The University of Tehran Press

Biological Control of Pests and Plant Diseases

Online ISSN: 2322-2883

Homepage: https://jbiocontrol.ut.ac.ir/

The effect of the pathogenic fungus, *Beauveria bassiana* on tomato leafminer *Tuta absoluta* (Lep.: Gelechiidae)

Zahra Rahmati Habibabadi[1] | **Nafiseh Poorjavad**[2]✉

1. Department of Plant Protection, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran. E-mail: z.rahmati@ag.iut.ac.ir
2. Corresponding Author, Department of Plant Protection, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran. E-mail: npoorjavad@iut.ac.ir

Article Info

Article type:

Research Article

Article history:

Received: 2 October 2023

Revised: 11 November 2023

Accepted: 17 November 2023

Published online: 22 June 2022

Keywords:

Biological control,

Cumulative mortality rate,

Fungal conidia.

ABSTRACT

Tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lep.: Gelechiidae) is one of the important pests of tomato which causes heavy damage to tomatoes in the greenhouse and outdoor crops. In order to develop biological control of this pest, in the current study, the effects of *Beauveria bassiana* on different life stages of tomato leaf miner were evaluated in laboratory conditions. To investigate the effect of fungus on the length and survival rate of different stages of *T. absoluta*, the experiments were conducted in 10 treatments (control and different concentrations of fungal conidia) in three replications. The results showed that the egg stage and then the pupa are more sensitive to the fungus than the larval stages, and in different larval stages, young larvae are more sensitive to the application of the fungus than other larval stages. So the 50% lethal concentrations (LC50) of fungal conidia for different stages; egg, young larva, old larva and pupa was measured as 6×10^4, 1.16×10^6, 2×53.10^8 and 3.39×10^5 respectively. Also, the length of the larval and pupal periods of *T. absoluta* was affected by the application of *B. bassiana*, so that the length of the larval and pupal periods decreased from 51.31 to 44.12 days and from 6.64 to 5.33 days, respectively, by an increase in the concentration of fungal conidia. The results obtained in the investigation of the effect of *B. bassiana* on the mortality rate of different stages of *T. absoluta* showed that the mortality rate of all the different stages increased with the increase in the fungal conidia concentrations, so that at a concentration of 10^{10} conidia, the mortality rate of the different stages; egg, young larvae, old larvae, and pupae reached 89.65, 88.46, 60.71 and 90%, respectively. It was also found that by increasing the concentrations of fungal conidia, the survival rate decreased by passing of time in all stages of *T. absoluta*, and the survival rate increased with increasing age of larvae.

Cite this article: Rahmati Habibabadi, Z., & Poorjavad, N. (2022). The effect of the pathogenic fungus, *Beauveria bassiana* on tomato leafminer *Tuta absoluta* (Lep.: Gelechiidae). *Biological Control of Pests and Plant Diseases*, 11 (1), 43-56. DOI: https://doi.org/10.22059/jbioc.2023.366056.324

© The Author(s).

Publisher: The University of Tehran Press.

DOI: https://doi.org/10.22059/jbioc.2023.366056.324

Extended Abstract

Introduction

The tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Lep: Gelechiidae) is one of the most destructive pests of tomatoes in greenhouse and outdoor cultivation. Although the main method of its control relies on the use of chemical insecticides, its biological control is increasingly being considered as a safe and environmentally friendly method. The entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* is a promising agent in the biological control of Lepidopteran pests. Unlike other microbial agents, this fungus does not need to be ingested by insects to cause disease due to the ability of direct penetration through the host's cuticle. The high pathogenicity and rapid germination and sporulation of *B. bassiana* have caused it to be used limitedly to control *T. absoluta*, previously. The aim of this study is to evaluate the impact of *B. bassiana* on survival and development time of different life stages of *T. absoluta* under laboratory conditions.

Materials and Methods

Different life stages of the pest, including eggs, four larval instars and pupae, were infected with nine conidial suspensions of *B. bassiana* (10^2 to 10^{10} conidia per ml) by using leaf-dipping method. Mortality of eggs, each larval and pupal stages was calculated after seven days of infection to obtain the LC50 values. Also, the survivors were followed until the end of life, and their life span were calculated and their survival curves were using Kaplan–Meier estimates (GraphPad Prism program). The experiment was carried out in 25 ± 1°C and 60 ± 5% relative humidity, and photoperiod; 16L:8D.

Polo plus software was used to calculate LC50 and LT50. Data variance was analyzed using One-Way ANOVA method and Tukey's test was used to compare the means.

Results and Discussion

The results showed that the lowest LC50 value is related to the egg stage and then the pupal stage is more sensitive. The sensitivity of larvae to pathogenic fungi decreases significantly with increasing larval age. The high sensitivity of young larvae to pathogenic fungi can be related to their cuticular fine structure and weak immune system compared to older larvae. Also, in pupae that do not have diapause, such as the pupa of *T. absoluta*, it seems that the high rate of metabolism causes less activity of the immune system and greater sensitivity of this stage to pathogens. Although the length of the embryonic period was not affected by the fungus infection, the length of the larval and pupal periods decreased significantly with the increase in the concentration of *B. bassiana.* In such a way that the length of the pupation period decreased from 6.73 days in the control treatment to 5.33 days in the 10^{10} concentration. It seems that the use of *B. bassiana* can quickly reduce the amount of juvenile hormone, and as a result, the larva-pupa and pupa-adult molting is done earlier, which ultimately reduces the duration of these stages. The survival rate curves after infection up to the pupal stage at different larval ages showed that the survival rate increases with the age of the treated larvae. Also the increase in the concentration of *B. bassiana* and the increase in time, the survival rate decreases, so that the lowest LT_{50} value corresponds to the concentration of 10^{10} in first instar larvae.

نشریه کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی، دوره ۱۱، شماره ۱

انتشارات دانشگاه تهران

شاپا الکترونیکی: ۲۴۲۳-۸۰۹۰

Homepage: https://jbiocontrol.ut.ac.ir/

اثر قارچ بیمارگر *Beauveria bassiana* روی پروانه مینوز گوجه‌فرنگی *Tuta absoluta* (Lep.: Gelechiidae)

زهرا رحمتی حبیب‌آبادی[۱] | نفیسه پورجواد[۲]✉

۱. گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران. رایانامه: z.rahmati @ag.iut.ac.ir

۲. نویسنده مسئول، گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران. رایانامه: npoorjavad@iut.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:

مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۱۰

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۹/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۱۵

تاریخ انتشار: ۱۴۰۱/۰۴/۰۱

کلیدواژه‌ها:

کنترل بیولوژیک، نرخ مرگ‌ومیر تجمعی، کنیدی قارچ.

چکیده

شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی *Tuta absoluta* (Meyrick)(Lep.: Gelechiidae) یکی از آفات مهم گوجه¬فرنگی است که خسارات سنگینی در کشت‌های گلخانه‌ای و مزرعه ای گوجه‌فرنگی وارد می‌کند. در راستای توسعه کنترل بیولوژیک این آفت، در تحقیق حاضر تاثیر قارچ بیمارگر *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuil (Hypocreales: Cordycipitaceae) بر مراحل مختلف زندگی شب‌پره مینوز گوجه-فرنگی در شرایط آزمایشگاهی مورد مطالعه قرار گرفت. در بررسی اثر قارچ بر طول دوره زیستی و درصد مرگ‌ومیر مراحل مختلف زندگی شب‌پره مینوزگوجه‌فرنگی آزمایشات در ۱۰ تیمار (شاهد و غلظت‌های مختلف از کنیدی قارچ) در سه تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که مرحله تخم و سپس شفیره نسبت به مراحل لاروی به قارچ حساس‌تر هستند و در مراحل مختلف لاروی، لاروهای سنین پایین نسبت به سایر مراحل لاروی به کاربرد قارچ حساس‌تر هستند. به طوری که غلظت ۵۰ درصد کشنده قارچ برای مراحل مختلف تخم، لارو جوان، لارو مسن و شفیره به ترتیب ۶×۱۰^{۴}، $۱/۱۶\times۱۰^{۶}$، $۲/۵۳\times۱۰^{۸}$ و $۳/۳۹\times۱۰^{۵}$ اندازه گیری شد. همچنین طول دوره لاروی و شفیرگی شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی تحت تاثیر کاربرد قارچ قرار گرفت و با افزایش میزان غلظت قارچ، طول دوره لاروی از ۵۱/۳۱ به ۴۴/۱۲ روز و طول دوره شفیرگی از ۶/۶۴ به ۵/۳۳ روز کاهش یافت. نتایج به دست آمده در بررسی اثر قارچ بر میزان مرگ و میر مراحل مختلف زندگی مینوز نشان داد که با افزایش غلظت قارچ میزان مرگ‌ومیر تمام مراحل مختلف آفت افزایش یافت به طوری که در غلظت $۱۰^{۱۰}$ کنیدی قارچ میزان مرگ و میر مراحل مختلف تخم، لارو جوان، لارو مسن و شفیره به ترتیب به ۸۹/۶۵، ۸۸/۴۶، ۶۰/۷۱ و ۹۰ درصد رسید. همچنین مشخص شد با افزایش غلظت قارچ در سنین مختلف لاروی با افزایش زمان، نرخ زنده‌مانی کاهش و میزان زنده‌مانی با افزایش سن لاروی افزایش یافته است.

