Saffron Agronomy & Technology
Homepage: http://saffron.torbath.ac.ir
Vol. 12, No. 2, Summer 2024, p. 195-209

Collection and Identification of Pathogenic Fungal Isolates of Saffron Bulb Mite *Rhizoglyphus robini* Claparède (Acari: Acaridae) in Torbat-Heydarieh County of Razavi Khorasan province

Manizheh Kalali-nia[1], Ali Derakhshan Shadmehri[2], Mohammad Nateq Golestan[3*] and Mansour Salati[4]

Article type:
Research Article
Article history:
Submitted: 23 January 2024
Revised: 13 April 2024
Accepted: 22 August 2024
Available Online: 22 August 2024

How to cite this article:
Kalali-nia, M., Derakhshan Shadmehri, A., Nateq Golestan, M., and Salati, M. 2024. Collection and Identification of Pathogenic Fungal Isolates of Saffron Bulb Mite *Rhizoglyphus robini* Claparède (Acari: Acaridae) in Torbat-Heydarieh County of Razavi Khorasan province. Saffron Agronomy & Technology, 12(2), 195-209.
DOI: 10.22048/jsat.2024.437335.1520

Abstract

The saffron bulb mite (*Rhizoglyphus robini* Claparède) is considered a serious threat in saffron cultivation areas in Iran. This soil-borne mite stunts the growth of saffron plants, causes yellowing, and eventually destroys the corms. Due to the significance of this strategic product and its medicinal and export aspects, it is impossible to register any synthetic chemical compounds against pests and diseases of this plant in the country. Therefore, finding non-chemical and based on natural substances methods for the control of this pest is necessary. In this research the use of mite-pathogenic fungi is considered a promising approach for controlling this pest. To isolate and identify these fungi, soil samples were collected from saffron farms in 32 regions of Torbat-Heydarieh County in Khorasan Razavi province in 2022 and 2023. Overall, 55 fungal isolates related to eight genera were obtained and among them, 26 isolates could colonize the mites. The potent isolates that killed mites and caused at least 50 percent mortality after 10 days, were compared statistically. The results showed that on the 10th day, the effect of *Metarhizium* sp. isolate M-Kh and *Cordyceps* sp. isolate Co-TZ on mite mortality was 100 percent which was higher than other fungi, but, their difference with some isolates belonged to *Beauveria* sp. was insignificant ($P<0.05$). The mite colonization percentage of M-Kh isolate was 100 percent and significantly higher than other fungi ($P<0.05$). *Cladosporium* sp., *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., *Fusarium* spp., and *Mucor* spp. also caused the death of mites, but their effect was insignificant. Based on available information, this is the first report of the pathogenicity of the mentioned fungal genes against the saffron bulb mite in Iran. According to this study's results, these selected fungi can be used as biological control agents to protect saffron corms against mites.

Keywords: Acaropathogenic fungi, *Beauveria* spp., biological control, *Cordyceps* sp., *Metarhizium* sp.

1- MSc. Entomology Student, Department of Plant Production, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Sahrood, Iran
2 -Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Sahrood, Iran.
3 - Assistant Professor, Plant Protection Research Department, Iranian Research Institute of Plant Protection, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran
4 -Assistant Professor, Plant Protection Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran.
Corresponding author: Nateq1215@yahoo.com

© 2022, University of Torbat Heydarieh. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial License (CC BY NC 4.0)
(http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0).

نشریه زراعت و فناوری زعفران
جلد۱۲، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۳ ص. ۹۶-۸۱
Homepage: http://saffron.torbath.ac.ir

مقاله پژوهشی

جمع‌آوری و شناسایی جدایه‌های قارچی بیمارگر کنه بنه زعفران *Rhizoglyphus robini* Claparède (Acari: Acaridae) شهرستان تربت حیدریه استان خراسان‌رضوی

منیژه کلالی نیا[۱]، علی درخشان شادمهری[۲]، محمد ناطق گلستان[۳]* و منصور صلاتی[۴]

تاریخ دریافت: ۳ بهمن ۱۴۰۲
تاریخ بازنگری: ۲۵ فروردین ۱۴۰۳
تاریخ پذیرش: ۱ شهریور ۱۴۰۳

کلالی نیا، م.، درخشان شادمهری، ع.، ناطق گلستان، م.، و صلاتی، م. ۱۴۰۳. جمع‌آوری و شناسایی جدایه‌های قارچی بیمارگر کنه بنه زعفران *Rhizoglyphus robini* Claparède (Acari: Acaridae) شهرستان تربت حیدریه استان خراسان‌رضوی، زراعت و فناوری زعفران، ۱۲(۲): ۲۰۹-۱۹۵.

چکیده

کنه بنه زعفران (*Rhizoglyphus robini* Claparède) به‌عنوان یک تهدید جدی در مناطق کشت زعفران در ایران مطرح می‌باشد. این کنه خاکزی، باعث کاهش رشد و زردی بوته‌های زعفران و در نهایت تخریب پیازها می‌گردد. به دلیل اهمیت راهبردی زعفران به‌ویژه از جنبه دارویی و صادراتی بودن آن، امکان ثبت ترکیبات شیمیایی مصنوعی علیه آفات و بیماری‌های این گیاه در کشور وجود ندارد. لذا یافتن روش‌های غیرشیمیایی و مبتنی بر مواد طبیعی برای کنترل این آفت ضروری است. در این تحقیق قارچ‌های بیمارگر به عنوان رهیافتی امیدبخش برای کنترل این کنه مورد استفاده قرار گرفتند. به منظور جمع‌آوری و شناسایی این قارچ‌ها، در سال‌های ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ از مزارع زعفران ۳۲ منطقه از شهرستان تربت‌حیدریه در استان خراسان‌رضوی، نمونه برداری انجام شد. در مجموع، ۵۵ جدایه قارچی مربوط به هشت جنس جداسازی گردیدند که از میان آنها ۲۶ جدایه توانستند کنه‌ها را کلونیزه نمایند. جدایه‌هایی که قدرت بالایی در کشندگی کنه داشتند و بعد از ۱۰ روز حداقل ۵۰ درصد مرگ‌ومیر ایجاد کردند، مورد مقایسه آماری قرار گرفتند. نتایج نشان دادند که در روز دهم جدایه M-Kh قارچ *Metarhizium* sp. و جدایه Co-TZ قارچ *Cordyceps* sp.، ۱۰۰ درصد مرگ‌ومیر در کنه ایجاد کردند که بیشتر از بقیه قارچ‌ها بودند اما با تعدادی از جدایه‌های قارچ *Beauveria* sp.، اختلاف معنی‌داری نداشتند ($p<0/05$). درصد کلونیزاسیون کنه تیمارشده با جدایه M-Kh، ۱۰۰ درصد بود و با بقیه قارچ‌ها به طور معنی‌داری اختلاف داشت ($p<0/05$). جدایه‌های قارچ‌های *Cladosporium* sp.، *Aspergillus* spp.، *Penicillium* spp.، *Fusarium* spp. و *Mucor* spp. نیز اگرچه باعث مرگ‌ومیر در کنه مورد مطالعه گردیدند اما اثر آنها معنی‌دار نبود. بر اساس اطلاعات موجود، این اولین گزارش از بیماری‌زایی جنس‌های قارچی مذکور علیه کنه زعفران در ایران محسوب می‌شود. با توجه به نتایج بدست آمده، جدایه‌های قارچی منتخب می‌توانند به عنوان عوامل مهارگر زیستی برای حفاظت از بنه زعفران علیه این آفت، مورد استفاده قرار گیرند.

کلمات کلیدی: قارچ‌های بیمارگر کنه، مبارزه زیستی، *Beauveria* spp.، *Cordyceps* sp.، *Metarhizium* sp.

