس از ۵ روز شد (Kachot *et al*., 2021). نتایج مطالعه حاضر با نتایج مطالعات فوق مطابقت داشت.

بیشتر مکانیسم‌های مقاومت در حشرات نسبت به سموم شیمیایی از طریق القای آنزیم‌ها خصوصاً مونو-اکسیژنازها، گلوتاتیون-S-ترانسفرازها و استرازها ایجاد می‌شوند. قارچ‌های بیمارگر می‌توانند با سرکوب فعالیت‌های آنزیمی، درجه بالایی از حساسیت به حشره‌کش‌ها را در حشرات هدف ایجاد نموده و نیز آن‌ها را مستعد عفونت سایر قارچ‌ها کنند (Halder *et al*., 2021).

در مجموع، قارچ *B.bassiana* و حشره‌کش‌های فلونیکامید و تیوسیکلام در غلظت‌های LC_{50} و بالاتر

تریپس پیاز را کنترل کردند. فلونیکامید در غلظت‌های پایین روی قارچ اثر بازدارندگی نداشت و سازگار بود. بازدارندگی قارچ با افزایش غلظت تیوسیکلام افزایش یافت. تیمار تلفیقی ۶×۱۰^{۷} کنیدی در میلی‌لیتر قارچ بیمارگر *B. bassiana* +۱/۲ میلی‌گرم در لیتر فلونیکامید بهترین ترکیب برای مقابله با تریپس بود. کاربرد حشره‌کش‌ها با قارچ بیمارگر می‌تواند در کنترل تریپس پیاز کمک شایانی کند. می‌توان با افزایش کاربرد این قارچ و گسترش تنوع آن، به مرور زمان مصرف حشره‌کش‌ها را تا حد زیادی کاهش داد. برای تأیید بیش‌تر یافته‌های این مطالعه و توصیه آن برای مزارع، پیشنهاد می‌شود تحقیقات مزرعه‌ای درباره اثربخشی قارچ در ترکیب با حشره‌کش‌ها انجام شود تا بتوان راه‌بردهای مناسبی را اتخاذ نمود.

سپاسگزاری

نویسندگان از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه زابل به خاطر حمایت مالی این مطالعه (IR-UOZ-GR-0821) تشکر و قدردانی می‌نمایند. پژوهش حاضر بخشی از پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد نگارنده اول در رشته حشره‌شناسی کشاورزی می‌باشد.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

REFERENCES

1. Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, *18*, 265-267.
2. Aguilar Carpio, C., González Rendón, A., Pérez Ramírez, A., Ramírez Rojas, S. G. & Carapia Ruiz, V. E. (2017). Chemical control of *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae) in onion crop of Morelos, Mexico. *Acta Zoológica Mexicana*, *33*(1), 39-44.
3. Ain, Q., Mohsin, A. U., Naeem, M. & Shabbir, G. (2021). Effect of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*, on *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae) populations in different onion cultivars. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, *31*, 97.
4. Ansari, M. A., Brownbridge, M., Shah, F. A. & Butt, T. M. (2008). Efficacy of entomopathogenic fungi against soil-dwelling life stages of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, in plant-growing media. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, *127*(2), 80-87.
5. Bilbo, T. R., Schoof, S. C. & Walgenbach, J. F. (2020). Foliar insecticide efficacy against western flower thrips in staked tomato, 2019. *Arthropod Management Tests*, *45*(1), tsaa063.
6. Boopathi, T., Pathak, K., Singh, B. & Verma, A. (2011). Efficacy of entomopathogenic fungi for the management of onion thrips, *Thrips tabaci* Lind. *Pest Management In Horticultural Ecosystems*, *17*, 92-98.
7. Dannon, H. F., Dannon, A. E., Douro-Kpindou, O. K., Zinsou, A. V., Houndete, A. T., Toffa-Mehinto, J., Elegbede, I. A. T. M., Olou, B. D. & Tamo, M. (2020). Toward the efficient use of *Beauveria bassiana* in integrated cotton insect pest management. *Journal of Cotton Research*, *3*, 24.
8. Gulzar, S., Wakil, W. & Shapiro-Ilan, D. I. (2021). Combined effect of entomopathogens against *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae): Laboratory, greenhouse and field trials. *Insects*, *12*(5), 456.
9. Halder, J., Majumder, S. & Rai, A. (2021). Compatibility and combined efficacy of entomopathogenic fungi and neonicotinoid insecticides against *Myzus persicae* (Sulzer): An ecofriendly approach. *Entomologia Hellenica*, *30*(1), 24-32.
10. Hiremath, R., Ghante, V. N., Hosamani, A., leela, S. & Amaresh, Y. S. (2020). Combined effect of *Beauveria bassiana* (Balsamo) and selected chemical insecticides against sunflower whitefly *Bemisia tabaci* Gennadius. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *9*(11), 3694-3704.
11. Iglesias, L., Havey, M. J. & Nault, B. A. (2021). Management of onion thrips (*Thrips tabaci*) in organic onion production using multiple IPM tactics. *Insects*, *12*(3), 207.
12. Irigaray, F., Marco-Manceb, V. & PerezMoreno, I. (2003). The entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and its compatibility with triflumuron: Effects on the two spotted spider mite *Tetranychus urticae*. *Biological Control*, *26*(2), 168-173.
13. Kachot, A. V., Jethva, D. M. & Patel, D. S. (2021). Laboratory efficacy of *Beauveria bassiana*