استناد: رحمتی حبیب آبادی، زهرا؛ و پورجواد، نفیسه (۱۴۰۱). اثر قارچ بیمارگر *Beauveria bassiana* روی پروانه مینوز گوجه‌فرنگی *Tuta absoluta* (Lep.: Gelechiidae). *نشریه کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی*، ۱۱ (۱)، ۵۶-۴۳. DOI: https://doi.org/10.22059/jbioc.2023.366056.324

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: https://doi.org/10.22059/jbioc.2023.366056.324

مقدمه

شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی *Tuta absoluta* (Meyrick)(Lep: Gelechiidae) یکی از مخرب‌ترین آفات گوجه‌فرنگی در گلخانه و کشت فضای باز است (Sabbour, 2014). پروانه مینوز گوجه‌فرنگی از آمریکای جنوبی منشا می‌گیرد و در حال حاضر یک گونه مهاجم مهم در حوزه مدیترانه است (Shalaby *et al.*, 2013). این آفت برای اولین بار در سال ۱۳۸۹ از استان آذربایجان غربی گزارش شد و متعاقب آن در سایر استان‌های غربی و مرکزی از جمله استان اصفهان نیز مشاهده شد (Cheraghian, 2009) و خسارت این آفت در محصولات مزرعه‌ای و گلخانه‌ای بسیار قابل توجه است (Desneux & Wajnberg, 2010). خسارت مستقیم آفت ناشی از تغذیه لارو شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی است که با از بین بردن برگ های گیاه و همچنین ایجاد دالان در میوه ها، عملکرد و کیفیت گیاه گوجه‌فرنگی را کاهش می دهد و دالان های ایجاد شده در میوه‌ها محل ورود قارچ‌های بیمارگر، حشرات و عوامل پوسیدگی میوه است که خسارت غیر مستقیم آفت را نشان می-دهد.(Kaoud, 2014). روش اصلی کنترل *T. absoluta* متکی بر استفاده از حشره‌کش‌های شیمیایی است. اما کنترل شیمیایی این آفت با توجه به زیست‌شناسی آن (رفتار تغذیه لارو به صورت مینوز) مشکل است (Marcela *et al.*, 2005, Khalid *et al.*, 2012).

با این حال، افزایش نگرانی‌ها در مورد سلامت عمومی جامعه و محیط زیست، و مقاومت رو به گسترش این آفت به حشره‌کش‌های مصرفی، استفاده از برنامه‌های کنترل تلفیقی آفت با تاکید بر استفاده از عوامل کنترل بیولوژیکی مورد توجه روزافزون قرار گرفته است (Dannon *et al.*, 2020).

قارچ‌های بیمارگر حشرات عوامل بیولوژیکی هستند که می‌توانند در کنترل آفات مورد استفاده قرار گیرند (Dannon *et al.*, 2020, Sain, *et al.*, 2019). این قارچ‌ها بر خلاف سایر عوامل میکروبی به علت نفوذ مستقیم از طریق کوتیکول میزبان، نیاز به بلیعده شدن توسط حشرات برای ایجاد بیماری ندارند (Wright & Ramos, 2005). از جمله مهم‌ترین این قارچ‌ها می‌توان به *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokinin و *Beauveria (Hypocreales :Cordycipitaceae) bassiana (Bals.) Vuill* اشاره کرد که دارای شدت بیماری‌زایی بالا و جوانه‌زنی و اسپورزایی سریع بوده‌اند و همین دو ویژگی این دو قارچ را به عنوان عوامل کنترل حشرات به خوبی مطرح کرده است (Al-Deghairi, 2008). قارچ بیمارگر *B. bassiana* یکی از مؤثرترین این عوامل است که جدایه‌های متنوع آن برای حمله به حشرات مختلفی شناسایی شده‌اند. کاربرد آنها در مقایسه با حشره‌کش‌های شیمیایی به عنوان یک روش محافظ محیط زیست که برای سلامتی انسان بی ضرر بوده و باعث کاهش مصرف حشره‌کش‌ها و مقاومت حشرات می‌شود، در نظر گرفته شده است (Dannon *et al.*, 2020). قارچ *B. bassiana*عاملی امیدوارکننده برای استفاده به عنوان حشره‌کش زیستی در کنترل حشرات مختلف به ویژه بال‌پولک‌داران، نیم‌بالان، جوربالان و سخت‌بال‌پوشان است (Dannon *et al.*, 2020). بیماری‌زایی چندین ایزوله از *M. anisopliae* و *B. bassiana* بر تخم‌های پروانه مینوز گوجه‌فرنگی تحت شرایط آزمایشگاهی با اسپری کردن مستقیم سوسپانسیون، نشان داد که غلظت $۱۰^{۷}$کنیدی/میلی‌لیتر از هر ایزوله به طور معناداری میزان مرگ‌ومیر و تولید کنیدی روی تخم‌ها را افزایش می‌دهد (Marta Rodríguez *et al.*, 2006). در مطالعه دیگری گزارش شد که قارچ *M. anisopliae* تاثیر خوبی روی هر دو مرحله تخم و لارو سن اول پروانه مینوز گوجه‌فرنگی دارد ولی قارچ *B. bassiana* فقط روی مرحله‌ی تخم این آفت موثر است (Inanli *et al.*, 2012). با این حال در مطالعه دیگری بیماری‌زایی این دو قارچ روی دو مرحله تخم و لارو *T. absoluta* گزارش شد و بیشترین درصد مرگ‌ومیر روی لاروهای سن یک مشاهده شد (Shalaby *et al.*, 2013). استفاده از *B. bassiana* به عنوان عوامل کنترل زیستی برای کنترل آفات در بسیاری از کشورها موفقیت‌آمیز بوده است. مطالعات صورت گرفته در مصر نشان می‌دهد که در شرایط گلخانه‌ای بعد از تیمار کردن گیاه گوجه‌فرنگی با قارچ *B. bassiana* میزان خسارت ناشی از *T. absoluta* حدود ۳۸ درصد کاهش یافته است (Sabbour, 2014). هم‌چنین در اثر تیمار کردن با این بیمارگر

میزان مرگ و میرلاروی شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی روی گیاه گوجه‌فرنگی افزایش یافته است و میزان شفیره شدن و ظهور حشره بالغ کاهش یافته است (Reda *et al.*, 2012, Shalaby *et al.*, 2013).