۱ – دانشجوی کارشناسی ارشد حشره شناسی کشاورزی، گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران
۲ – استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود، ایران
۳ – استادیار بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران
۴ – استادیار بخش تحقیقات گیاهپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران
(*– نویسنده مسئول: Nateq1215@yahoo.com)

DOI: 10.22048/jsat.2024.437335.1520

مقدمه

گیاه زعفران (*Crocus sativus* L.) متعلق به خانواده زنبق (Iridaceae)، گیاهی پایا با سازگاری‌های اکولوژیک منحصر به فرد است. سطح زیر کشت و تولید زعفران در ایران طبق آخرین آمار موجود در سال ۱۴۰۱ به ترتیب ۱۱۳ هزار و ۲۱۷ هکتار و ۴۰۸ تن بوده که اکثراً به استان‌های خراسان‌رضوی، خراسان‌جنوبی، خراسان‌شمالی، اصفهان، فارس، کرمان و یزد اختصاص داشته است. بر اساس آمار رسمی وزارت جهاد کشاورزی، زعفران در ۳۰ استان کشور کشت می‌شود (Agricultural Statistics, 2023). یکی از چالش‌های تولید زعفران، هجوم آفات، بیماری‌ها و علف‌های هرز است که موجب خسارات قابل توجه کمی و کیفی به این محصول می‌شوند. کنه بنه زعفران (*Rhizoglyphus robini* (Claparede, 1869 از خانواده Acaridae و راسته Sarcoptiformes، از جمله مهم‌ترین عوامل کاهش عملکرد زعفران در کشور است که سالانه خسارات قابل توجهی به این محصول وارد می‌سازد (Zakiaghl et al., 2021).

با توجه به افزایش سطح زیر کشت زعفران در کشور و پتانسیل بالای صادرات و همچنین غیر مجاز بودن استفاده از سموم شیمیایی برای این محصول، نیاز به یافتن جایگزین‌های مناسب سازگار با محیط زیست اجتناب ناپذیر می‌باشد. استفاده از روش آفتاب‌دهی و کاشت زعفران در خرداد سال بعد و بدون آبیاری بعد از کاشت یکی از روش‌های مناسب کنترل این آفت است (Rahimi et al., 2018). قارچ‌های بیمارگر حشرات (EPFs)[1] و کنه‌ها (APFs)[2] نیز گروهی از عوامل مهار زیستی به شمار می‌آیند که به راحتی می‌توان آنها را در مقیاس انبوه تولید کرد (Shahid et al., 2012) و بصورت سازگار با محیط زیست، آفات کشاورزی را بصورت پایدار کنترل نمود. قارچ‌های *Beauveria* (*Isaria*)، *Cordyceps*، *Hirsutella*، *Metarhizium* و *Nomuraea* مثال‌هایی از این عوامل زیستی هستند که بیشتر مورد توجه قرار گرفته‌اند (Humber, 2012). به طور خاص، محققان اثر قارچ‌های *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin، *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch، *Isaria fumosorosea* Wize، *Metarhizium indigoticum* (Kobayasi & Shimizu) Kepler, S.A. Rehner & Humber، *M. anisopliae* (Metschn.) Sorokin، *M. brunneum* Petch (Konopická et al., 2021)، *M. pinghaense* Chen & Guo، *M. pemphigi* (Driver & Milner) Kepler, Humber & Rehner (Ko et al., 2021)، *Aspergillus terreus* Thom، *A. flavus* Link، *Myrothecium advena* Sacc. و *Penicillium crustostum* Thom (Mohamed et al., 2023) را علیه کنه‌های بنه زعفران *R. robini* مورد بررسی قرار دادند. با توجه به نتایج محققان، جدایه‌های مربوط به جنس Metarhizium به عنوان قوی‌ترین قارچ‌ها از نظر بیماری‌زایی روی کنه گزارش شده‌اند.

گسترش مناطق کشت زعفران به عرض‌های جغرافیایی شمالی‌تر در استان و کشور، باعث می‌شود این آفت به همراه بنه‌های آلوده زعفران به آن مناطق نیز منتقل شده و باعث آلودگی خاک‌های مناطق جدید گردد. به همین منظور تهیه و تولید بنه گواهی‌شده و سالم زعفران یکی از مهم‌ترین اولویت‌های این تحقیق می‌باشد که با شناسایی عوامل بیمارگر کنه بنه زعفران که بتوانند بطور مؤثر در مهار زیستی این آفت مورد استفاده قرار گیرند، می‌توان در این مسیر اقدام نمود.

1- Entomopathogenic fungi
2- Acaropathogenic fungi

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری کنه زعفران و پرورش آنها

برای جمع‌آوری کنه، در سال ۱۴۰۱ حداقل ۲۰ عدد پیاز دارای علایم آلودگی (کم‌رنگ شدن گلبرگ‌ها، ریز شدن کلاله، ظریف و ضعیف شدن برگ‌ها، کوتاه شدن گیاه و خزان زودرس) از چند مزرعه زعفران در شهرستان تربت‌حیدریه به روش خشک‌کن (خارج کردن پیاز از زمینی که قبلاً آبیاری نشده باشد و خاک مزرعه اصطلاحاً خشک باشد) از خاک خارج و در داخل کیسه پلاستیکی مشکی به آزمایشگاه منتقل شدند. با استفاده از بینوکولار و قلم موی نرم کنه‌ها از داخل حفرات موجود در بنه، جداسازی شدند. حداقل ۱۰ عدد کنه از افراد جمعیت، به اسید لاکتیک انتقال یافتند. شناسایی این کنه، پس از تهیه اسلاید میکروسکوپی، به کمک کلیدها و مقالات انجام شد (Bu & Li, 1998؛ Fan & Zhang, 2003). جهت تکثیر این آفت، کنه‌های زعفران پس از جداسازی از بنه‌های آلوده به ظروف پتری ۱۰ سانتی‌متری دارای محیط آب‌آگار[1](WA) ۱/۵ درصد منتقل گردید. برای تشکیل پرگنه اولیه، در هر پتری حداقل ۵۰ عدد کنه قرار داده شد. درون ظروف پتری مقداری بادام‌زمینی خرد شده نیز اضافه گردید و در دمای ۲ ± ۲۵ درجه سلسیوس داخل انکوباتور در شرایط تاریکی مطلق قرار گرفتند. جهت حفظ رطوبت پرگنه هر دو هفته یک‌بار، مقداری آب به محیط پرورش اضافه گردید (Konopická et al., 2021).

جمع‌آوری خاک مزارع زعفران

جهت جداسازی قارچ‌های بیمارگر، در سال‌های ۱۴۰۱ و ۱۴۰۲ نمونه‌برداری از خاک اطراف بوته‌های زعفران ۳۲ منطقه واقع در شهرستان تربت‌حیدریه شامل: بایگ، جلگه‌رخ (شش منطقه شامل جلگه‌رخ، روستاهای جوادیه، رودخانه، درخت‌سنجد، گرماب، سربالا و خرم)، تربت‌حیدریه (چهار منطقه شامل تربت‌حیدریه، روستاهای سیوکی، تربت‌موسوی و آبرود)، رشتخوار، زاوه (پنج منطقه شامل زاوه، روستاهای صفی‌آباد، پطرو، دولت‌آباد و شهن‌آباد)، کدکن (نه منطقه شامل کدکن سرزمین، تلخ‌پخش، منصوریه، فرارو، دافی، خوش‌هوا، نصرت‌آباد، اسفیز، عبدآباد)، فیض آباد (دو منطقه فیض‌آباد و دوغ‌آباد)، خواف (دو منطقه خواف و روستای چمن‌آباد) و رباط سنگ، انجام شد. حداقل ۲۰۰ گرم از خاک اطراف بنه زعفران (موجود در عمق ۱۵ تا ۲۵ سانتی‌متر به عنوان عمق معمول کشت بنه) هر منطقه برداشته شد و داخل کیسه پلاستیکی مشکی به آزمایشگاه منتقل شد.

