



دانشکده کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد در رشته حشره شناسی کشاورزی

بررسی اثرات زیرکشندگی گیاهان روناس و کلیپوره بر روی زنبور *Diaeretiella rapae*
(McIntosh)، پارازیتوئید شته مومی کلم (*Brevicoryne brassicae* (L.))

توسط:

افشین پارسامقدم

استاد راهنما:

دکتر محمود عالیچی

شهریور 1390


بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

به نام خدا

اظهارنامه

اینجانب افشین پارسامقدم (870975) دانشجوی رشته‌ی حشره‌شناسی کشاورزی اظهار می‌کنم که این پایان‌نامه حاصل پژوهش خودم بوده و در جاهایی که از منابع دیگران استفاده کرده‌ام، نشانی دقیق و مشخصات کامل آن را نوشته‌ام. همچنین اظهار می‌کنم که تحقیق و موضوع پایان‌نامه تکراری نیست و تعهد می‌نمایم که بدون مجوز دانشگاه دستاوردهای آن را منتشر ننموده و یا در اختیار غیر قرار ندهم. کلیه حقوق این اثر مطابق با آیین‌نامه مالکیت فکری و معنوی متعلق به دانشگاه شیراز است.

نام و نام خانوادگی: افشین پارسامقدم

تاریخ و امضا:


به نام خدا

بررسی اثرات زیرکشندگی گیاهان روناس و کلپوره بر روی زنبور *Diaeretiella rapae* (McIntosh)
پارازیتوئید شته مومی کلم *Brevicoryne brassicae* (L.)

به کوشش

افشین پارسامقدم

پایان نامه

ارائه شده به معاونت تحصیلات تکمیلی به عنوان بخشی از فعالیت های تحصیلی لازم برای اخذ درجه

کارشناسی ارشد

در رشته‌ی:

حشره شناسی کشاورزی

از دانشگاه شیراز

شیراز

جمهوری اسلامی ایران

ارزیابی و تصویب شده توسط کمیته پایان نامه با درجه: عالی

دکتر محمود عالیچی، استادیار بخش گیاهپزشکی (استاد راهنما)

دکتر حبیب الله حمزه زرقانی، استادیار بخش گیاهپزشکی

دکتر کامبیز مینایی، استادیار بخش گیاهپزشکی

دکتر مریم ال عصفور، استادیار بخش گیاهپزشکی

شهریور ۱۳۹۰

تقدیم به

پدرزرد کوارم

کوشید تا بیاسایم، رنج کشید تا بیارایم،

صبر و بردباریش تکیه گاهم،

وجود و ایمانش افتخارم،

تداوم سایه‌اش آرزویم.

مادر مهربانم

گوهر یگانه دریای خلقت،

مظهر لطافت خدا و جلوه‌گر عشق و صفا،

اسوه صداقت و یگانه سرچشمه جوشان محبت،

تنها مونس‌ی که دعای خیرش بدرقه راهم و توشه تلاشم بوده است.

سپاسگذاری

سپاس و ستایش دانای مطلق را که چراغ معرفت در عالم افروخت و توفیق دانش‌اندوزی و گام نهادن در گذرگاه معرفت را به ما ارزانی داشت. من نیز از آنچه بر من است در ابتدا از اساتید بزرگوار زندگی‌م، **پدر و مادر گرانقدرم** که وجودشان برایم همه لطف و وجودم برایشان همیشه رنج بوده، توانایی‌شان رفته تا به توانایی رسم، مویشان سپیدی گرفته تا رویم سپید بماند، آنانکه فروغ نگاهشان، گرمی کلامشان، روشنی رویشان، سرمایه‌های جاودانی زندگی من است، خالصانه تشکر و قدردانی نموده و در برابر وجود عزیزشان زانوی ادب بر زمین می‌نهم و با دلی مالامال از عشق و محبت بر دستانشان بوسه می‌زنم.

از استاد اندیشمند و فرزانه‌ام، **دکتر محمود عالیچی** که در تمامی مراحل پایان نامه همواره از راهنمایی‌های ارزنده ایشان بهره‌مند بوده و من موفقیت خود را مرهون الطاف ایشان می‌دانم صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایم.