با توجه به اهمیت و خسارت زیاد شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی به محصول گوجه‌فرنگی و مقاومت این آفت به حشره‌کش‌های مورد استفاده و نقش اثبات شده‌ی *B. bassiana* در کنترل بیولوژیک آفاتی همچون شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی *T. absoluta*، دراین پژوهش به بررسی تعیین حساسیت مراحل مختلف زیستی *T. absoluta* به قارچ بیمارگر *B. bassiana* پرداخته شد و میزان مرگ و میر تمام مراحل زندگی این آفت تحت تاثیر قارچ بیمارگر *B. bassiana* در همان مرحله تیمار شده و همچنین منحنی های بقای سنین مختلف لاروی شب پره مینوز گوجه‌فرنگی که نشان‌دهنده تاثیر دراز مدت قرار گرفتن در معرض قارچ در مراحل بعدی رشد حشره است، در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

پرورش گیاه گوجه‌فرنگی

آزمایش‌ها روی گیاه گوجه‌فرنگی رقم Early Urbana-Y-703 انجام شد. بذرها ابتدا در سینی نشا پلاستیکی و در کوکوپیت کاشته شده و سپس نشاها بعد از رسیدن به مرحله دو برگی به گلدان‌های اصلی (قطر ۱۰ سانتی‌متر و عمق ۸/۵ سانتی‌متر) انتقال داده شد. در خاک استفاده شده برای هر یک از گلدان‌ها از خاک‌برگ وکود دامی استفاده شد. پرورش گیاه گوجه‌فرنگی در گلخانه و در دمای ۵±۲۵ درجه سلسیوس انجام شد.

پرورش شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی

این پروانه از گلخانه‌های منطقه زیار، دستجا و روستای منشیان اصفهان از روی گوجه‌فرنگی جمع‌آوری و شناسایی شد. برای شناسایی این آفت از روی حالت مخصوص دالان‌های ایجاد شده روی برگ گوجه و همچنین مشخصات ظاهری لارو آفت (وجود ۵ پای کاذب شکمی که نشان می‌دهد لارو متعلق به پروانه‌ها است و وجود لکه‌ی سیاه ابرو مانند روی سر لارو) استفاده شد. برای پرورش این حشره از یک قفس فلزی به ابعاد ۲×۲×۲ متر که با توری مش ریز پوشانده شده بود، استفاده شد. آفت برای سه نسل در قفس و روی گیاه گوجه‌فرنگی پرورش داده شد و بعد ازسه نسل آزمایش‌ها روی آن انجام شد. پروانه مینوز گوجه‌فرنگی در گلخانه و در دمای ۵±۲۵ درجه سلسیوس پرورش داده شد.

پرورش قارچ *B. bassiana*

قارچ *B. bassiana* در دمای ۱ ± ۲۵ درجه سلسیوس در تاریکی کامل در محیط PDA (Potato Dextrose Agar) کشت داده شد. برای تهیه سوسپانسیون از قارچ، کنیدیوم‌ها از کشت‌های دارای ۱۴ روز سن به وسیله خراش دادن با لوپ فلزی استریل، برداشته شد و با آب مقطر استریل همراه با ۰/۰۵ درصد از توئین (Tween 80) مخلوط شد. مخلوط به دست آمده به مدت سه دقیقه به وسیله همزن مغناطیسی هم زده شد. توسط لام نئوبار (Haemocytometer) با شمارش مستقیم غلظت مخلوط تعیین شد و سپس دامنه وسیعی از غلظت‌ها از 10^{2} تا 10^{10} (کنیدیوم / میلی لیتر) از سوسپانسیون تهیه شد.

بررسی اثر قارچ *B. bassiana* بر تخم *T. absoluta*

جهت یکنواخت شدن شرایط آزمایش هم‌سن‌سازی تخم‌های شب‌پره مینوز انجام شد. برای این کار برگ‌های گیاه گوجه-فرنگی درمعرض آلودگی با ۹۰ جفت شب‌پره (۴۵ماده و ۴۵ نر) قرار گرفتند و به مدت ۲۴ ساعت فرصت داده شد تا روی برگ گیاه مورد نظر تخم‌ریزی کنند. سپس برگ‌های حاوی تخم‌های هم سن درون ظروف(ابعاد) قرار داده شدند. ظروف به درون

ژرمیناتور با شرایط دمای ۱ ± ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵ ± ۶۰ درصد و دوره تاریکی، روشنایی ۸ :۱۶ ساعت منتقل شدند.

در این آزمایش نه غلظت (کنیدیوم / میلی لیتر) از سوسپانسیون اصلی قارچ(غلظت‌های 10^{2} تا 10^{10}) تهیه شد و آزمایش‌ها در ده تیمار(شاهد و نه غلظت مختلف از قارچ *B. bassiana*) در سه تکرار که هر تکرار شامل ده ظرف که هر کدام حاوی یک تخم از شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی روی برگ گوجه‌فرنگی بود، انجام گرفت. در شاهد به منظور بررسی تاثیرگذاری توئین ۸۰ بر میزان مرگ –ومیر، تخم‌ها در آب استریل محتوی ۰/۰۵درصد توئین ۸۰ فرو برده شد. ابتدا برگ‌های آلوده به تخم شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی به صورت افقی در سوسپانسیون مورد نظر فرو برده شد و سپس روی کاغذ سفید تمیز خشک شدند شدند. سپس دمبرگ برگ‌ها با پنبه‌ای نمناک پوشانده شد تا رطوبت مورد نیاز برگ تامین شود. برگ‌ها در داخل ظروف پلاستیکی به ابعاد ۵×۶×۸ سانتی‌متر که درب آن‌ها با توری ریز پوشانده شده بود، قرار داده شد. ظرف‌ها در دمای ۲ ± ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵ ± ۶۰ درصد و دوره تاریکی، روشنایی ۸ :۱۶ ساعت نگهداری شدند. تخم‌ها به مدت ۷ روز مورد بررسی قرار گرفتند و در نهایت درصد تفریخ تخم‌ها مورد بررسی قرارگرفت.

بررسی اثر قارچ *B. bassiana* بر سنین مختلف لاروی *T. absoluta*

پس از تفریخ تخم‌های شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی، به لارو ها اجازه داده شد که از برگ‌های درون ظرف (ابعاد) تغذیه کرده و به رشد خود ادامه دهند، برای شاداب ماندن برگ‌ها، رطوبت لازم از طریق کاغذ صافی مرطوب موجود در کف ظرف تامین شد. ظروف هر روز مورد بازدید قرار گرفتند. ملاک تشخیص تبدیل یک مرحله لاروی به مرحله بعد، یافتن پوسته لاروی بود. این آزمایش روی چهار سن لاروی مختلف در ده تیمار(شاهد و نه غلظت مختلف از قارچ *B. bassiana*) در سه تکرارکه هر تکرار شامل ده ظرف بود، انجام گرفت.

نه غلظت (کنیدیوم / میلی لیتر) از سوسپانسیون اصلی(غلظت‌های 10^{2} تا 10^{10}) تهیه شد. برای هر غلظت، ۳۰ برگ گوجه‌فرنگی انتخاب کرده و در سوسپانسیون مورد نظر فرو برده و سپس روی کاغذ سفید تمیز برای خشک شدن قرار داده شد. در تیمار شاهد برگ‌ها در مخلوط آب استریل و ۰/۰۵درصد توئین ۸۰ فرو برده شد. برگ‌های تیمار شده در داخل ظروف پلاستیکی به ابعاد ۵×۶×۸ سانتی‌متر که درب آن‌ها با توری ریز پوشانده شده بود، قرار داده شد و با سنین مختلف لاروی پروانه مینوز گوجه فرنگی (۱۰ لارو/تکرار) به طور جداگانه و در آزمایش مستقل آلوده شدند. ظروف در شرایط ذکر شده در آزمایش اول نگهداری شدند. مرگ ومیر لاروها در هر سن لاروی که تیمار شده بودند پس از هفت روز محاسبه شد تا مقدار LC_{50} به دست آید. همچنین در هر سن لاروی، پس از تیمار با غلظت‌های مختلف قارچ، طول دوره تا آغاز شفیرگی محاسبه و منحنی‌های زنده‌مانی از زمانی که لارو تیمار شده بود تا زمان شفیره شدن ترسیم شد.

بررسی اثر قارچ *B. bassiana* بر شفیره *T. absoluta*

این آزمایش در ده تیمار(شاهد و نه غلظت مختلف از قارچ *B. bassiana*) در سه تکرارکه هر تکرار شامل ده ظرف (ابعاد) بود، انجام شد.