طعمه‌گذاری لاروهای میلورم

خاک‌های جمع‌آوری شده از مزارع زعفران الک شده و به داخل ظروف درب‌دار منتقل و مجدداً کمی مرطوب شدند. درون هر ظرف ۱۰ عدد لارو میلورم (*Tenebrio molitor* L.) (تهیه شده از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی) به‌عنوان طعمه اضافه گردید و دو هفته در دمای ۳±۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. به منظور تماس بیشتر خاک با لاروها، ظروف روزانه برگردانده شدند. حداکثر تا هفته دوم، لاشه لاروهای مرده جدا و پس از سه دقیقه ضدعفونی در محلول هیپوکلریت سدیم یک درصد، سه مرتبه با آب مقطر سترون شستشو گردیدند. لاروها سپس به ظروف‌پتری ۱۰ سانتی‌متری دارای کاغذ صافی مرطوب منتقل شدند و به مدت یک هفته در دمای ۱ ± ۲۵ درجه سلسیوس داخل دسیکاتور با رطوبت نسبی ۱۰۰ درصد قرار گرفتند تا رشد قارچ تسهیل گردد (Sharma et al., 2018). هر کدام از قارچ‌های بیمارگر مشخص شده، ابتدا در محیط کشت سیب‌زمینی–دکستروز–آگار (PDA) (Ibresco, Iran) کشت داده شدند. سپس در محیط آب‌آگار اقدام به تک اسپور نمودن جدایه‌های قارچی گردید. بر اساس اصول کخ[2]، جهت اطمینان از بیماری‌زا بودن جدایه‌های

1- Water agar

2- Koch's postulates

قارچی به دست‌آمده، بیماری‌زایی همه جدایه‌ها علیه لارو میلورم مجدداً بررسی شد.

شناسایی قارچ‌های جداسازی‌شده

شناسایی قارچ‌های به‌دست‌آمده بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی پرگنه‌ها (شامل سرعت رشد، بافت، رنگ، ویژگی‌های سطحی) و خصوصیات میکروسکوپی به کمک کلیدهای شناسایی در سطح جنس انجام شد (Ghazavi et al., 2005؛ Humber, 2012).

تهیه سوسپانسیون از قارچ‌های بیمارگر

تمام جدایه‌ها روی محیط PDA در دمای ۱ ± ۲۵ درجه سلسیوس رشد یافتند. بعد از ۱۰ روز از زمان کشت، به کمک لوپ سترون سطح محیط کشت قارچ‌ها خراش داده شد و اسپورها به درون فالکون‌های حاوی آب مقطر سترون و توین[1] ۸۰ با غلظت ۰/۰۵ درصد منتقل گردیدند. به جهت همگن‌سازی، سوسپانسیون به مدت پنج دقیقه تکان داده شد. برای جداسازی اندام‌های زایشی و رویشی، محلول از گاز سترون عبور داده شد. با استفاده از میکروسکوپ و لام هموسایتومتر[2] اسپورها شمارش شدند و سوسپانسیون با غلظت 10^7 کنیدی در هر میلی‌لیتر در داخل لوله‌های آزمایش تهیه شد (Dillon & Charnley, 1985; 1990).

بررسی میزان کشندگی قارچ‌ها روی کنه

برای این منظور، در داخل ظروف‌پتری هشت سانتی‌متری، کاغذ صافی سترون قرار داده و ۲۰ عدد کنه بالغ با دقت روی آنها منتقل شدند. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون تهیه شده ($10^7 \times 1$ کنیدی/میلی‌لیتر) روی کاغذ صافی ریخته شد. به منظور جلوگیری از فرار کنه‌ها و همچنین حفظ رطوبت، درب پتری توسط پارافیلم مسدود گردید. برای هر تیمار قارچی، سه تکرار در نظر گرفته شد. در پتری شاهد تنها از محلول ۰/۰۵ درصد توین ۸۰ بدون اسپور قارچ استفاده شد. همه پتری‌ها در انکوباتور با دمای ۱ ± ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی بالای ۵ ± ۹۰ درصد قرار گرفتند. روند بیماری‌زایی و کشندگی روزانه به مدت ۱۰ روز ثبت شد. میزان کلونیزاسیون کنه‌ها نیز بررسی گردید و تصویربرداری از آنها انجام شد (Ment et al., 2020).

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

جهت بررسی اثر بیماری‌زایی قارچ‌های بیمارگر در آزمایشگاه، داده‌های مرگ‌ومیر کنه توسط فرمول آبوت[3] (Abbott, 1925) تصحیح شده و بررسی‌های آماری به کمک نرم‌افزار SPSS (ورژن ۲۶) انجام گرفت. آنالیز واریانس (ANOVA) یک طرفه انجام و مقایسه میانگین داده‌ها به کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد محاسبه شد. فرمول آبوت عبارت است از:

(۱)

[۱ -(جمعیت در واحد آزمایشی تیمار شده بعد از تیمار)/(جمعیت در واحد آزمایشی شاهد بعد از تیمار)] ×۱۰۰

نتایج و بحث

قارچ‌های بیمارگر شناسایی شده

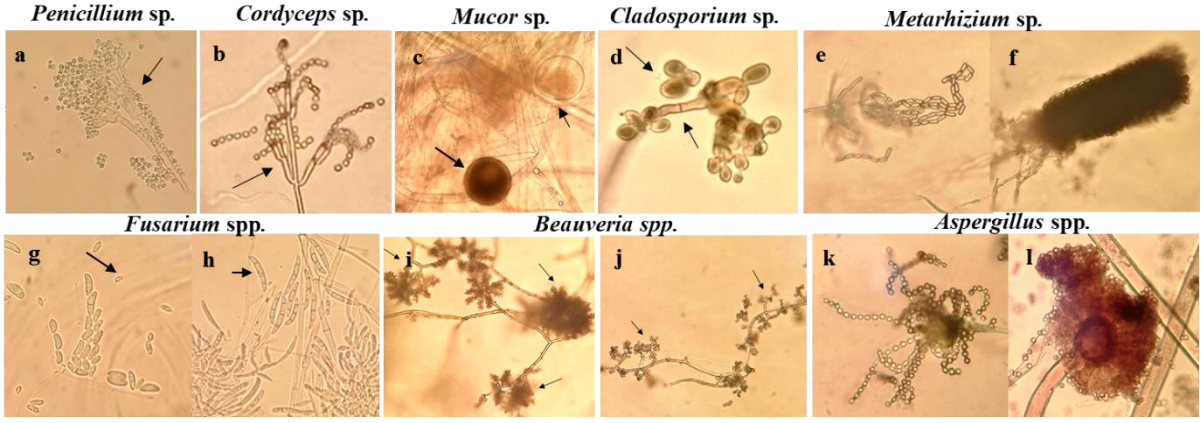
در روش طعمه‌گذاری، ۵۵ جدایه قارچی از لاروهای گذاشته شده در خاک مناطق مختلف تربت‌حیدریه جداسازی شدند که از میان آنها، تنها ۲۶ جدایه قادر به پرگنه‌سازی مجدد لاروها بودند. در ادامه، تلفات و پرگنه‌کنندگی این جدایه‌ها روی کنه بنه زعفران نیز ثبت شد. بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی از میان قارچ‌های به‌دست آمده، پنج جدایه به جنس *Metarhizium* sp.، ۱۴ جدایه به جنس *Beauveria*، یک جدایه به جنس *Cordyceps* sp.، یک جدایه به جنس *Cladosporium* sp.، پانزده جدایه به جنس *Aspergillus* spp.، سه جدایه به جنس *Mucor* spp. و سه جدایه نیز به جنس *Penicillium* spp.

1- Tween
2- Hemocytometer
3- Abbott

تعلق گرفتند. تصاویر میکروسکوپی از خصوصیات بارز این اسپور و کنیدی‌های این قارچ‌ها در شکل ۱ نشان داده شده‌اند. اطلاعات مربوط به نام جدایه‌ها، تاریخ جمع‌آوری، محل و موقعیت جغرافیایی قارچ‌های مذکور نیز در جدول ۱ ارائه شده‌اند.