(Balsamo) Vuillemin and chemical insecticide against onion thrips, *Thrips tabaci* Lindeman. *The Pharma Innovation Journal*, *10*(9), 1456-1459.
14. Kansagara, S., Shah, K. D., Rathod, A. R., Ghelani, M. K. & Acharya, M. F. (2018). Bio-efficacy of different insecticides against thrips (*Scirtothrips dorsalis* Hood) in green gram. *Current Agriculture Research Journal*, *6*(3), 365-371.
15. Li, D., Park, S. E., Lee, M. R., Kim, J. C., Lee, S. J. & Kim, J. S. (2021). Soil application of *Beauveria bassiana* JEF-350 granules to control melon thrips, *thrips palmi* Karny (Thysanoptera: Thripidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, *24*(3), 636-644.
16. Maniania, N. K., Sithanantham, S., Ekesi, S., Ampong-Nyarko, K., Baumgärtner, J., Lohr, B. & Matoka, C. M. (2003). A field trial of the entomogenous fungus *Metarhizium anisopliae* for control of onion thrips, *Thrips tabaci*. *Crop Protection*, *22*(3), 553-559.
17. Martin, N., Workman, P. & Butler, R. (2003). Insecticide resistance in onion thrips (*Thrips tabaci*) (Thysanoptera: Thripidae). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, *31*(2), 99-106.
18. Patel, D. S., Jethva, D. M. & Kchot, A. V. (2021). Evaluation of biopesticides and insecticidal spray schedule against *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach). *The Pharma Innovation Journal*, *10*(8), 164-167.
19. Patel, D. S., Jethva, D. M. & Kchot, A. V. (2020). Compatibility studies of different insecticides with entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, *8*(6), 2101-2104.
20. Radosevich, D. L., Cloyd, R. A. Herrick, N. J. (2020). Effects of spray volume and application frequency on insecticide efficacy against adult western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*) under greenhouse conditions. *HortScience*, *55*(10), 1708-1714.
21. Sain, S. K., Monga, D., Kumar, R., Nagrale, D. T., Hiremani, N. S. & Kranthi, S. (2019). Compatibility of entomopathogenic fungi with insecticides and their efficacy for IPM of *Bemisia tabaci* in cotton. *Journal of Pesticide Science*, *44*(2), 97-105.
22. Trisyono, A. & Whalon, M. E. (1999). Toxicity of neem applied alone and in combinations with *Bacillus thuringiensis* to Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, *92*, 1281-1288.
23. Vineet, K. & Divender, G. (2019). Evaluation of insecticides against woolly apple aphid *Eriosoma lanigerum* and its parasitoid *Aphelinus mali*. *Indian Journal of Entomology*, *81*(3), 467-471.
24. Vincent, J. M. (1947). Distortion of fungal hyphae in the presence of certain inhibitors. *Nature*, *159*, 850.
25. Wari, D., Okada, R., Takagi, M., Yaguchi, M., Kashima, T. & Ogawara, T. (2020). Augmentation and compatibility of *Beauveria bassiana* with pesticides against different growth stages of *Bemisia tabaci* (Gennadius); an in vitro and field approach. *Pest Management Science*, *76*(9), 3236-3252.
26. Zhang, Z., Zheng, C., Keyhani, N. O., Gao, Y. & Wang, J. (2021). Infection of the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, by the insect pathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Agronomy*, *11*, 1910.