نه غلظت (کنیدیوم / میلی لیتر) از سوسپانسیون اصلی(غلظت‌های 10^{2} تا 10^{10}) تهیه شد. برای هر غلظت، ۳۰ شفیره تازه (۱۰ شفیره در هر تکرار) انتخاب کرده و در سوسپانسیون مورد نظر فرو برده و سپس روی کاغذ سفید تمیز برای خشک شدن قرار داده شد. در تیمار شاهد شفیره‌ها در مخلوط آب استریل و ۰/۰۵درصد توئین ۸۰ فرو برده شد. شفیره‌ها در داخل ظروف پلاستیکی به ابعاد ۵×۶×۸ سانتی‌متر که درب آن‌ها با توری ریز پوشانده شده بود، قرار داده شد. شرایط نگهداری واحدهای آزمایشی مشابه آزمایش اول بود. شفیره‌ها به طور منظم روزانه برای بررسی تحریک پذیری شفیره بررسی شد.

تجزیه داده‌ها

میزان مرگ و میر مراحل مختلف با استفاده از فرمول ابوت اصلاح شد (Abbott, 1925) . برای محاسبه‌ی LC_{50} و LT_{50} از نرم افزار پلو پلاس (Polo plus) استفاده شد. با توجه به این که طول دوره لاروی لارو سن چهارم به طور معمول هفت روز است به منظور مقایسه‌ی بهتر داده‌ها، میزان LC_{50} سنین مختلف لاروی بر مبنای مرگ و میر در روز هفتم محاسبه شد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از روش One – Way ANOVA (آنالیز واریانس یک‌طرفه) در نرم‌افزار SPSS Statitics محاسبه شد. برای اصلاح داده‌هایی که به صورت درصد بودند از تبدیل $Arc\ sin\ \sqrt{x}$ استفاده شد و داده‌های حاصل مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد. منحنی های زنده مانی بر اساس مدل Kaplan-Meier و مقایسه آماری اختلاف داده ها در محیط نرم‌افزار GraphPad Prism انجام شد.

یافته‌های پژوهش و بحث

میزان LC_{50} قارچ *B. bassiana* بر مراحل مختلف زندگی *T. absoluta*

نتایج حاصله از میزان LC_{50} (Lethal concentration-50%) (میزان غلظت مورد نیاز برای کشتن نیمی از اعضای یک جمعیت مورد آزمایش پس از مدت زمان مشخص) مربوط به قارچ بیماری‌زای *B. bassiana* روی مراحل مختلف زندگی شب‌پره مینوز گوجه فرنگی در جدول ۱ نشان داده شده است ، کمترین مقدار LC_{50} مربوط به مرحله تخم آفت است به طوری که مرحله تخم بیشترین حساسیت به قارچ را دارد و پس از آن مرحله شفیرگی حساس تر است. حساسیت لاروها به قارچ بیماری زا با افزایش سن لاروی کاهش می‌یابد. به نظر می‌رسد اختلاف در میزان مرگ‌ومیر سنین مختلف مربوط به فعالیت آنزیمی باشد. زیرا بیان شده است که فعالیت آنزیم های سم‌زدایی در مراحل مختلف رشد و نموی حشرات متفاوت است به‌طوری که فعالیت این آنزیم‌ها در مرحله تخم کم است و در مرحله لاروی یا پورگی با افزایش سن لارو، افزایش می‌یابد و سپس در مرحله شفیرگی دوباره کاهش می‌یابد (Ahmad, 1986, Mullin, 1988). حساسیت بالای لاروهای سنین پایین به قارچ بیماریگر را می‌توان به ساختار کوتیکولی و سیستم ایمنی ضعیف آنها در مقایسه با لاروهای سنین بالا دانست (Bextine & Thorvilson, 2002). همچنین بر اساس مطالعه فریتاک و همکاران (۲۰۰۳) یک رابطه تبادلی بین نرخ متابولیسم و فعالیت سیستم ایمنی در شفیره حشرات وجود دارد. در شفیره‌هایی که دیاپوز ندارند مانند شفیره شب پره مینوز گوجه‌فرنگی به نظر می‌رسد نرخ بالای متابولیسم باعث فعالیت کمتر سیستم ایمنی و حساسیت بیشتر این مرحله در مقابل عوامل بیماری‌زا می‌شود.

جدول ۱. غلظت کشنده ۵۰ درصد قارچ *B. bassiana* برای مراحل مختلف زندگی شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی

مراحل زندگی	LC_{50} (دامنه اطمینان)	شیب خط± خطای استاندارد	X^2	درجه آزادی
تخم	۶/۹۱ × ۱۰⁴ (۱/۰۳ × ۱۰⁴ – ۳/۲۴× ۱۰⁵)	۰/۱۰۹۰ ± ۰/۰۱۵۴	۰/۴۶۳۹	۷
لاررو سن یک	۱/۱۶ × ۱۰⁶ (۱/۴۴ × ۱۰⁵ – ۸/۹۸ × ۱۰⁶)	۰/۰۸۶۳ ± ۰/۰۱۴۹	۴/۱۵۹۵	۷
لارو سن دو	۸/۱۱ × ۱۰⁶ (۹/۷۹ × ۱۰⁵ – ۱/۱۰ × ۱۰⁸)	۰/۰۷۶۸ ± ۰/۰۱۴۴	۱/۵۵۲۳	۷
لارو سن سه	۲/۸۸ × ۱۰⁷ (۳/۷۱ × ۱۰⁶ – ۴/۶۰ × ۱۰⁸)	۰/۰۸۳۹ ± ۰/۰۱۵۵	۰/۹۳۲۸	۷
لاروسن چهار	۲/۵۳ × ۱۰⁸ (۱/۵۷ × ۱۰⁷ – ۴/۸۷ × ۱۰¹⁰)	۰/۰۶۴۵ ± ۰/۰۱۵۲	۱/۲۲۱۵	۷
شفیره	۳/۳۹ × ۱۰⁵ (۸/۰۶ × ۱۰⁴ – ۱/۳۱ ×۱۰⁶)	۰/۱۲۲۳ ± ۰/۰۱۵۳	۰/۶۹۹۰	۷

اثر قارچ *B. bassiana* بر طول دوره زیستی مراحل مختلف زندگی *T. absoluta*

میزان تاثیر قارچ *B. bassiana* بر طول مراحل مختلف زندگی شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی در جدول ۲ آمده است. غلظت-های مختلف قارچ، طول دوره جنینی را تحت تاثیر قرار نمی‌دهند و گروه‌های تیمار با گروه شاهد تفاوت معنی‌داری نداشته و در یک سطح آماری قرار گرفته است (جدول ۲). در رابطه با تاثیر قارچ روی طول دوره جنینی، فاضلی و همکاران دریافتند که

در شرایط مزرعه‌ای، هنگامی که حشره‌ی ماده *Naranga aenescens* (Lep: Noctuidae) بر روی برگ های برنج آلوده به قارچ *B. bassiana* تخم‌ریزی می‌کند، طول دوره جنینی کاهش می‌یابد و البته میزان تفریخ تخم‌ها نیزکاهش می‌یابد (*et al.*, 2012 Fazeli-Dinan).