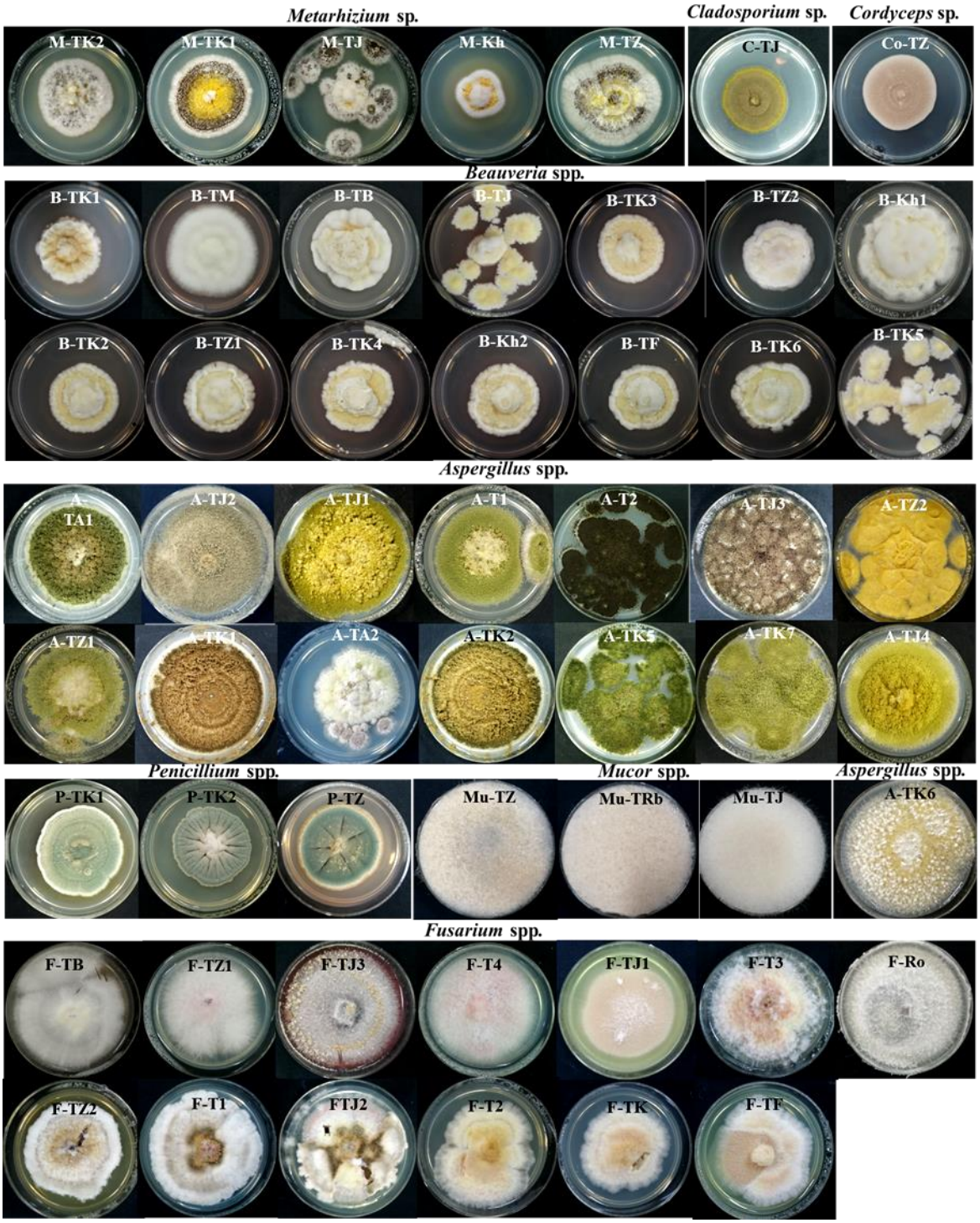
مقایسه میانگین مرگ‌ومیر کنه بنه زعفران تیمار شده با جدایه‌های برتر

از میان قارچ‌های بررسی شده، مقایسه میانگین ۲۰ جدایه که بعد از ۱۰ روز حداقل ۵۰ درصد کشندگی داشتند، جهت انتخاب بهترین جدایه، مورد بررسی قرار گرفت. جدایه‌های برتر قارچ‌ها عبارت بودند از ۱۳ جدایه *Beauveria* spp.، پنج جدایه *Metarhizium sp.*، یک جدایه *Cordyceps* sp. و یک جدایه *Aspergillus* sp. در روزهای دوم، سوم، چهارم، پنجم، ششم و هفتم بعد از شروع آزمون، کنه‌های تیمار شده با جدایه Co-TZ قارچ *Cordyceps* sp. اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد با سایر جدایه‌ها نشان دادند. در روز هشتم پس از تیمار، کشندگی این جدایه همچنان از سایر جدایه‌ها (به ترتیب شامل B-TZ1، B-TZ2، B-TJ، M-Kh و B-TF) بیشتر بود (۴/۴ ± ۷۳/۳۳)، اگرچه این اختلاف معنی‌دار نشد. در روز نهم جدایه‌های B-TZ2 قارچ *Beauveria* sp. و Co-TZ قارچ *Cordyceps* sp. بیشترین مرگ‌ومیر را در کنه‌ها ایجاد کردند (۴/۴ ± ۸۳/۳۳) ولی از نظر آماری اختلافی با جدایه‌های B-TZ1، B-TJ، B-TB، B-TK1، M-Kh، B-TF، B-TK4، B-TM، B-TK2، M-TJ و B-TK5 که در رده‌های بعدی قرار داشتند، نشان ندادند. در روز دهم نیز اثرجدایه‌های M-Kh قارچ *Metarhizium sp.* و Co-TZ قارچ *Cordyceps* sp. بر مرگ‌ومیر کنه از بقیه قارچ‌ها بیشتر بود (۰ ± ۱۰۰) اما با جدایه‌های B-TZ2، M-TJ، B-TZ1، B-TB، B-TJ، M-TK1 و B-TK1 که در رده‌های بعدی قرار داشتند اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد نشان ندادند.



شکل ۱-مشخصات ریخت‌شناسی اسپور و کنیدی قارچ‌های شناسایی شده. a) فیالیدهای جارویی شکل، b) فیالیدهای شفاف، فلاسکی شکل حاوی زنجیره‌های بلند کنیدی، c) اسپورانژیوم‌های کروی، d) اشکال متغیر کنیدی‌ها، e) زنجیره‌های طویل کنیدی‌های سیلندری شکل، f) ستون‌های متشکل از زنجیره‌های موازی کنیدی‌ها، g) میکروکنیدی، h) ماکروکنیدی، i) توپ اسپورها، j) عدم تشکیل توپ اسپور، k، l) فیالیدها و کنیدی‌های زنجیری

Figure 1- Morphological characteristics of identified fungi. a) Broom-shaped phialides, b) Transparent, flask-shaped phialides with long chains of conidia, c) Globular sporangia, d) Variable shapes of conidia, e) Long cylindrical conidial chains, f) Columns consisting of parallel chains of conidia, g) Microconidia, h) Macroconidia, i) Spore balls, j) No formation of spore balls, k, l) Phialides and chains of conidia.



شکل ۲- ریخت‌شناسی پرگنه ده روزه جدایه‌های قارچی به‌دست‌آمده از خاک‌های شهرستان تربت‌حیدریه روی محیط‌کشت PDA

Figure 2- Colony morphologies of the 10 days old fungal isolates obtained from soils of Torbat-Heydaried County on PDA culture medium.