از اساتید مشاور محترم، **دکتر حبیب الله حمزه‌زرقانی**، **دکتر کامبیز مینایی** و **دکتر مریم آل‌عصفور** به خاطر راهنمایی‌ها و همکاری‌های بی‌شائبه‌شان کمال تشکر را دارم.

از استاد ارجمندم، **دکتر محمدعلی اکرمی** و سایر اساتید محترم بخش گیاهپزشکی دانشکاه شیراز صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایم. از تمامی دانشجویان و کارمندان بخش گیاهپزشکی دانشگاه شیراز که هر کدام به نحوی در انجام این تحقیق مرا یاری دادند صمیمانه تشکر می‌کنم. همچنین از **دکتر محمد قدمیاری**، عضو هیات علمی دانشگاه گیلان و آقای **مهندس کاربر**، تکنسین محترم اداره حفظ نباتات شیراز که در انجام قسمتی از این تحقیق مرا یاری دادند سپاسگزاری می‌کنم. از خانم **فرجی**، برای تمام همفکری‌ها و همدلی‌هایشان که همواره با راهنمایی‌ها و کمک‌های ارزنده خود یاور بنده بوده‌اند با قلم نارسا و زبان قاصر صمیمانه سپاسگذاری می‌کنم. همچنین از دوستان عزیزم آقایان **حجت و فیضی** که در انجام این تحقیق مرا یاری نمودند کمال تشکر و سپاسگزاری را دارم.

در پایان از کلیه عزیزانی که همواره مرا مرهون عنایات و الطاف خود داشته قدردانی نموده، تندرستی و بهروزی روز افزونشان را در گذرگاه زمان از خداوند متعال مسألت دارم.

چکیده

بررسی اثرات زیرکشندگی گیاهان روناس و کلپوره بر روی زنبور *Diaeretiella rapae* (McIntosh)، پارازیتوئید شته مومی کلم (*Brevicoryne brassicae* (L.))

توسط:

افشین پارسامقدم

تحقیق کنونی برای بررسی امکان تلفیق کنترل بیولوژیک شته *Brevicoryne brassicae* بوسیله زنبور پارازیتوئید *Diaeretiella rapae* با دو عصاره گیاهی (کلپوره و روناس) انجام شد. اثر این عصاره‌ها هم روی شته و هم روی زنبور مورد بررسی قرار گرفت و دزهای کشنده برای آنها محاسبه شد. آزمایش های زیست سنجی در شرایط دمایی 25 ± 1 درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی 70 ± 5 درصد و دوره نوری 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی توسط یک دستگاه برج سم پاش انجام شد. نتایج نشان داد که تیمار روناس برای شته و کلپوره برای زنبور به ترتیب دارای حداکثر و حداقل اثرات سمیت: $LC_{50}=295.80 \mu\text{l/ml}$ ، $LC_{50}=431.19 \mu\text{l/ml}$ بودند. علاوه بر آن اثر دز زیرکشنده این عصاره‌های گیاهی روی پارامترهای بیولوژیکی و پاسخ‌های رفتاری زنبور *D. rapae* بررسی شد. پارازیتوئیدهای ماده که در معرض LC_{25} عصاره کلپوره قرار گرفتند بطور قابل توجهی نسبت به گروه شاهد شته‌های کمتری را پارازیته نمودند، در حالیکه درصد خروج زنبور از شته‌ها و نسبت جنسی نسل نو ظهور در اثر زنبورهای تیمار شده با هر دو عصاره با گروه شاهد تفاوت معنی داری نشان نداد. هر دو عصاره گیاهی طول عمر زنبورهای ماده را بطور معنی داری نسبت شاهد کاهش دادند. اثر دز زیرکشنده هر کدام از عصاره های ذکر شده روی جذب زنبورهای ماده به برگ‌های کلزای آلوده به شته مومی در یک دستگاه بویایی سنج با دو بازوی باز مورد بررسی قرار گرفت نتایج نشان داد که عصاره ها نتوانستند اختلالی در جذب زنبورهای ماده به سمت میزبان ایجاد کنند، بر اساس این نتایج پیامدهای ناشی از کاربرد عصاره های کلپوره و روناس در مزارع کلزا و نیز کارایی زنبور *D. rapae* در چنین مزارعی مورد بحث و بررسی قرار گرفت.