جدول ۲. طول دوره جنینی و شفیرگی (میانگین ± انحراف معیار) شب‌پره *Tuta absoluta* تیمار شده با غلظت های مختلف قارچ *Beauveria bassiana* و زمان سپری شده تا شفیرگی پس از تیمار در هر مرحله لاروی

غلظت (کنیدیوم / میلی لیتر)	طول دوره		زمان سپری شده تا شفیرگی پس از تیمار *			
	جنینی	شفیره	لارو سن یک	لارو سن دو	لارو سن سه	لارو سن چهار
شاهد	۶/۱۰ ± ۰/۳۰	۶/۷۳ ± ۰/۴۴^{a}	۱۷/۸۰ ± ۰/۴۰^{a}	۱۴/۸۱ ± ۰/۳۹^{a}	۱۱/۹۲ ± ۰/۲۶^{a}	۶/۷۸ ± ۰/۴۱^{a}
$۱۰^{۲}$	۶/۱۳ ± ۰/۳۴	۶/۶۴ ± ۰/۴۸^{a}	۱۷/۷۵ ± ۰/۴۴^{a}	۱۴/۷۸ ± ۰/۴۱^{a}	۱۱/۷۸ ± ۰/۴۲^{ab}	۶/۶۰ ± ۰/۵۰^{ab}
$۱۰^{۳}$	۶/۱۵ ± ۰/۳۶	۶/۵۹ ± ۰/۵۰^{ab}	۱۷/۶۲ ± ۰/۵۰^{a}	۱۴/۶۴ ± ۰/۴۹^{ab}	۱۱/۶۵ ± ۰/۴۸^{ab}	۶/۳۶ ± ۰/۴۹^{abc}
$۱۰^{۴}$	۶/۱۲ ± ۰/۳۴	۶/۴۰ ± ۰/۵۰^{abc}	۱۷/۵۳ ± ۰/۵۱^{ab}	۱۴/۵۰ ± ۰/۵۱^{ab}	۱۱/۴۷ ± ۰/۵۱^{ab}	۶/۲۰ ± ۰/۴۱^{abc}
$۱۰^{۵}$	۶/۱۴ ± ۰/۳۶	۶/۲۷ ± ۰/۴۶^{abc}	۱۷/۳۶ ± ۰/۵۰^{ab}	۱۴/۳۸ ± ۰/۵۰^{abc}	۱۱/۳۱ ± ۰/۴۷^{bc}	۶/۰۰ ± ۰/۴۷^{bcd}
$۱۰^{۶}$	۶/۰۹ ± ۰/۳۰	۶/۱۴ ± ۰/۶۶^{abc}	۱۶/۷۵ ± ۰/۷۰^{bc}	۱۴/۰۹ ± ۰/۳۰^{bcd}	۱۰/۸۴ ± ۰/۶۸^{cd}	۵/۸۲ ± ۰/۳۹^{bcd}
$۱۰^{۷}$	۶/۱۲ ± ۰/۳۵	۶/۰۰ ± ۰/۸۱^{abcd}	۱۶/۳۳ ± ۰/۵۱^{cd}	۱۳/۷۷ ± ۰/۴۴^{cde}	۱۰/۶۳ ± ۰/۶۷^{de}	۵/۶۲ ± ۰/۵۰^{cde}
$۱۰^{۸}$	۶/۱۶ ± ۰/۴۰	۵/۸۳ ± ۰/۷۵^{bcd}	۱۶/۲۰ ± ۰/۴۴^{cd}	۱۳/۵۵ ± ۰/۵۲^{de}	۱۰/۴۰ ± ۰/۵۱^{de}	۵/۴۳ ± ۰/۵۱^{de}
$۱۰^{۹}$	۶/۲۰ ± ۰/۴۴	۵/۶۶ ± ۰/۵۱^{cd}	۱۵/۶۶ ± ۰/۵۷^{de}	۱۳/۲۸ ± ۰/۴۸^{e}	۱۰/۲۵ ± ۰/۴۶^{de}	۵/۲۸ ± ۰/۴۶^{e}
$۱۰^{۱۰}$	۶/۰۰ ± ۰/۰۰	۵/۳۳ ± ۰/۵۷^{d}	۱۵/۳۳ ± ۰/۵۷^{e}	۱۳/۲۰ ± ۰/۴۴^{e}	۱۰/۱۴ ± ۰/۳۷^{e}	۵/۱۸ ± ۰/۴۰^{e}
	$F_{۹,۱۳۴}$ = ۰/۱۲۲	$F_{۹,۱۵۳}$ = ۱۸/۸۱۰	$F_{۹,۱۱۰}$ = ۲۱/۵۸۸	$F_{۹,۱۳۰}$ = ۱۹/۲۵۵	$F_{۹,۱۵۳}$ =۲۵/۲۱۸	$F_{۹,۱۸۷}$ = ۲۷/۰۸۹
	P = ۰/۹۹۹	P< ۰/۰۰۱	P< ۰/۰۰۱	P< ۰/۰۰۱	P< ۰/۰۰۱	P< ۰/۰۰۱

میانگین‌های با حروف غیرمشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ با استفاده از آزمون توکی است.

* در هر سن لاروی، پس از تیمار با غلظت‌های مختلف قارچ، طول دوره تا آغاز شفیرگی محاسبه شده است.

در بررسی تاثیر قارچ بر زمان سپری شده لاروی مینوز گوجه فرنگی نشان داده شد با افزایش غلظت قارچ بیماری‌گر، طول این زمان در تمامی سنین نسبت به شاهد کاهش می‌یابد (جدول ۲). کائور و همکاران (۲۰۱۱) کاهش طول دوره لاروی *Spodoptera litura* در اثر استفاده از *B. bassiana* و باتا و ابوصفیه (۲۰۰۵) کاهش چرخه زندگی *Tribolium castaneum* در اثر تیمار کردن با *M. anisopliae* را گزارش کرده‌اند (Batta & Abu-Safieh, 2005).

هم‌چنین نتایج به دست آمده در بررسی شفیره‌های تیمار شده با غلظت‌های مختلف قارچ *B. bassiana* نشان داد طول دوره شفیرگی مینوز گوجه‌فرنگی با افزایش میزان غلظت قارچ، کاهش می‌یابد. به‌نحوی که طول دوره شفیرگی از ۶/۷۳ روز در تیمار شاهد به ۵/۳۳ روز در غلظت $۱۰^{۱۰}$ کاهش یافت (جدول ۲). حافظ و همکاران در سال ۱۹۹۷ مشاهده کردند که طول دوره شفیرگی *P. operculella* در شفیره‌های تیمار شده با قارچ *B. bassiana* نسبت به تیمار شاهد افزایش یافته است. ولی مالاروانان و همکاران در سال ۲۰۱۰ دریافتند در اثر تیمار کردن شفیره های *Spodoptera litura* با قارچ *B. bassiana* طول دوره شفیرگی نسبت به تیمار شاهد کاهش می‌یابد.

بر اساس نتایج مطالعات گذشته، کاربرد قارچ *B. bassiana* روی آفات می‌تواند میزان هورمون جوانی را سریع کاهش داده و در نتیجه پوست‌اندازی لارو–شفیره و شفیره– بالغ زودتر انجام گیرد که در نهایت باعث کاهش مدت زمان این مراحل می‌شود (Palli & Locke, 1987, Koul & Isman, 1991).

بررسی اثر قارچ *B. bassiana* بر مرگ‌ومیر مراحل مختلف زندگی *T. absoluta*

داده‌های مربوط به تاثیر قارچ بر مرگ و میر مراحل مختلف زندگی شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی در جدول ۳ آورده شده است. نتایج نشان داد در بین تیمار های مختلف درصد مرگ و میر تخم دارای اختلاف معنی‌داری است به گونه‌ای که درصد مرگ و میر در غلظت های 10^{10} و 10^{9} نسبت به غلظت‌های پایین بیش تر بوده است. در این آزمایش درصد مرگ و میر در شاهد کم‌تر از چهار درصد به دست آمد. میزان مرگ و میر تخم وابسته به غلظت است به گونه‌ای که بیش ترین غلظت بیش‌ترین میزان مرگ و میر را داشته است. مطالعات قبلی نتایج مشابهی را روی کنه‌ی *Tetranychus urticae* و قارچ *B. bassiana* و هم چنین کنه‌ی *Tetranychus cinnabarinus* (Saenz-de-Cabezo *et al.*, 2003) و قارچ‌های *B. bassiana*، *M. anisopliae* و *Paecilomyzes fumosoroseus* گزارش کرده‌اند (Shi & Feng, 2004).