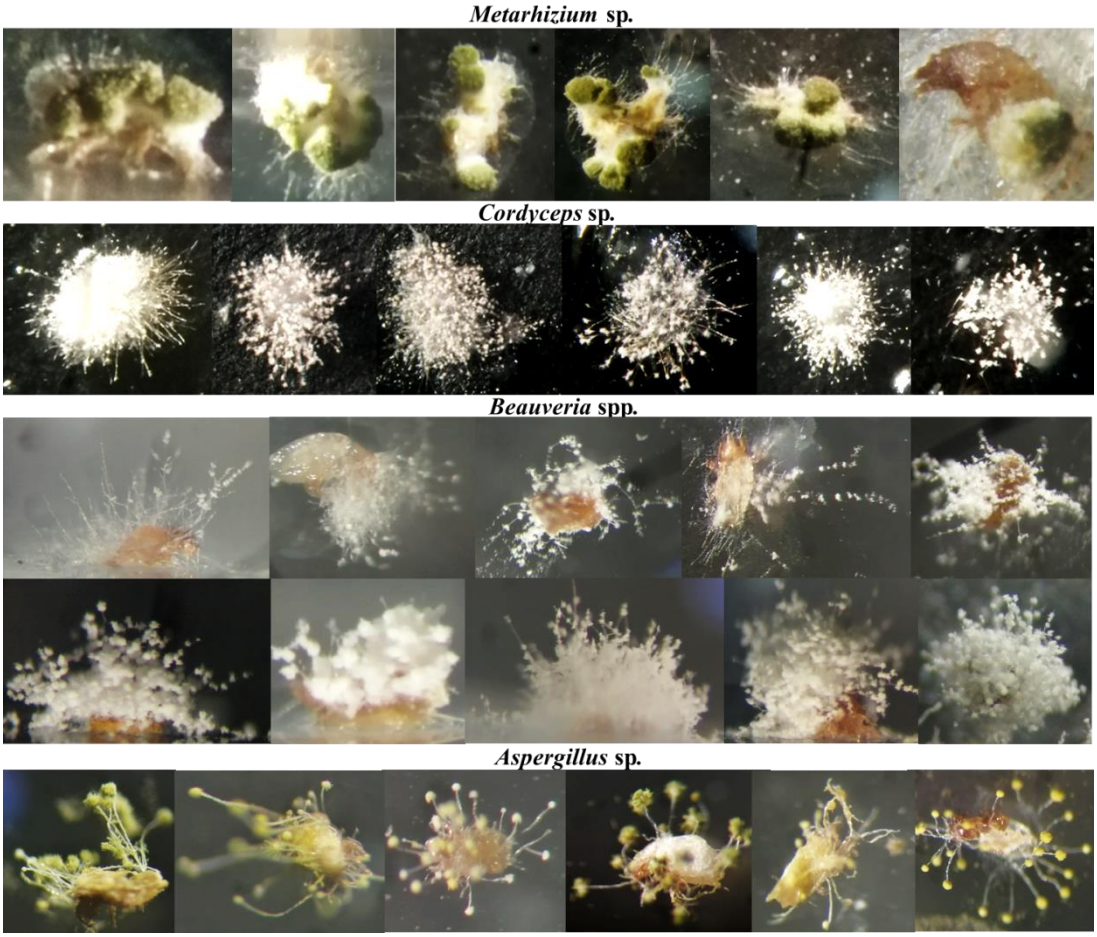
جدول ۱-زمان جمع‌آوری، موقعیت جغرافیایی محل نمونه‌برداری به صورت مختصات جهانی مرکاتور معکوس (یوتی‌ام) جدایه‌های قارچی به‌دست آمده از شهرستان تربت‌حیدریه

Table 1-The isolation time, geographical location of isolation place by Universal Trasverse Mercator Coordinate system (UTM) of fungal isolates obtained from Torbat-HeydariehCounty

گونه‌های قارچی Fungal species	نام جدایه Isolate name	محل جمع‌آوری Isolation location	موقعیت جغرافیایی Geographical location	زمان جمع‌آوری Isolation time	گونه‌های قارچی Fungal species	نام جدایه Isolate name	محل جمع‌آوری Isolation location	موقعیت جغرافیایی Geographical location	زمان جمع‌آوری Isolation time
Fusarium spp.	F-T1	تربت‌حیدریه Torbat-Heydarieh	702819.69 m E 3908625.61 m N	آذر ۱۴۰۱ November 2022	*Metarhizium* sp.	M-TZ	زاوه Zaveh	718287.33 m E 3909218.61 m N	مهر ۱۴۰۲ September 2023
	F-T2	تربت‌حیدریه Torbat-Heydarieh	702306.66 m E 3908458.75 m N	آذر ۱۴۰۱ November 2022		M-TJ	جلگه‌رخ، رودخانه JolgehRokh, Rudkhaneh	686835.9 m E 3936285.3 m N	مهر ۱۴۰۲ September 2023
	F-TJ1	جلگه‌رخ JolgehRokh	-	آبان ۱۴۰۱ October 2022		M-TK1	کدکن، برس Kadkan, Burs	676011.28 m E 3940195.01 m N	آبان ۱۴۰۱ October 2022
	F-TJ2	جلگه‌رخ JolgehRokh	-	آبان ۱۴۰۱ October 2022		M-TK2	کدکن، نصرت‌آباد Kadkan, Nosratabad	684256.74 m E 3945511.22 m N	آبان ۱۴۰۱ October 2022
	F-TB	بایگ Bayk	685612.02 m E 3916737.88 m N	مهر۱۴۰۲ September 2023		M-Kh	خواف Khaf	739262.08 m E 3830199.14 m N	مهر ۱۴۰۲ September 2023
	F-Ro	رشتخوار Roshtkhar	738946.36 m E 3873657.79 m N	مهر ۱۴۰۲ September 2023	*Beauveria* spp.	B-TJ	جلگه‌رخ، جوادیه JolgehRokh, Javadiyeh	692405.32 m E 3941148.74 m N	آذر ۱۴۰۱ November 2022
	F-T3	تربت‌حیدریه Torbat-Heydarieh	702359.30 m E 3908878.93 m N	مهر ۱۴۰۲ September 2023		B-TK1	کدکن، برس Kadkan, Burs	676851.24 m E 3940636.63 m N	آذر ۱۴۰۱ November 2022
	F-TJ3	جلگه‌رخ JolgehRokh	-	آذر ۱۴۰۱ November 2022		B-TK2	کدکن Kadkan	670376.97 m E 3939131.04 m N	آبان ۱۴۰۱ October 2022
	F-T4	تربت‌حیدریه Torbat-Heydarieh	702401.25 m E 3908659.96 m N	مهر ۱۴۰۲ September 2023		B-TK3	کدکن، دافی Kadkan, Dafi	670227.73 m E 3938962.92 m N	آبان ۱۴۰۱ October 2022
	F-TZ1	زاوه، صفی‌آباد Zaveh, Safiabad	739805.67 m E 3908322.76 m N	مهر ۱۴۰۲ September 2023		B-TK5	کدکن Kadkan	672375.97 m N 3940888.32 m N	آبان ۱۴۰۱ October 2022
	F-TZ2	زاوه، پطرو Zaveh, Petrow	741284.8 m E 3921632.9 m N	مهر ۱۴۰۲ September 2023		B-TK6	کدکن، منصوریه Kadkan, Mansuriyeh	672435.48 m E 3940553.46 m N	آبان ۱۴۰۱ October 2022
	F-TF	فیض‌آباد، دوغ‌آباد Feyzabad, Doogh abad	669450.07 m E 3884558.63 m N	مهر ۱۴۰۲ September 2023		B-TM	تربت‌موسوی TorbatMosavi	702661.63 m E 3907035.16 m N	آذر ۱۴۰۱ November 2022
	F-TK	کدکن، منصوریه Kadkan, Mansuriyeh	672646.86 m E 3940411.24 m N	آبان ۱۴۰۱ October 2022		B-TZ1	زاوه، دولت‌آباد Zaveh, Dowlatabad	728615.87 m E 3907148.12 m N	مهر ۱۴۰۲ September 2023