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
1.....	فصل اول: مقدمه
6.....	فصل دوم: مروری بر تحقیقات پیشین
6.....	1-2- شته مومی کلم
6.....	1-1-2- معرفی شته مومی کلم
7.....	2-1-2- پراکندگی
9.....	3-1-2- مرفولوژی
10.....	4-1-2- بیولوژی
11.....	2-2- زنبور پارازیتوئید <i>Diaeretiella rapae</i>
11.....	1-2-2- معرفی زنبور <i>Diaeretiella rapae</i>
12.....	2-2-2- شکل شناسی
13.....	3-2-2- پراکندگی
14.....	4-2-2- زیست شناسی و میزبان ها
14.....	3-2- کلزا
15.....	4-2- زیست سنجی یا <i>Bioassay</i>
16.....	1-4-2- اصول زیست سنجی
17.....	2-4-2- تکنیکهای زیست سنجی
18.....	1-2-4-2- کاربرد مستقیم
19.....	2-2-4-2- کاربرد غیرمستقیم

20	3-2-4-2- ترکیب روشهای مستقیم و غیرمستقیم
20	4-4-2- عوامل موثر بر دقت آزمایشهای زیست سنجی
21	5-2- عصاره های گیاهی
22	6-2- اثرات زیرکشندگی آفت کش ها.....
32	فصل سوم: مواد و روش ها.....
32	1-3- کلنی شته
33	1-1-3- هم سن سازی شته ها.....
33	2-3- کلنی دشمن طبیعی
35	1-2-3- هم سن سازی زنبورها.....
36	3-3- تهیه ی عصاره های گیاهی
38	4-3- آزمایش های زیست سنجی
38	1-4-3- تعیین حلال مناسب
39	2-4-3- تعیین غلظت مناسب
44	3-4-3- زیست سنجی حشرات با عصاره روناس
44	4-4-3- زیست سنجی حشرات با عصاره ی کلپوره
46	5-3- بررسی دز زیر کشنده ی عصاره ها.....
46	1-5-3- باروری زنبورها:.....
47	2-5-3- طول عمر زنبورهای بالغ
47	3-5-3- بررسی رفتار میزبان یابی زنبورهای ماده
51	فصل چهارم: نتایج
51	1-4- آزمایش های زیست سنجی
51	1-1-4- تعیین حلال مناسب برای عصاره ها.....

51	4-1-2- آزمایش های مقدماتی
55	4-1-3- آزمایش های اصلی زیست سنجی
55	4-1-3-1- بررسی اثرات کشندگی عصاره کلپوره روی شته <i>B. brassicae</i>
59	4-1-3-2- بررسی اثرات کشندگی عصاره روناس روی شته <i>B. brassicae</i>
60	4-1-3-3- بررسی اثرات کشندگی عصاره کلپوره روی زنبور <i>D. rapae</i>
62	4-1-3-4- بررسی اثرات کشندگی عصاره روناس روی زنبور <i>D. rapae</i>
	4-2- بررسی دز زیرکشنده (LC ₂₅) عصاره ها روی بیولوژی و رفتار میزبان یابی زنبور <i>D. rapae</i>
64	4-2-1- تاثیر دز زیرکشنده عصاره های روناس و کلپوره روی طول عمر زنبور <i>D. rapae</i>
66	4-2-2- تاثیر دز زیرکشنده عصاره های روناس و کلپوره روی باروری زنبور <i>D. rapae</i>
67	4-2-3- تاثیر دز زیرکشنده عصاره های روناس و کلپوره روی ظهور زنبورهای بالغ <i>D. rapae</i>
68	4-2-4- بررسی اثر دز زیرکشنده عصاره های روناس و کلپوره روی نرخ جنسی زنبورهای <i>B. brassicae</i> از شته های پارازیت شده
69	4-2-5- بررسی تاثیر دز زیرکشنده عصاره های روناس و کلپوره روی رفتار میزبان یابی زنبورهای ماده
70	فصل پنجم: بحث

72.....