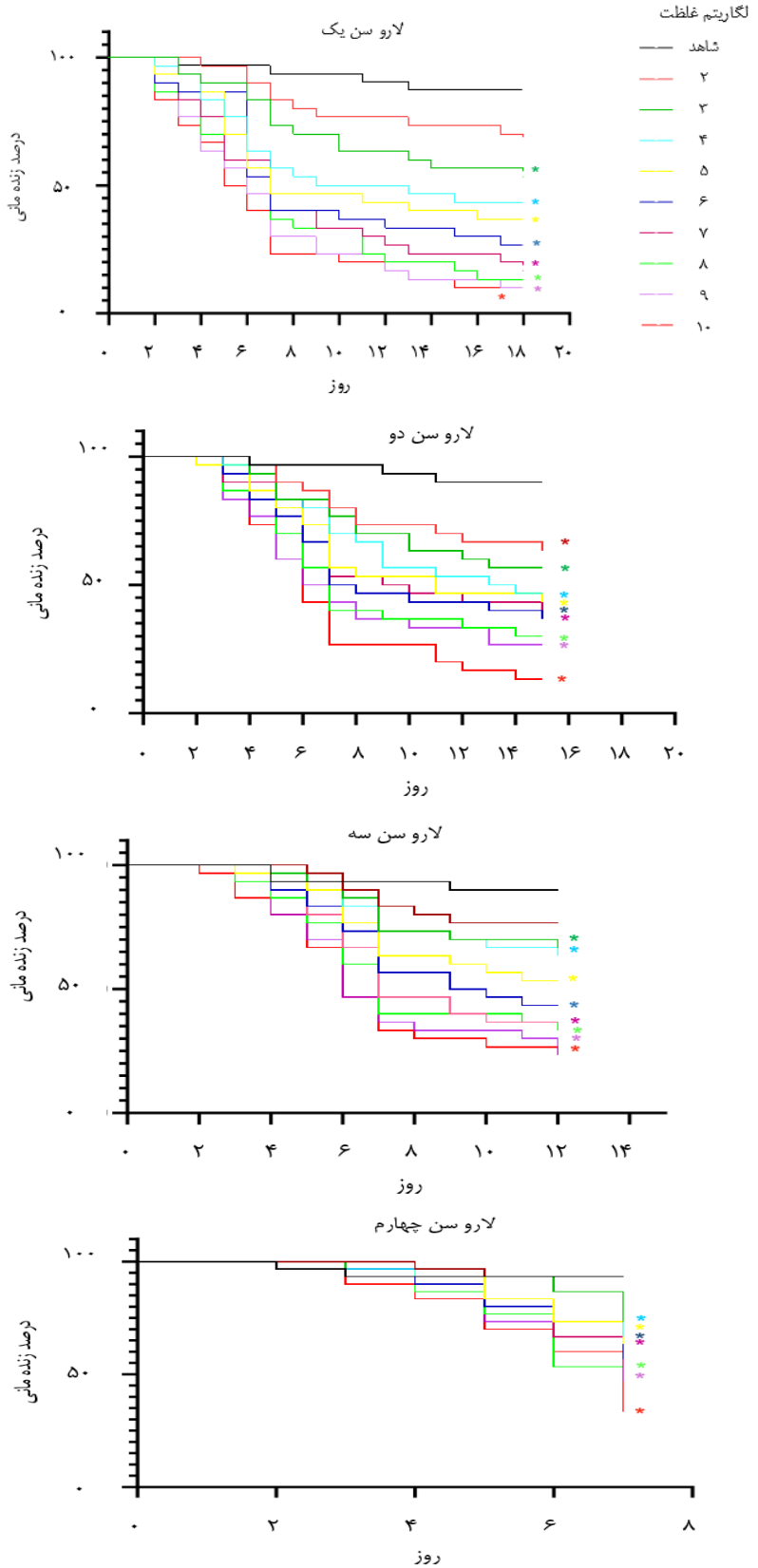
نتایج این مطالعه نشان داد میزان مرگ ومیر دوره لاروی در اثر استفاده از قارچ *B. bassiana* افزایش یافته است و بیش‌ترین میزان مرگ ومیر در غلظت 10^{10} بوده است. این در صورتی است که درصد مرگ ومیر در تیمار شاهد سنین مختلف لاروی کم‌تر از ۱۴ درصد محاسبه شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود با افزایش سنین لاروی میزان مرگ و میر کاهش یافته است که این میزان کاهش بیانگر کاهش حساسیت به آلودگی قارچی در اثر افزایش سن می‌باشد (جدول۳).

در مطالعه اثر استفاده از *B. bassiana* علیه *Pthorimaea operculella*، نشان داده شد لارو سن یک و دو نسبت به لاروسن سه و چهارحساسیت بیش‌تری دارند (Hafez *et al.*, 1997)، هم‌چنین در مطالعه دیگری مشاهده شد به هنگام استفاده از *B. bassiana* علیه *Spodoptera litura*، در غلظت های بالا لارو سن یک ۳۲–۲۸ درصد مرگ و میر بیش‌تری نسبت به لارو های سنین آخر داشته است (Kaur *et al.*, 2011). در مطالعه اثر پاتوژن‌های بیماری‌زا علیه لارو *Spodoptera frugiperda* گزارش شد هر دو قارچ پاتوژن *B. bassiana* و *M. anisopliae* باعث مرگ و میر ۱۰۰ درصدی لاروهای سن دوم شدند. علاوه بر این، *B. bassiana* و *M. anisopliae* به ترتیب ۸۷ و ۷۵ درصد از لاروهای سن چهارم را از بین بردند (Ramos *et al.*, 2020).

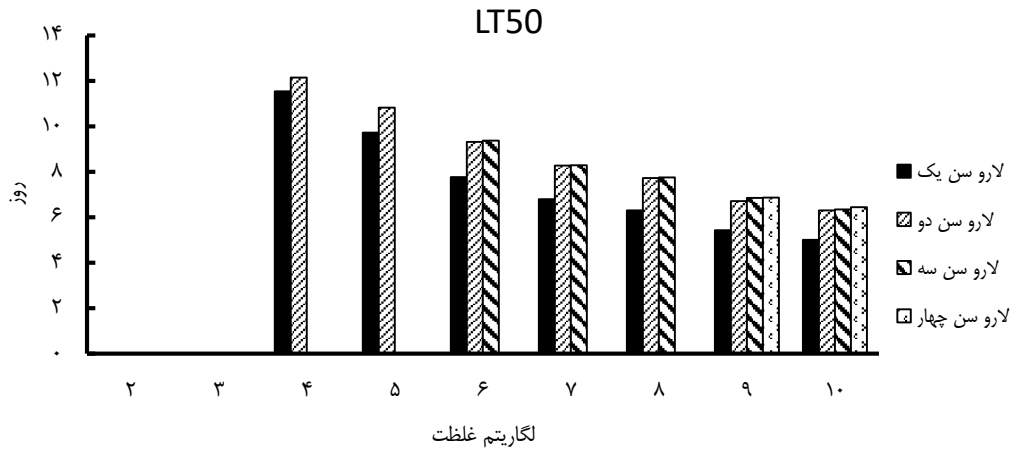
جدول ۳. درصد مرگ ومیر تخم، سنین مختلف لاروی و شفیره (میانگین ± انحراف معیار) شب‌پره *Tuta absoluta* تیمار شده با غلظت های مختلف قارچ *Beauveria bassiana*.