Aspergillus spp.	A-TJ1	جلگه‌رخ، گرماب JolgehRokh, Garmab	702515.30 m E 3953482.30 m N	آذر ۱۴۰۱ November 2022		B-Kh2	خواف، چمن‌آباد Khaf, Chamanabad	756874.32 m E 3858050.48 m N	مهر ۱۴۰۲ September 2023
	A-TA1	آبرود Abrood	709173.56 m E 3908949.57 m N	آذر ۱۴۰۱ November 2022		B-TB	بایگ Bayk	685654.93 m E 3916741.08 m N	مهر ۱۴۰۲ September 2023
	A-TA2	آبرود Abrood	709633.14 m E 3909375.94 m N	مهر ۱۴۰۲ September 2023		B-TF	فیض‌آباد Feyzabad	661456.55 m E 3876635.24 m N	مهر ۱۴۰۲ September 2023
	A-T1	سیوکی Siuki	704957.18 m E 3888451.47 m N	مهر ۱۴۰۲ September 2023		B-Kh1	خواف، چمن‌آباد Khaf, Chamanabad	755453.34 m E 3858176.98 m N	مهر ۱۴۰۲ September 2023
	A-T2	تربت‌حیدریه Torbat-Heydarieh	700166.50 m E 3908784.89 m N	آبان ۱۴۰۱ October 2022		B-TK4	کدکن، اسفیز Kadkan, Esfiz	663449.96 m E 3938562.16 m N	آبان ۱۴۰۱ October 2022
	A-TZ1	زاوه، شهن‌آباد Zaveh, Shahn Abad	720440.27 m E 3909707.60 m N	مهر ۱۴۰۲ September 2023		B-TZ2	زاوه، صفی‌آباد Zaveh, Safiabad	724531.59 m E 3906363.73 m N	مهر ۱۴۰۲ September 2023
	A-TJ2	جلگه‌رخ، خرم JolgehRokh, Khorram	657077.82 m E 4013958.23 m N	آبان ۱۴۰۱ October 2022	*Cladosporium* sp.	C-TJ	جلگه‌رخ، رودخانه JolgehRokh, Rudkhaneh	686835.9 m E 3936285.3 m N	آبان ۱۴۰۱ October 2022
	A-TK1	کدکن Kadkan	671091.35 m E 3940042.04 m N	مهر ۱۴۰۲ September 2023	*Cordyceps* sp.	Co-TZ	زاوه Zaveh	724531.59 m E 3906363.73 m N	آذر ۱۴۰۱ November 2022
	A-TK2	کدکن Kadkan	670374.02 m E 3946063.83 m N	آبان ۱۴۰۱ October 2022		Mu-TJ	جلگه‌رخ، درخت‌سنجد JolgehRokh, Derakhte Senjed	656040.06 m E 3969148.12 m N	مهر ۱۴۰۲ September 2023
	A-TJ3	جلگه‌رخ، درخت‌سنجد JolgehRokh, Derakhte Senjed	675905.62 m E 3940245.38 m N	مهر ۱۴۰۲ September 2023	*Mucor* spp.	Mu-TZ	زاوه، شهن‌آباد Zaveh, Shahn Abad	720709.49 m E 3909339.99 m N	مهر ۱۴۰۲ September 2023
	A-TZ2	زاوه، دولت‌آباد Zaveh, Dowlatabad	541136.80 m E 3942528.04 m N	مهر ۱۴۰۲ September 2023		Mu-TRb	رباط‌سنگ Robatsang	698613.16 m E 3936345.52 m N	مهر ۱۴۰۲ September 2023
	A-TJ4	جلگه‌رخ، سربالا JolgehRokh, Sarbala	713416.43 m E 3934934.91 m N	مهر ۱۴۰۲ September 2023		P-TZ	زاوه Zaveh	724236.12 m E 3906370.53 m N	آذر ۱۴۰۱ November 2022
	A-TK5	کدکن، عبدآباد Kadkan, Abdabad	669397.63 m E 3940342.04 m N	آبان ۱۴۰۱ October 2022	*Penicillium* spp.	P-TK1	کدکن، اسفیز Kadkan, Esfiz	663675.66 m E 3938608.28 m N	مهر ۱۴۰۲ September 2023
	A-TK6	کدکن، برس Kadkan, Burs	676944.59 m E 3940415.49 m N	آذر ۱۴۰۱ November 2022		P-TK2	کدکن، برس Kadkan, Burs	676553.07 m E 3940423.86 m N	آبان ۱۴۰۱ October 2022
	A-TK7	کدکن، برس Kadkan, Burs	676687.45 m E 3940351.04 m N	آبان ۱۴۰۱ October 2022					

میزان کلونیزاسیون کنه‌های تیمارشده با جدایه M-Kh قارچ *Metarhizium* sp. نسبت به سایر گونه‌های قارچی به طور معنی‌داری بیشتر بود (۰ ± ۱۰۰) و بعد از آن جدایه M-TK2 قرار گرفت (۴/۴ ± ۴۸/۳۳) که از نظر آماری با سایر جدایه‌ها اختلاف داشت (جدول ۲). نحوه کلونیزاسیون کنه توسط قارچ‌های منتخب در شکل ۳ نشان داده شده است.



شکل ۳- کلونیزاسیون کنه بنه زعفران *Rhizoglyphus robini* تیمار شده با قارچ‌های بیمارگر در روز دهم

Figure 3- Colonization of saffron bulb mite *Rhizoglyphus robini* treated with acaropathogenic fungi on the 10th day.

پیش از این، قارچ‌های *Beauveria brongniartii* (Ghazavi et al., 2005)، *B. bassiana* (Ghazavi et al., 2005؛ Asadalapour et al., 2011؛ Faraji et al., 2013؛ Eidy et al., 2016؛ Seyed Talebi et al., 2016؛ Moghassem et al., 2023) و *Metarhizium anisopliae* (Ghazavi et al., 2005؛ Faraji et al., 2013؛ Khorrami et al., 2018) به عنوان بیمارگرهای حشرات در ایران معرفی شده‌اند. بیماری‌زایی گونه‌های قارچی مذکور و قارچ *Cordyceps* sp. برای اولین بار علیه کنه زعفران در کشور گزارش می‌شود.

در این پژوهش، جدایه M-Kh قارچ *Metargizium* sp. به عنوان بهترین جدایه شناسایی گردید که بعد از ۱۰ روز ۱۰۰ درصد کشندگی و کلونیزاسیون داشت. اما اثرات بهترین جدایه‌های قارچ‌های *Beauveria* و *Cordyceps* که نیز بر کنه

قابل توجه بودند. نتایج یافته‌های تحقیق حاضر، تا حدودی با نتایج این محققین مطابقت داشت که اثربخشی ۱۷ سویه قارچی جداسازی شده (*Beauveria bassiana* (چهار سویه)، *Beauveria brongniartii* (یک سویه)، *Isaria fumosorosea* (دو سویه)، *Metarhizium indigoticum* (یک سویه)، *Metarhizium anisopliae* (نه سویه)) و سه سویه استاندارد (*B. bassiana* سویه GHA، *M. brunneum* سویه F52 و *I. fumosorosea* سویه CCM 8367) را علیه کنه‌های ماده *R. robini* مورد بررسی قرار دادند. بر اساس نتایج آنها بیشترین درصد مرگ‌ومیر در بین جدایه‌ها، مربوط به قارچ‌های *Metarhizium anisopliae* و *M. indigoticum* بود که چهار روز بعد از اسپری کردن به ترتیب ۹۹/۳ و ۹۸/۳ درصد کشندگی داشتند. سویه‌های قارچ *Isaria fumosorosea* مرگ‌ومیری بالاتر از ۴۰ درصد را نشان ندادند. کمترین بیماری‌زایی در بین گونه‌های قارچی بررسی شده توسط این محققان، در رابطه با *Beauveria* مشاهده شد که منجر به مرگ‌ومیری بین ۵ تا ۲۵ درصد گردید (Konopická et al., 2021).

در بخشی از یافته‌های تحقیق حاضر مشخص شد که بهترین جدایه *Metarhizium* sp. بعد از گذشت هشت روز، ۸۰ درصد و بعد از ۱۰ روز، ۱۰۰ درصد کشندگی ایجاد کرد. سایر محققان نیز نتایج به‌دست آمده را تأیید کردند. آنها اثربخشی جدایه‌هایی از گونه‌های قارچ *Metarhizium* را علیه کنه *R. robini* مورد بررسی قرار دادند. سوسپانسیون قارچ‌های *Metarhizium pinghaense* و *M. anisopliae* با غلظت 10^7 کنیدی در میلی‌لیتر پس از هفت روز بیش از ۸۰ درصد مرگ‌ومیر ایجاد کردند. جدایه‌های *Metarhizium pemphigi* و *M. anisopliae* پس از پنج روز ۹۰ درصد و بعد از هفت روز ۱۰۰ درصد کشندگی داشتند (Ko et al., 2021).

با توجه به نتایج این پژوهش، میزان کشندگی قارچ *Aspergillus* sp. جدایه A-T1 بیشتر از سایر جدایه‌های مربوط به این جنس بود. اثر جدایه‌های *Aspergillus terreus*، *A. flavus*، *Myrothecium advena* و *Penicillium crustostum* توسط محققان دیگری مورد بررسی قرار گرفته و نشان دادند که غلظت $3/2 \times 10^6$ کنیدی در میلی‌لیتر جدایه شماره ۱ قارچ *A. terreus* علیه کنه *R. robini* بیشترین تأثیر را در مقایسه با سایر قارچ‌ها داشته است. میزان LC_{50} را برای جدایه‌های *A. terreus*1، *M. advena*، *A. terreus*2 و *A. flavus* به ترتیب ($1/06 \times 10^6$، $1/75 \times 10^6$، $3/45 \times 10^6$ و $7/42 \times 10^9$ کنیدی در میلی‌لیتر) گزارش نمودند. این پژوهشگران میزان مرگ‌ومیر کنه‌های تیمارشده با غلظت $3/2 \times 10^6$ از *A. flavus* را بعد از ۹ روز، ۱۷/۹۳ درصد گزارش کردند و میزان کشندگی Penicillium نیز در این تحقیق نیز بسیار کم بود (Mohamed et al., 2023).