فهرست منابع و مآخذ

78.....منابع

فهرست جدول ها

صفحه	عنوان
52	جدول 1-4 درصد تلفات اصلاح شده از اثر عصاره های گیاهی بر شته مومی کلم 52
53	جدول 2-4 درصد تلفات اصلاح شده از اثر عصاره های گیاهی بر زنبور <i>D. rapae</i> 53
54	جدول 3-4 میانگین درصد تلفات اصلاح شده حشرات کامل شته مومی کلم ناشی از اثر عصاره ها در غلظت 800 میکرولیتر بر میلی لیتر در آزمایشگاه 54
54	جدول 4-4 میانگین درصد تلفات اصلاح شده حشرات کامل زنبور <i>D. rapae</i> ناشی از اثر عصاره ها در غلظت 800 میکرولیتر بر میلی لیتر در آزمایشگاه 54
56	جدول 5-4 دز بالا و دز پایین به همراه سه غلظت بدست آمده در بین آنها بصورت فاصله های لگاریتمی که برای تعیین دزهای کشنده استفاده گردیدند 56
57	جدول 6-4 عکس العمل حشرات کامل شته <i>B. brassicae</i> نسبت به عصاره ی کلپوره و محاسبه دزهای کشنده 25، 50، 70 و 90 درصد 57
60	جدول 7-4 عکس العمل حشرات کامل شته <i>B. brassicae</i> نسبت به عصاره ی روناس و محاسبه دزهای کشنده 25، 50، 70 و 90 درصد 60
62	جدول 8-4 عکس العمل حشرات کامل شته <i>D. rapae</i> نسبت به عصاره ی کلپوره و محاسبه دزهای کشنده 25، 50، 70 و 90 درصد 62
64	جدول 9-4 عکس العمل حشرات کامل شته <i>D. rapae</i> نسبت به عصاره ی روناس و محاسبه دزهای کشنده 25، 50، 70 و 90 درصد 64

صفحه

عنوان

جدول 10-4 مقایسه LC_{50} عصاره های روناس و کلیپوره روی شته مومی کلم و زنبور <i>D.</i>	
65	<i>rapae</i>
جدول 11-4 تجزیه واریانس مربوط به آزمایش های بویایی سنجی	۷۰

فهرست شکل ها و نمودارها

صفحه	عنوان
8	شکل 1-2 پراکنش شته مومی کلم <i>Brevicoryne brassicae</i>
9	شکل 2-2 مشخصات مرفولوژیکی شته مومی کلم <i>Brevicoryne brassicae</i>
11	شکل 3-2 سیکل زندگی شته مومی کلم <i>Brevicoryne brassicae</i>
13	شکل 4-2 مشخصات مرفولوژیکی زنبور <i>Diaeretiella rapae</i>
32	شکل 1-3 مزارع کلزای آلوده به شته مومی کلم در شهرستان اقلید.....
33	شکل 2-3 گیاهان کلزا در مرحله چهار برگی برای ایجاد کلنی.....
34	شکل 3-3 قفس های استفاده شده برای پرورش زنبور <i>Diaeretiella rapae</i>
35	شکل 4-3 قفس های استفاده شده برای پرورش زنبور <i>Diaeretiella rapae</i>
37	شکل 5-3 آسیاب برقی استفاده شده برای پودر کردن گیاهان روناس و کلیپوره.....
37	شکل 6-3 مگنستایر مورد استفاده جهت عصاره گیری.....
38	شکل 7-3 دستگاه روتاری مورد استفاده برای عصاره گیری.....
42	شکل 8-3 دستگاه Potter spray tower مورد استفاده در آزمایشهای زیست سنج.....
43	شکل 9-3 اسپراتور مورد استفاده جهت انتقال زنبورهای <i>D. rapae</i>
43	شکل 10-3 پتری دیش های استفاده شده در آزمایش های زیست سنجی.....
45	شکل 11-3 اتاقک رشد مورد استفاده در آزمایشهای زیست سنجی.....