غلظت (کنیدیوم / میلی لیتر)	درصد مرگ و میر اصلاح شده					
	تخم	لارو سن یک	لارو سن دو	لارو سن سه	لارو سن چهار	شفیره
10^{2}	۲۰/۶۸ ± ۱/۱۵^{e}	۲۳/۰۷ ± ۰/۷۰^{e}	۲۹/۶۲ ± ۰/۷۹^{c}	۱۳/۷۰ ± ۰/۷۹^{e}	۱۰/۷۱ ± ۱/۱۱^{c}	۱۶/۶۶ ± ۰/۵۷^{c}
10^{3}	۳۱/۰۳ ± ۰/۵۷^{de}	۳۸/۴۵ ± ۰/۹۴^{de}	۳۷/۰۳ ± ۱/۰۶^{c}	۲۵/۹۲ ± ۱/۱۹^{de}	۲۱/۴۲ ± ۱/۵۷^{bc}	۲۶/۶۶ ± ۱/۱۵^{c}
10^{4}	۴۴/۸۲ ± ۱/۵۲^{cde}	۴۹/۹۹ ± ۱/۱۶^{cd}	۴۸/۱۴ ± ۱/۰۹^{bc}	۲۹/۶۲ ± ۱/۰۸^{cde}	۲۸/۵۷ ± ۲/۱۴^{abc}	۳۳/۳۳ ± ۱/۵۲^{bc}
10^{5}	۵۱/۷۲ ± ۱/۱۵^{bcde}	۵۷/۶۹ ± ۱/۵۵^{bcd}	۵۱/۸۴ ± ۱/۴۵^{abc}	۴۰/۷۳ ± ۱/۴۶^{bcde}	۳۲/۱۴ ± ۱/۵۱^{abc}	۴۰/۰۰ ± ۱/۰۰^{bc}
10^{6}	۶۲/۰۶ ± ۱/۱۵^{abcd}	۶۹/۲۲ ± ۱/۴۷^{abc}	۵۹/۲۵ ± ۱/۴۳^{abc}	۵۱/۸۴ ± ۱/۵۰^{abcd}	۳۹/۲۸ ± ۱/۷۷^{abc}	۵۳/۳۳ ± ۰/۵۷^{ab}
10^{7}	۷۲/۴۱ ± ۱/۵۲^{abc}	۷۶/۹۲ ± ۱/۹۷^{ab}	۶۶/۶۶ ± ۱/۹۵^{ab}	۵۹/۲۵ ± ۱/۹۲^{abc}	۴۲/۸۵ ± ۱/۶۳^{ab}	۶۶/۶۶ ± ۰/۵۷^{ab}
10^{8}	۷۹/۳۱ ± ۱/۰۰^{ab}	۸۰/۷۶ ± ۱/۸۱^{a}	۶۶/۶۶ ± ۱/۷۲^{ab}	۶۲/۹۵ ± ۲/۰۵^{ab}	۴۲/۸۵ ± ۲/۵۱^{ab}	۷۳/۳۳ ± ۱/۰۰^{a}
10^{9}	۸۲/۷۵ ± ۱/۱۵^{a}	۸۸/۴۶ ± ۱/۶۸^{a}	۷۴/۰۶ ± ۱/۹۲^{ab}	۷۰/۳۶ ± ۲/۱۲^{a}	۵۰/۰۰ ± ۲/۲۱^{ab}	۸۶/۶۶ ± ۰/۰۰^{a}
10^{10}	۸۹/۶۵ ± ۰/۰۰^{a}	۸۸/۴۶ ± ۱/۸۸^{a}	۸۱/۴۷ ± ۲/۰۲^{a}	۷۴/۰۶ ± ۱/۹۲^{a}	۶۰/۷۱ ± ۲/۲۸^{a}	۹۰/۰۰ ± ۰/۰۰^{a}
	$F_{8,26}$ = ۱۲/۷۴۴	$F_{8,26}$ = ۲۵/۹۵۵	$F_{8,26}$ =۸/۴۱۴	$F_{8,26}$ = ۱۲/۴۳۶	$F_{8,26}$ = ۵/۹۵۳	$F_{8,25}$ = ۱۵/۵۰۸
	P< ۰/۰۰۱	P< ۰/۰۰۱	P< ۰/۰۰۱	P< ۰/۰۰۱	P < ۰/۰۰۱	P< ۰/۰۰۱

میانگین‌های با حروف غیرمشابه در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ با استفاده از آزمون توکی است.



شکل ۱. منحنی زنده‌مانی کاپلان میر برای دوره لاروی *Tuta absoluta* از زمان تیمار با غلظت‌های مختلف قارچ در هر سن لاروی تا آغاز شفیرگی (*در هر نمودار منحنی‌های ستاره‌دار با منحنی شاهد اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد دارند).



شکل ۲. میزان LT_{50} محاسبه شده برای پروانه *Tuta absoluta* در غلظت‌های مختلف قارچ *Beauveria bassiana*

با افزایش میزان غلظت قارچ *B. bassiana* میزان مرگ و میر شفیره افزایش می‌یابد. به‌گونه‌ای که میزان مرگ و میر به ۹۰ در صد درتیمار 10^{10} رسیده است، این در حالی است که درصد مرگ و میر در شاهد صفر بوده است (جدول۳). همچنین حافظ و همکاران در سال ۱۹۹۷ مشاهده کردند که با افزایش میزان غلظت قارچ *B. bassiana* میزان مرگ ومیر شفیره *P. operculella* نسبت به شاهد افزایش قابل توجهی داشته است.

بررسی اثر قارچ *B. bassiana* بر منحنی بقا سنین مختلف لاروی تا شفیرگی *T. absoluta*

منحنی بقا برای لاروهای تیمار شده تا زمان شفیرگی در هر سن لاروی که تیمار شده‌اند در شکل ۱ نشان داده شده است. با بررسی میزان نرخ بقا از روز اول پس از آلوده سازی تا مرحله شفیرگی در سنین مختلف مشاهده می‌شود که میزان بقا با افزایش سن لاروی تیمار شده، افزایش و با افزایش غلظت در سنین مختلف لاروی و نیز با افزایش زمان، میزان نرخ بقا کاهش می‌یابد.

مطابق شکل ۱، زمانی که سن لاروی یک با غلظت‌های مختلف قارچ تیمار می شود منحنی بقای آن در همه غلظت‌ها به جز غلظت 10^2 با منحنی بقای لاروهای شاهد تفاوت معنی‌داری دارد. در تیمار کردن سن لاروی دو مشاهده می‌شود که منحنی بقا در همه غلظت‌ها با محنی بقای تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار دارد. همچنین در تیمار کردن لارو سن سوم همه غلظت‌ها به جز غلظت 10^2 و در تیمار کردن لارو سن چهارم منحنی‌های بقا در همه تیمارها به جز غلظت‌های 10^2 و 10^3 با تیمار شاهد تفاوت معنی‌دار دارد (شکل ۱).

با توجه به LT_{50} (Lethal Time-50%) (زمانی که نیاز است تا نیمی از اعضای یک جمعیت مورد آزمایش پس از قرار گرفتن در معرض میزان مشخصی از ماده‌ی سمی بمیرد) محاسبه شده (شکل ۲)، کم‌ترین میزان LT_{50} مربوط به غلظت 10^{10} در لارو سن یک است. همان‌طور که مشاهده می‌کنید در غلظت‌های 10^{10} و 10^9 میزان LT_{50} محاسبه شده برای لارو سن چهار نسبت به سایر سنین لاروی بیشترین میزان را دارد. به عبارتی با افزایش سنین لاروی میزان حساسیت به آلودگی کاهش یافته و در نتیجه به مدت زمان بیشتری برای ایجاد ۵۰ درصد مرگ ومیر نیاز است.

در مطالعه صورت گرفته که به اثر جدایه‌های قارچ *B. bassiana* روی لارو *N. aenescens* (Lep: Noctuidae) پرداخته شده بود نشان داد میزان LT_{50} با افزایش سنین لاروی افزایش و با افزایش میزان غلظت کنیدیوم کاهش می‌یابد (Fazeli-Dinan *et al.*, 2012). در مقابل در مطالعه اثر سه جدایه قارچ *B. bassiana* و *Metarhizium robertsii* Bischof،

Metarhizium brunneum (Petch) و *Isaria farinosa* (Holmsk.) علیه لارو سن اول *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae) هیچ تفاوت معنی داری در مقادیر LT50 در میان قارچ‌های پاتوژن مشاهده نشد (Sarker *et al.*, 2020).

نتیجه‌گیری و پیشنهادها

نتایج این مطالعه نشان داد قارچ *B. bassiana* قادر است آفت مینوز گوجه‌فرنگی *T. absoluta* را کنترل کند به نحوی که مراحل تخم و شفیره نسبت به مراحل لاروی حساسیت بیشتری نسبت به آلودگی قارچی داشتند. هم‌چنین در مرحله‌ی لاروی با افزایش سنین لاروی حساسیت به قارچ *B. bassiana* کاهش یافت. علاوه‌بر این مشاهده شد که قارچ *B. bassiana* بر طول دوره جنینی تاثیر نداشت ولی باعث کاهش طول دوره لاروی و شفیرگی شد. میزان مرگ و میر در مراحل مختلف زندگی *T. absoluta* در اثر افزایش میزان غلظت قارچ *B. bassiana* افزایش یافت در نتیجه قارچ *B. bassiana* در کنترل شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی موثر است. با توجه به LT_{50} محاسبه شده برای سنین مختلف لاروی مشاهده شد با افزایش غلظت اسپور قارچ، میزان LT_{50} کاهش می‌یابد. بنابراین طراحی برنامه‌های کنترل بر اساس عوامل بیماری‌زا با توجه به اثرات منفی ناچیز روی موجودات غیرهدف و محیط‌زیست امکان‌پذیر است لذا پیشنهاد می‌شود اثر غلظت‌های زیر کشنده قارچ بیمارگر *B. bassiana* بر جدول زیستی شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی و اثر غلظت‌های مختلف قارچ بیمارگر *B. bassiana* به هنگام تلفیق با کاربرد سموم توصیه شده بر میزان کنترل شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی بررسی شود.