نتیجه‌گیری

تحقیق حاضر با هدف یافتن قارچ‌های بیمارگر کنه بنه زعفران انجام شد. در مجموع، ۵۵ جدایه قارچی مربوط به هشت جنس (Metarhizium، Cordyceps، Beauveria، Aspergillus، Cladosporium، Mucor، Penicillium و Fusarium) به‌دست آمدند. از میان این قارچ‌ها، ۴۳ جدایه بر روی کنه مرگ‌ومیر ایجاد کردند و ۲۶ جدایه قادر به پرگنه‌سازی مجدد کنه و لارو میلورم بودند. نتایج مربوط به روز دهم نشان دادند اثر جدایه‌های M-Kh قارچ *Metarhizium* sp. و Co-TZ قارچ *Cordyceps* sp. بر مرگ‌ومیر کنه از بقیه قارچ‌ها بیشتر بود.

جدول ۲-مقایسه میانگین درصد مرگ‌ومیر و کلونیزاسیون کنه‌های پنه زعفران *Rhizoglyphu srobini* تیمارشده با جدایه‌های قارچی برتر بدست آمده از شهرستان تربت‌حیدریه

Table 2- Comparison of mortality means and colonization of saffron bulb mites *Rhizoglyphus robini* treated with the best fungal isolates obtained from Torbat-Heydarieh County

نام جدایه Isolate name	درصد کلونیزاسیون Percent of colonization (10th day)	درصد مرگ‌ومیر کنه‌ها Percent of mites mortality (day)							
		سوم Third	چهارم Four	پنجم Five	ششم Six	هفتم Seven	هشتم Eight	نهم Nine	دهم Ten
Metarhizium sp.									
M-TZ	23.33 ± 4.4 cdefg	-	5 ± 2.88 bc	8.33 ± 1.66 cde	10 ± 2.88 ef	21.66 ± 4.4 def	31.66 ± 4.4 ef	50 ± 5.77 def	63.66 ± 3.33 hi
M-TJ	33.33 ± 6 c	-	8.33 ± 1.66 bc	8.33 ± 1.66 cde	13.33 ± 3.33 de	16.66 ± 4.4 ef	50 ± 7.63 cd	66.66 ± 7.26 abcd	95 ± 2.88 abc
M-TK1	28.33 ± 4.4 cde	-	5 ± 2.88 bc	15 ± 2.88 bcd	15 ± 2.88 cde	25 ± 2.88 def	31.66 ± 3.33 ef	56.66 ± 6 bcde	88.33 ± 4.4 abcde
M-TK2	48.33 ± 4.4 b	-	6.66 ± 1.66 bc	11.66 ± 3.33 bcd	15 ± 0 cde	16.66 ± 3.33 ef	26.66 ± 1.66 f	35 ± 5 f	56.66 ± 3.33 i
M-Kh	100 ± 0 a	-	8.33 ± 1.66 bc	16.66 ± 3.33 bcd	31.66 ± 4.4 b	50 ± 5.77 b	61.66 ± 4.4 bcd	80 ± 5.77 a	100 ± 0 a
Beauveria spp.									
B-TJ	8.33 ± 1.66 hi	-	5 ± 2.88 bc	15 ± 2.88 bcd	28.33 ± 1.66 bc	40 ± 5.77 bcd	61.66 ± 4.4 abc	83.33 ± 3.33 a	90 ± 0 abcde
B-TK1	11.66 ± 4.4 ghi	-	5 ± 2.88 bc	10 ± 0 bcde	20 ± 5.77 bcde	40 ± 5.77 bcd	51.66 ± 6 cd	80 ± 5.77 a	85 ± 2.88 abcde
B-TK2	16.66 ± 1.66 efghi	-	3.33 ± 1.66 bc	8.33 ± 1.66 cde	21.66 ± 1.66 bcde	36.66 ± 3.33 bcd	55 ± 2.88 bcd	66.66 ± 6 abcd	80 ± 2.88 cdefg
B-TK3	20 ± 2.88 defgh	-	0 c	6.66 ± 1.66 de	20 ± 5 bcde	36.66 ± 3.33 bcd	45 ± 2.88 de	58.33 ± 4.4 bcde	68.32 ± 6.66 fghi
B-TK5	23.33 ± 3.33 cdefg	-	6.66 ± 3.33 bc	15 ± 5.77 bcd	23.33 ± 4.4 bcde	23.33 ± 4.4 def	53.33 ± 3.3 bcd	65 ± 7.63 abcd	75 ± 8.66 efgh
B-TK6	5 ± 2.88 i	-	1.66 ± 1.66 bc	8.33 ± 1.66 cde	25 ± 2.88 bcd	31.66 ± 4.4 bcde	45 ± 5 de	55 ± 5.77 cde	65 ± 7.63 ghi
B-TM	23.33 ± 3.33 cdefg	-	3.33 ± 1.66 bc	8.33 ± 1.66 cde	25 ± 2.88 bcd	33.33 ± 1.66 bcde	55 ± 2.88 bcd	71.66 ± 4.4 abc	80 ± 5.77 cdefg
B-TZ1	18.33 ± 1.66 efgh	-	5 ± 2.88 bc	20 ± 2.88 b	30 ± 5.77 b	46.66 ± 8.81 bc	71.66 ± 6 a	83.33 ± 3.33 a	93.33 ± 3.33 abcd
B-Kh2	25 ± 2.88 cdef	-	3.33 ± 1.66 bc	10 ± 2.88 bcde	23.33 ± 4.4 bcde	30 ± 2.88 cde	50 ± 5.77 cd	61.66 ± 3.33 bcd	78.33 ± 4.4 defg
B-TB	31.66 ± 7.26 cd	-	3.33 ± 1.66 bc	10 ± 2.88 bcde	38.33 ± 4.4 bcde	38.33 ± 4.4 bcd	55 ± 2.88 bcd	81.66 ± 4.4 a	91.66 ± 4.4 abcd
B-TF	10 ± 2.88 hi	-	3.33 ± 1.66 bc	6.66 ± 1.66 de	28.33 ± 6 cde	28.33 ± 6 cdef	60 ± 2.88 abcd	73.33 ± 4.4 ab	83.33 ± 8.81 bcdef
B-TK4	13.33 ± 1.66 fghi	-	5 ± 2.88 bc	13.33 ± 3.33 bcd	31.66 ± 4.4 b	36.66 ± 6.66 bcd	48.33 ± 4.4 cd	73.33 ± 3.33 ab	81.66 ± 4.4 bcdef
B-TZ2	16.66 ± 1.66 efghi	-	10 ± 5.77 b	18.33 ± 4.4 bc	30 ± 5.77 b	46.66 ± 8.86 bc	66.66 ± 6 ab	83.33 ± 4.4 a	96.66 ± 3.33 ab
Cordyceps sp.									
Co-TZ	28.33 ± 6 cde	13.33 ± 6 a	28.33 ± 6 a	48.33 ± 6 a	58.33 ± 6 a	66.66 ± 6.66 a	73.33 ± 4.4 a	83.33 ± 4.4 a	100 ± 0 a
Aspergillus sp.									
A-T1	18.33 ± 4.4 efgh		0 c	0 e	0 f	10 ± 2.88 f	11.66 ± 9.27 g	41.66 ± 8.81 ef	55 ± 2.88 i

نتایج، میانگینی از سه تکرار ± خطای استاندارد را ارائه می‌دهند. حروف متفاوت نشان دهنده معنی‌دار بودن اختلاف تیمارها در سطح ۵ درصد هستند که با آنالیز واریانس (ANOVA) با آزمون چند دامنه‌ای دانکن به‌دست آمدند.

Results are means of three replicates ± SE. Different lower-case letters indicate significant differences ($P \leq 0.05$), determined by analysis of variance (ANOVA) followed by Duncan's Multiple Range Test.