- شکل 3-12 دستگاه بویایی سنج استفاده شده در آزمایش های رفتاری زنبور *D. rapae* 49
- نمودار 4-1 خط دز- پاسخ حشرات کامل شته *B. brassicae* نسبت به عصاره کلپوره 58
- نمودار 4-2 خط دز- پاسخ حشرات کامل شته *B. brassicae* نسبت به عصاره روناس 59
- نمودار 4-3 خط دز- پاسخ حشرات کامل زنبور *D. rapae* نسبت به عصاره کلپوره 61
- نمودار 4-4 خط دز- پاسخ حشرات کامل زنبور *D. rapae* نسبت به عصاره روناس 63
- نمودار 4-5 میزان طول عمر زنبورهای ماده ی تیمار شده با دز زیرکشنده عصاره های روناس و کلپوره 66
- نمودار 4-6 درصد شته های پارازیته شده توسط زنبورهای ماده تیمار شده با دز زیرکشنده عصاره های روناس و کلپوره 67
- نمودار 4-7 تعداد زنبورهای خارج شده از شته های پارازیته شده توسط زنبورهای ماده تیمار شده با دز زیرکشنده عصاره های روناس و کلپوره 68
- نمودار 4-8 نرخ جنسی (درصد افراد ماده) در نسل جدید زنبورهای تیمار شده با عصاره های روناس و کلپوره 69

فصل اول

مقدمه

شته مومی کلم (*Brevicoryne brassicae*) که به شته کلزا نیز معروف است، یکی از مهمترین آفات گیاهان خانواده چلیپاییان بوده و باعث ایجاد خسارت مستقیم از طریق تغذیه از شیره گیاهی، و خسارت غیر مستقیم به وسیله انتقال ویروسهای بیماری زای گیاهی مختلف می گردد (Dubey et al., 1981 و Costello and Altieri, 1995 و Blackman and Eastop, 2000 و Schielphake et al., 2000). این شته در بسیاری از نقاط جهان روی محصولات مختلف بویژه کلم خسارت وارد می کند. در ایران نیز در اغلب نواحی به ویژه در مناطق شمالی و مرکزی کشور فعالیت دارد. این آفت در ایران برای اولین بار در سال 1317 گزارش شده و در تمام نواحی کشور بر روی انواع کلم، شلغم، تربچه و چلیپاییان وحشی انتشار دارد (افشار، 1317). این آفت، هر چند روی کلزا به شدت خسارت زای است ولی کلم معمولی، گل کلم و کلم بروکسل را به سایر ارقام کلم ترجیح می دهد (خانجانی، 1383).

با توجه به اینکه محصولات نظیر کلم به طور مستقیم مورد استفاده انسان قرار می گیرند، باید به باقیمانده سموم موجود بر روی آنها، توجه خاصی مبذول گردد. با توجه به این مطلب و نیز افزایش روز افزون هزینه های سم پاشی و مخرب بودن آنها از نظر محیط زیست، می توان از روش کنترل بیولوژیک به عنوان یکی از روشهای جایگزین مناسب استفاده نمود (Flickinger et al., 1991).

پارازیتوئید مهم شته های گیاهان خانواده چلیپاییان، زنبور *Diarretiella rapae* (Mcintosh) از خانواده Aphidiidae می باشد. شته مومی کلم میزبان مطلوب این پارازیتوئید می باشد (Hafez, 1961). این زنبور زمانیکه شته مومی کلم در دسترس نباشد می تواند دیگر گونه های شته ها را نیز پارازیته کند (Nemec and Stary, 1984).

