

بررسی آزمایشگاهی بیماری‌گری و تولید آنزیم دو جدایه قارچ *Metarhizium anisopliae* Metchnikov روی سن گندم
Eurygaster integriceps Puton (Hem: Scutelleridae)

مهدی ترک، علیرضا بندانی، غلامرضا رسولیان و مرجان سیدی

کرج- دانشکده کشاورزی - گروه گیاهپزشکی

سن گندم (*Eurygaster integriceps* Puton (Hem: Scutelleridae) مهمترین آفت مزارع گندم و جو در خاورمیانه است. در ایران نیز بعنوان آفت کلیدی خسارت قابل ملاحظه‌ای به محصول گندم و جو وارد می‌کند. سمپاشیهایی که علیه این آفت صورت می‌گیرد نه تنها باعث آلودگی‌های محیط زیست بلکه باعث آلودگی‌های مواد غذایی هم می‌شود بنا براین استفاده از قارچهای بیماریزای حشرات در مدیریت این آفت میتواند موجب کاهش استفاده از سموم شود. قارچ *Metarhizium anisopliae* Metchnikov یکی از مهمترین قارچ‌های مورد استفاده در کنترل بیولوژیک آفات است. لذا هدف از انجام این تحقیق بررسی میزان زهر آگینی و تولید آنزیم دو جدایه 4556 و M 189 این قارچ روی سن گندم بود. قارچها روی محیط کشت SDAY در دمای 25 ± 2 و در شرایط نوری (L:D) ۱۶:۸ کشت داده شدند. بعد از گذشت دو هفته که هاگزایی در آنها اتفاق افتاد هاگها جهت انجام زیست سنجی بصورت غوطه وری مورد استفاده قرار گرفتند. پس از اثبات بیماریزایی و انجام یکسری آزمایشات مقدماتی دزهای لگاریتمی 10^2 ، 10^3 ، 10^4 ، 10^5 ، 10^6 ، 10^7 و 10^8 هاگ بر حشره جهت آزمایش استفاده شدند. در بررسی آنزیمی اسپوره‌های هر دو جدایه در محیط کشت مایع حاوی حداقل مواد غذایی (Minimum media) همراه ۱٪ کوتیکول حشره کشت و برای مدت ۱۰ روز روی شیکر (۱۳۰ دور در دقیقه) قرار داده شد. برای سنجش آنزیمی از سوبسترای اختصاصی Suc - Ala - Ala - Pro - Phe - pNA استفاده شد. مقایسه دزهای کشندگی ۵۰ درصد نشان داد که جدایه 4556 دارای LC_{50} معادل با 3.38×10^5 هاگ بر حشره بود در صورتیکه جدایه M189 دارای LC_{50} برابر با 7.70×10^5 بود. لذا جدایه 4556 دارای زهر آگینی بیشتری نسبت به جدایه M 189 بود. مطالعات سنجش آنزیمی نشان داد که تولید آنزیم هم در جدایه 4556 از جدایه M 189 بیشتر بود. بنابراین یک ارتباط نسبی بین تولید آنزیم پروتیناز و زهر آگینی جدایه وجود دارد.

Laboratory study of pathogenicity and protease production of two isolate of *Metarhizium anisopliae* Metch. on *Eurygaster integriceps* Puton (Hem: Scutelleridae)

Mehdi Tork, A. R. Bandani, Gh. Rassouljan and M. Sayedi
Plant Protection Department, Faculty of Agriculture, Karaj, Iran

Sunn pest *Eurygaster integriceps* (Hem: Scutelleridae) is the major pest of wheat and barley in the Middle East. In Iran Sunn pest is a key pest which cause serious damage to wheat and barley. Chemical pesticides used against this pest not only create environmental contamination but produce food stuff contamination, too. Therefore, in order to reduce pesticide use entomopathogenic fungi can be used in the pest management procedures. *Metarhizium anisopliae* Metch. is one of the most important fungi which are used in biological control of insect pests. So, the aim of the current study is to investigate virulence and enzyme production of two isolates including 4556 and M189 of *M. anisopliae* on Sunn pest. Fungi were cultured on SDAY and maintained at 25 ± 2 °C and photoperiod of 16: 8 (L:D). After two weeks which sporulation occurred spores were taken and used for bioassay. Dipping method was used in bioassays. After determination of pathogenicity, logarithmic doses including 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 and 1×10^8 spore/insect were prepared.

To study enzyme production, both isolate spores were separately cultured in minimum media with 1% insect cuticle and left in shaker (130 rpm) for 10 days at 25 ± 2 °C. Protease activity was measured using Suc - Ala - Ala - Pro - Phe - pNA as substrate.

Comparison between LC_{50} of these isolates showed that 4556 isolate had LC_{50} of 3.38×10^5 whereas M189 isolate had LC_{50} 7.70×10^5 . As can be seen 4556 isolate was more virulence than M 189 isolate. Enzyme assays showed that enzyme production in 4556 isolate was more than M198 isolate. Therefore, there is a relative relationship between enzyme production and virulence.