میـزان پرگنـه‌سـازی کنـه تیمارشـده بـا M-Kh قـارچ *Metarhizium* sp. نیز نسبت به بقیه قارچ‌ها به طور معنی‌داری بالاتر بود. حضور جدایـه‌های قارچهـای *Cladosporium* sp.، *Aspergillus* spp.، *Fusarium* spp. و *Mucor* sp. نیـز موجب مرگ‌ومیر کنه شدند اما اثر آنها قابل توجه نبود. داده‌های این پژوهش نشان می‌دهد که اکثر جدایه‌ها حتی قارچهـایی کـه در ظاهر اثر قابل توجهی نداشتند، در طبیعت بـرای مهارزیسـتی آفات نقش ایفا می‌کنند و تعادل زیستی این عوامـل می‌توانـد در پایداری اکوسیستم حائز اهمیت باشد. از طرف دیگـر جدایـه‌های قارچی منتخب با درصد کشندگی بالا می‌تواند به عنوان عوامـل مهارگر زیستی برای حفاظت از بنـه زعفـران علیـه کنـه، مـورد استفاده قرار گیرند. در ادامه می‌تـوان بـا زیست‌سـنجی بهتـرین جدایـه‌ها و انجـام آزمایشـات مزرعـه‌ای و تجاری‌سـازی ایـن جدایه‌های بومی گامی مهم در مدیریت زیستی کنـه‌ها برداشـت. رهیافت‌های بعدی می‌بایست در خصـوص بررسـی اثـر متقابـل ترکیب این قارچ‌های بیمارگر با سایر راهبردهای مهارگری باشـد که می‌تواند کارایی و پایداری مدیریت تلفیقـی آفـات را افـزایش دهد.

سپاسگزاری

نویسندگان از کمک و مساعدت کارشناس بخش تحقیقـات گیاهپزشکی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعـی خراسان رضوی سرکار خانم دکتر الهه طاهری تشکر و قـدردانی می نمایند.

References

Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology, 18*(2), 265-267. http://dx.doi.org/10.1093/jee/18.2.265a

Agricultural Statistics (2009). The third volume. Bureau of Statistics and Information Technology. *Ministry of Agriculture, 34*, 150-151.

Asadalapour, M., Zafari, D., & Zare, R. (2011). Hyphomycetous fungi isolated from insects and their pathogenic effect on colorado beetle in Hamedan province. *Journal of Iranian Plant Protection Research, 24*(4). (In Persian with English Summary) https://doi.org/10.22067/JPP.V24I4.8141

Bu, G. S., & Li, L. S. (1998). Taxonomic notes on and key to known species of the genus *Rhizoglyphus* (Acari: Acaridae) from China. *Systematic & Applied Acarology, 3*(1), 179-182. https://doi.org/10.11158/saa.3.1.28

Dillon, R. J., & Charnley, A. K. (1985). A technique for accelerating and synchronising germination of conidia of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Archives of Microbiology, 142*, 204-206. https://doi.org/10.1007/BF00447069.

Dillon, R. J., & Charnley, A. K. (1990). Initiation of germination in conidia of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae*. *Mycological Research, 94*(3), 299-304. https://doi.org/10.1016/S0953-7562(09)80353-5.

Eidy, M., Rafiee-Dastjerdi, H., Zargarzadeh, F., Golizadeh, A., & Mahdavi, V. (2016). Pathogenicity of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Balsamo) and *Verticillium lecanii* (Zimmerman) against aphid *Macrosiphum rosae*, Linnaeus (Hemiptera: Aphididae) under laboratory conditions. *Jordan Journal of Biological Sciences, 147*(3384), 1-4. https://doi.org/10.12816/0027004.

Fan, Q. H., & Zhang, Z. Q. (2003). *Rhizoglyphus echinopus* and *Rhizoglyphus robini* (Acari: Acaridae) from Australia and New Zealand:

identification, host plants and geographical distribution. *Systematic & Applied Acarology Special Publications*, *16*, 1-16. https://doi.org/10.11158/saasp.16.1.1

Faraji, S., Mehrvar, A., & Shadmehri, A. D. (2013). Studies on the virulence of different isolates of *Beauveria bassiana* (Balsamo) *Vuillemin* and *Metarhizium anisopliae* (Metcsn.) Sorokin against Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *African Journal of Agricultural Research*, *8*, 4157-4161. https://doi.org/10.5897/AJAR11.2296

Ghazavi, M., Abaii, M., & Zangeneh, S. (2005). New records of some entomopathogenic fungi from Iran. *Rostaniha*, *6*(2), 119-130. (In Persian with English Summary).

Humber, R. A. (2012). Identification of entomopathogenic fungi. *Manual of Techniques in Invertebrate Pathology*, 151-187. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386899-2.00006-3.

Khorrami, F., Ghosta, Y., OjaghiAghbash, K., Soleymanzade, A., & Forouzan, M. (2018). Efficacy of two *Metarhizium anisopliae* isolates and nano-fungus *Metarhizium anisopliae@* Fe3O4 against Diamondback moth. *Genetic Engineering and Biosafety Journal*, *7*(2), 175-187. (In Persian with English Summary).

Ko, S. H., Shin, T. Y., Lee, J. Y., Choi, C. J., & Woo, S. D. (2021). Screening and evaluation of acaropathogenic fungi against the bulb mite *Rhizoglyphus robini*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, *24*(4), 991-996. https://doi.org/10.1016/j.aspen.2021.09.005.

Konopická, J., Bohatá, A., Nermuť, J., Jozová, E., Mráček, Z., Palevsky, E., & Zemek, R. (2021). Efficacy of soil isolates of entomopathogenic fungi against the bulb mite, *Rhizoglyphus robini* (Acari: Acaridae). *Systematic & Applied Acarology*, *26*(6), 1149-1167. https://doi.org/10.11158/saa.26.6.11

Ment, D., Raman, S., Gal, S., Ezra, D., & Palevsky, E. (2020). Interactions of *Metarhizium brunneum*-7 with phytophagous mites following different application strategies. *Insects*, *11*(6), 330. https://doi.org/10.3390/insects11060330

Moghassem, M., Jamshidi, M., Khakvar, R., & Nematollahi, S. (2023). Assessing the virulence of Iranian entomopathogenic fungi isolates in control of *Ephestia kuehniella* (Lep: Pyralidae) (Zeller). *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, *46*(2), 73-86. (In Persian with English Summary). https://doi.org/10.22055/PPR.2023.42895.1676.

Mohamed, A.S.M., Hezazy, M.G., & Wang L. (2023) Effectiveness some egyptian isolates of entomopathogenic fungi against bulb mite (*Rhizoglyphus robini*-Acaridae). (In Press) https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2468795/v1.

Rahimi, H., Torabi, E., Rahimi, H., Araghi, M., & Roshnavandi, M. (2018) Investigting the effects of some physical and cultural methods on the population of bulb mite (*Rhizoglyphus robini*) and yield of saffron (*Crocus sativus* L.). *Saffron Agronomy and Technology*, *6*(3), 323-337. (In Persian with English Summary). https://doi.org/10.22048/jsat.2017.62169.1195.

Seyed Talebi, F. S., Safavi, S. A., Talaei-Hassanloui, R., & Bandani, A. R. (2016) Study of the virulence and conidial germination types for some *Beauveria bassiana* isolates. *Biological Control of Pest & Plant Diseases*. (In Persian with English Summary). https://doi.org/10.22059/JBIOC.2018.67493

Shahid, A. A., Rao, Q. A., Bakhsh, A., & Husnain, T. (2012) Entomopathogenic fungi as biological controllers: new insights into their virulence and pathogenicity. *Archives of Biological Sciences*, *64*(1), 21-42. https://doi.org/10.2298/ABS1201021S

Sharma, L., Oliveira, I., Torres, L., & Marques, G. (2018). Entomopathogenic fungi in Portuguese vineyards soils: suggesting a 'Galleria-Tenebrio-bait method' as bait-insects Galleria

Mollafilabi, A., Rezvani Moghaddam, P., & Nassiri Mahallati, M. (2021) Criteria for production of standard pathogen-free saffron corms. *Saffron Agronomy & Technology*, *9*(2), 121-141. (In Persian with English Summary). https://doi.org/10.22048/jsat.2021.233278.1401

Zakiaghl, M., Khorramdel, S., Koocheki, A., Nabati, J., Nezami, A., MirshamsiKachki, A., and Tenebrio significantly underestimate the respective recoveries of *Metarhizium roberstii* & *Beauveria bassiana*. *MycoKeys, 38*, 1-23. https://doi.org/10.3897/mycokeys.38.26790.