REFERENCES

Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*. *18*, 265-267. 10.3109/13880209.2012.674950

Ahmad, S. (1986). Enzymatic adaptations of herbivorous insects and mites to phytochemicals. *Journal of Chemical Ecology*, *12*, 533-560.

Al-Deghairi, M. A. (2008). Bioassay evaluation of the entomophatogenic fungi *Beauveria bassiana* Vuellemin against eggs and nymphs of *Bemisia tabaci* Gennadius (Homoptera:Aleyrodidae). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, *11*(12), 1551-1560. https://doi.org/10.3923/pjbs.2008.1551.1560

Batta, Y. A., & Abu-Safieh, D. I. (2005). A study of treatment effect with *Metarhizium anisopliae* and four types of dusts on wheat grain infestation with red flour beetles *Tribolium castaneum* Herbs (Coleoptera: Tenebrionidae). *IUG Journal of Natural Studies*, 13(1), 11-22.

Bextine, B. R., & Thorvilson, H. G. (2002). Field applications of bait-formulated *Beauveria bassiana* alginate pellets for biological control of the red imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae). Environmental Entomology, *31*(4), 746-752. https://doi.org/10.1603/0046-225X-31.4.746

Cheraghian, A. (2009). *Guidelines for advance awareness and tracking of the important and dangerous pest of the tomato moth*. Iran Plant Protection Organization.

Dannon, H. F., Dannon, A. E., Douro-Kpindou, O. K., Zinsou, A. V., Houndete, A. T., ToffaMehinto, 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*, 1-24. http://dx.doi.org/10.1186/s42397-020-00061-5

Desneux, N., & Wajnberg, E. (2010). Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta* ecology, geographic expansion and prospects for biological control. *Journal of Pest Science*, *83*, 197-215. http://dx.doi.org/10.1007/s10340-010-0321-6

Fazeli-Dinan, M., Kharazi-Pakdel, A., Alinia, F., Tabari, M. A., & Fahimi, A. (2012). Field biology of the green semi-looper, *Naranga aenescens* Moore (Lepidoptera: Noctuidae) and efficiency determination of *Beauveria bassiana* isolates. *SOAJ of Entomological Studies*, *1*, 68-80.

Freitak, D., Ots, I., Vanatoa, A., & Hörak, P. (2003). Immune response is energetically costly in white cabbage butterfly pupae. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, *270*(suppl_2), S220-S222. https://doi.org/10.1098/rsbl.2003.0069

Haddi, K., Berger, M., Bielza, P., Cifuentes, D., Field, L. M., Gorman, K., Rapisarda, C., Williamson, M. S., & Bass, C. (2012). Identification of mutations associated with pyrethroid resistance in the voltage-gated sodium channel of the tomato leaf miner (*Tuta absoluta*). *Insect Biochemistry and Molecular Biology, 42*(7), 506-513. https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2012.03.008

Hafez, M., Zaki, F. N., Moursy, A., & Sabbour, M. (1997) Biological effects of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* on the potato tuber moth *Phthorimaea operculella* (Seller). *Anzeiger für Schädlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz, 70*, 158-159.

Inanli, C., Yoldaş, Z., & Birgücü, A. K. (2012). Effects of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* (Bals.) and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) on larvae and egg stages of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, *49*(3), 239-242.

Irigaray, F. J., Marco-Mancebón, V., & Pérez-Moreno, I. (2003) The entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* and its compatibility with triflumuron: effects on the two spotted spider mite *Tetranychus urticae*. *Biological Control*, *26*, 168–173. https://doi.org/10.1016/S1049-9644(02)00123-8

Kaoud, H. A. (2014). Alternative methods for the control of *Tuta absoluta*. *GJMAS Journal*, *2*, 41-46.

Kaur, S., Kaur, H. P., Kaur, K., & Kaur, A. (2011). Effect of different concentrations of *Beauveria bassiana* on development and reproductive potential of *Spodoptera litura*. *Biopesticides, 4*, 161-168.

Koul, O., & Isman, M. B. (1991). Effects of azadirachtin on the dietary utilization and development of the variegated cutworm, *Peridroma saucia*. *Journal of Insect Physiology*, 37, 591-598. https://doi.org/10.1016/0022-1910(91)90036-Y

Lietti, M. M., Botto, E., & Alzogaray, R. A. (2005). Insecticide resistance in argentine populations of *Tuta absoluta* (Meyrick)(Lepidoptera: Gelechiidae). *Neotropical Entomology, 34*, 113-119. https://doi.org/10.1590/S1519-566X2005000100016

Malarvannan, S., Murali, P. D., Shanthakumar, S. P., Prabavathy, V. R., & Nair, S. (2010). Laboratory evaluation of the entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* against the *Tobacco caterpillar*, *Spodoptera litura* Fabricius (Noctuidae: Lepidoptera). *Journal of Biopesticides*, *3*(1), 126-131.

Marta Rodríguez, S., Marcos Gerding, P., & Andrés France, I. (2006). Entomopathogenic fungi isolates selection for egg control of tomato moth, *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) eggs. *Agricultura Técnica (Chile) 66*, (2), 151-158. http://dx.doi.org/10.4067/S0365-28072006000200005.

Mullin, C. A. (1988). Adaptive relationships of epoxide hydrolase in herbivorous arthropods. *Journal of Chemical Ecology, 14*, 1867-1888.

Palli, S. R., & Locke, M. (1987). The synthesis of hemolymph proteins by the larval epidermis of an insect *Calpodes ethlius* (Lepidoptera: Hesperiidae). *Insect Biochemistry*, 17, 711-722. https://doi.org/10.1016/0020-1790(87)90041-2

Ramos, Y., Taibo, A. D., Jiménez, J. A., & Portal, O. (2020). Endophytic establishment of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in maize plants and its effect against *Spodoptera frugiperda* (JE Smith)(Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Egyptian Journal of Biological Pest Control, 30*, 1-6. http://dx.doi.org/10.1186/s41938-020-00223-2

Reda, A. M. A., & Hatem, A. E. (2012). Biological and eradication parameters of the tomato leaf miner, *Tuta absoluta* affected by two biopesticides. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas, 38*, 321-333.

Sabbour, M. M. (2014). Biocontrol of the tomato pinworm *Tuta absoluta* (Meyrick)(Lepidoptera: Gelechiidae) in Egypt. *Middle East Journal of Agriculture Research*, *3*(3), 499-503. http://dx.doi.org/10.13140/RG.2.1.3486.4480

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. https://doi.org/10.1584/jpestics.d18-067

Sarker, S., Woo, Y. H., Lim, U.T. (2020). Laboratory evaluation of *Beauveria bassiana* ARP14 against *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae). *Current Microbiology*, *77*, 2365-2373. https://doi.org/10.1007/s00284-020-02012-4

Shalaby, H. H., Faragalla, F. H., El-Saadany, H. M., & Ibrahim, A. A. (2013). Efficacy of three entomopathogenic agents for control the tomato borer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Natural Science*, *11*(7), 63-72.

Shi, W. B., & Feng, M. G. (2004). Lethal effect of *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces fumosoroseus* on the eggs of *Tetranychus cinnabarinus* (Acari: Tetranychidae) with description of a mite egg bioassay system. *Biological Control*, *30*, 165–173. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2004.01.017

Wright, S. P., & Ramos, M. E. (2002). Application parameters affecting field efficacy of *Beauveria bassiana* foliar treatments against Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*. *Biological Control*, *23*, 164–178. https://doi.org/10.1006/bcon.2001.1004