طیف وسیعی از آفت کش ها برای بسیاری از دشمنان طبیعی مضر می باشند (Croft, 1990). همواره مزارع کلم نیاز به حمایت از دشمنان طبیعی در احساس شده است زیرا این موجودات مفید در کنترل بسیاری دیگر از گونه های آفات نیز نقش دارند (Croft, 1990). به دلیل باقی ماندن بقایای سموم روی محصولات و خطراتی که برای سلامتی مصرف کنندگان در اثر استفاده از حشره کشها ایجاد می شود، جایگزینی این روش مبارزه با روشهای مبارزه سالم تر امری اجتناب ناپذیر است. گیاهان منبع غنی ترکیباتی هستند که دارای خواص حشره کشی اند (Arnason et al., 1989). شواهدی وجود دارند که نشان می دهد متابولیت های ثانویه گیاهی به جهت حمایت گیاه در مقابل حشرات و پاتوژنهای میکروبی در روند تکامل گیاه شکل گرفته اند (Benner, 1993).

اسانس های گیاهی حامل طیف وسیعی از متابولیت های ثانویه فرار هستند که در روابط متقابل گیاه و حشره نقش مهمی دارند. تحقیقات نشان می دهد که قسمت عمده اسانس گیاهان را ترپنوئیدها¹ به خصوص مونوترپنوئیدها² و سسکوئیتروپنوئیدها³ تشکیل می دهند که اثرات حشره-کشی و دورکنندگی قابل توجهی دارند (شاکرمی و همکاران، 1383).

با توجه به ناگزیر بودن بشر در استفاده از مواد شیمیایی آفت کش، حشره کشهای گیاهی به جهت داشتن خصوصیات نظیر کمترین تأثیر روی دشمنان طبیعی، عدم ایجاد گیاه سوزی، حداقل سمیت روی مهره داران و تجزیه سریع در محیط که مهمترین مزایای این نوع حشره کش هاست می توانند تا حدی جایگزین حشره کشهای مصنوعی گردند (Isman, 1996). تدوین یک برنامه مدیریتی مناسب و بر اساس روش های کنترل تلفیقی وابسته به مطالعات منطقه ای از بیواکولوژی آفات و دشمنان طبیعی آن ها می باشد (Morgan et al., 2001).

خیلی از دشمنان طبیعی حشرات گیاه خوار را زنبورها تشکیل می دهند که اکثراً در مرحله لاروی پارازیت بوده و باعث مرگ میزبان خود می شوند. از این طریق اینها می توانند باعث کاهش خسارت و در برخی مواقع باعث جلوگیری از طغیان یک آفت بخصوص شوند (Van Drische and Bellows, 1996). در بین عوامل مرگ و میر پارازیتوئیدها باعث ایجاد بیشترین مرگ و میر در حشرات هستند (Hawkins et al., 1997). پارازیتوئیدها چه بطور

¹ Terpenoids

² Monoterpenoids

³ sesquiterpenoids

مستقیم (Jepson, 1989) و چه در هنگام برخورد با باقیمانده سموم، در زمان جستجو برای یافتن میزبان ممکن است در معرض آنها قرار بگیرند (Jepson, 1989., Longley and Jepson, 1996). پارازیتوئیدها قسمت عمده زندگی خود را صرف جستجو برای یافتن میزبان می کنند و به سمت بوی میزبان و بوی گیاه کشیده می شوند (Vinson, 1998). با توجه به اینکه در این میان حس بویایی نقش مهمی ایفا می کند، این حس می تواند تحت تاثیر سموم قرار گرفته و در آن تداخل ایجاد گردد که بسته به مکانیزم عمل سم و میزان در معرض قرارگیری است (Salgado, 1997).

اهداف:

- 1- تعیین مقدار دزهای کشنده و زیر کشنده عصاره های روناس و کلیپوره
- 2- تعیین اثر این عصاره های گیاهی بر روی شته مومی کلم و زنبور *Diaeretiella rapae*
- 3- بررسی اثرات جانبی این عصاره ها در رفتار میزبان یابی و بیولوژی زنبور *D. rapae*
- 4- بررسی امکان تلفیق کنترل بیولوژیک شته مومی کلم توسط زنبور *D. rapae* با عصاره های ذکر شده

فصل دوم