

۷-۹ شهریور ماه ۱۳۹۴  
موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، تهران



مجموعه مقالات

# اولین کنگره بین‌المللی حشره‌شناسی ایران

تدوین:  
دکتر شهاب منظری

## شناسایی مورفولوژیکی و مولکولی قارچ *Verticillium epiphytum* و ارزیابی بیماری‌زایی آن روی شته‌های *Metopolophium dirhodum* و *Sipha maydis* در شرایط آزمایشگاهی

صفورا فدایی‌وطن، غلامحسین مروج و جواد کریمی

گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران، [Fadayivatan@gmail.com](mailto:Fadayivatan@gmail.com)

در دهه‌های اخیر کنترل بیولوژیک با استفاده از قارچ‌های بیمارگر حشرات، به عنوان جایگزین یا مکمل آفت‌کش‌های شیمیایی برای کنترل شته‌ها توسعه یافته است. در تحقیق حاضر جدایه قارچی که از نمونه‌های تریپس پیاز، *Thrips tabaci*، آلوده در مشهد جمع‌آوری شده بود، بر اساس خصوصیات مورفولوژیکی و مولکولی به عنوان گونه *Verticillium epiphytum* شناسایی شد و بیماری‌زایی آن روی دو گونه از شته‌های غلات، *Sipha maydis* و *Metopolophium dirhodum* در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. جدایه قارچ بعد از خالص‌سازی، روی محیط PDA کشت و در انکوباتور با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد و شرایط تاریکی نگهداری شد. پس از اسپورزایی، با استفاده از آبی پنبه از آن اسلاید میکروسکوپی تهیه و بر اساس ویژگی‌های مورفولوژیکی و با استفاده از کلید شناسایی Humber شناسایی شد. مطالعه مولکولی روی ناحیه ژنی ITS با استفاده از پرایمرهای ITS1 و ITS4 انجام شد. طول قطعه هم‌ردیف شده ۵۷۵ جفت باز بود که با شماره دسترسی KF548667 در بانک ژن ثبت گردید. مقایسه توالی بدست‌آمده با سایر توالی‌های موجود در بانک ژن با استفاده از نرم‌افزار جستجوی Blast، شباهت ۹۸٪ را با گونه *Cephalosporium curtipes* var. *uredinicola* (AJ292405.1) نشان داد که این گونه اخیراً تحت نام *V. epiphytum* طبقه‌بندی شده است. همچنین نام علمی گونه قارچ بیمارگر توسط دکتر رسول زارع از بخش تحقیقات رستنی‌ها، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور مورد تأیید قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که قارچ *V. epiphytum* رشد قطری پرگنه (۸/۲ سانتی‌متر پس از ۲۱ روز)، اسپورزایی ( $6/5 \times 10^7$  کنیدی بر میلی‌لیتر پس از ۲۱ روز) و درصد جوانه‌زنی (۹۸ درصد پس از ۲۴ ساعت) نسبتاً بالایی دارد. میزان  $LC_{50}$  قارچ روی شته‌های *S. maydis* و *M. dirhodum* به ترتیب  $15.1 \times 10^6$  و  $61.9 \times 10^6$  کنیدی بر میلی‌لیتر بود. شته *S. maydis* در مقایسه با شته *M. dirhodum* حساسیت بیشتری به قارچ بیمارگر داشت. باروری حشرات کامل شته‌ها در اثر تیمار با قارچ مورد مطالعه به طور معنی‌دار کاهش یافت. در تحقیق حاضر آزمایشات زیست‌سنجی روی گیاه کامل انجام شد. این مطالعه اولین بررسی بیماری‌زایی این قارچ روی شته‌ها می‌باشد. نتایج این تحقیق موید آن است که قارچ بیمارگر *V. epiphytum* پتانسیل کاربرد در برنامه‌های کنترل بیولوژیک آفات را دارد لذا انجام تحقیقات لازم در زمینه بررسی بیماری‌زایی آن روی سایر حشرات و کارایی این بیمارگر در شرایط گلخانه و مزرعه توصیه می‌گردد.

### Morphological and molecular identification of the fungus *Verticillium epiphytum* and evaluation of its pathogenicity on *Sipha maydis* and *Metopolophium dirhodum* in laboratory conditions

Fadayivatan, S., Gh. Moravvej and J. Karimi

Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran, [Fadayivatan@gmail.com](mailto:Fadayivatan@gmail.com)

In the last decades, biological control, particularly the use of entomopathogenic fungi has regarded as an emerging strategy to control aphids. In the present study the fungus isolated from the infected specimens of onion thrips, *Thrips tabaci*, in Mashhad, was identified as *Verticillium epiphytum* based on morphological and molecular characteristics and its pathogenicity was evaluated against the cereal aphids, *Sipha maydis* and *Metopolophium dirhodum* in laboratory conditions. After purification, the fungal isolate, was cultured on PDA and incubated at 28°C and darkness. After sporulation, microscopic slides of the fungus were prepared using blue cotton. Identification was made based on morphological features and Humber's key. Molecular study was performed on the ITS gene region using ITS1 and ITS4 primers. The length of the aligned fragment was 575 bp which was recorded as the accession number KF548667 in the gene bank. Comparison of the obtained sequence with other sequences in the gene bank using nBlast software revealed 98% similarity to the isolate designated as *Cephalosporium curtipes* var. *uredinicola* (AJ292405.1), which has been recently verified as *Verticillium epiphytum*. The scientific name of the fungus was confirmed by Dr. R. Zare, Department of Botany, Plant Pests and Diseases Research Institute of Iran. The results showed that the radial growth (8.20 cm after 21 days), sporulation ( $6.5 \times 10^7$  conidia ml<sup>-1</sup> after 21 days) and germination percent (98 percent after 24 h) of the fungus *V. epiphytum* were rather high. The  $LC_{50}$  value of the fungus was obtained as  $15.1 \times 10^6$  and  $61.9 \times 10^6$  conidia ml<sup>-1</sup> for *S. maydis* and *M. dirhodum*, respectively. The aphid *S. maydis* was more susceptible to the entomopathogenic fungus than *M. dirhodum*. Fecundity of *S. maydis* and *M. dirhodum* decreased significantly due to fungus treatments. In the present study, the bioassays were performed on whole plants. This is the first study to demonstrate the pathogenicity of the fungus *V. epiphytum* against aphids. The results of present study suggested that *V. epiphytum* might be regarded as a potential candidate in the biological control programs of aphids. Further researches emphasizing on greenhouse and field trials are recommended.