فصلنامه گیاه‌پزشکی
۱۳۹۱ -۴ : ۶۹-۸۲

بررسی دزهای کشنده جدایه ایرانی قارچ *Beauveria bassiana* در کنترل میکروبی بید آرد *Ephestia kuehniella* (Lep.: Pyralidae) روی خرمای رقم سایر

نگار بهمنی*، هادی استوان
دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، گروه حشره شناسی، فارس، ایران
مسعود لطیفیان، بهار راد
مؤسسه تحقیقات خرما و میوه های گرمسیری کشور، اهواز، ایران

چکیده

بید آرد *Ephestia kuehniella* از آفات مهم انباری می‌باشد. این تحقیق به منظور بررسی کارایی جدایه ایرانی مناسب قارچ *Beauveria bassiana* در کنترل میکروبی شب‌پره آرد *Ephestia kuehniella* روی خرمای رقم سایر انجام شد. برای تعیین قدرت کشندگی قارچ روی مراحل تخم، لارو و شفیره، پنج دُز $۱۰^{۴}$، ۵×۱۰^{۴}، $۱۰^{۵}$، ۵×۱۰^{۵} و $۱۰^{۶}$اسپور در میلی‌لیتر به‌روش غوطه‌ورسازی استفاده شد. داده‌ها با استفاده از روش لگاریتم-پروبیت برازش‌گردیدند. نتایج نشان داد که بیش‌ترین دُز کشنده ۵۰ درصد مربوط به جدایه IRAN441C روی شفیره $۱۰^{۴}$ × ۱/۷۶ و کمترین دُز کشنده ۵۰ درصد مربوط به مرحله تخم و معادل $۳/۴۹\times۱۰^{۳}$ اسپور در میلی‌لیتر بود. بالاترین و پایین‌ترین زمان ۵۰ درصد کشندگی به‌ترتیب برای شفیره و تخم و معادل ۳/۶۷ و ۳/۳۸ روز بود. به‌طورکلی نتایج تحقیقات در فاز آزمایشگاهی که قدم نخست در امکان‌سنجی کاربرد این قارچ در کنترل میکروبی بید آرد می‌باشد، نشان داد که قارچ عامل بیمارگر از پتانسیل کاربرد بالایی برخوردار است.

واژه‌های کلیدی: کنترل میکروبی، بید آرد، خرما

*مسئول مکاتبات،پستالکترونیکی:negar_bahmani57@yahoo.com

مقدمه

خرما یکی از مهم‌ترین محصولات صادراتی خشکبار ایران است که در میان ارقام صادراتی، رقم سایر از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. این رقم از جمله ارقام نیمه خشک کشور می‌باشد که بیش از ۷۰ درصد سطح زیرکشتخرمای استان خوزستان به این رقم اختصاص یافته و حدود ۹۰ درصد صادرات خرمای استان خوزستان و بیش از ۴۵ درصد صادرات خرمای کشور به این رقم تعلق دارد (Pezhman, 2001). در کشور ایران به‌طور متوسط سالیانه ۱۰ تا ۲۰ درصد محصولات کشاورزی در انبارها، به‌وسیله آفات از بین می‌روند. مسلم است که این خسارت در بعضی از نقاط کشور و در پاره‌ای از مواقع در محصولات به‌مراتب بیشتر از این مقدار است. یکی از مهم‌ترین آفات انباری خرما بید آرد *Ephestia kuehniella* Zeller است که نه تنها به خرما بلکه به سایر محصولات کشاورزی نیز خسارت وارد می‌سازد (Bagheri-Zenouz, 2007 ; Latifian, 2004). یکی از روش‌های مهم و عمومی مبارزه با این آفت استفاده از گازدهی با مواد شیمیایی است. از آن‌جایی‌که گازها خاصیت سرطان‌زایی داشته و موجب تخریب لایه ازن می‌گردند، لذا می‌بایست از روش‌های جایگزین نظیر عوامل کنترل میکروبی استفاده نمود. یک گروه از عوامل کنترل میکروبی، قارچ‌های بیمارگر می‌باشند که از آن‌ها می‌توان *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Deut., Moniliaceae) را نام برد (James *et al*., 2003). گزارش‌ها نشان می‌دهد که این قارچ تنها در روسیه بر روی بیش از هفتاد نوع محصول کشاورزی و انباری با موفقیت مورد استفاده قرار گرفته است که در مواردی کارایی آن بسیار بالا و قابل رقابت با عوامل کنترل شیمیایی بوده است (Charnley, 1992). قارچ *B. bassiana* به نسبت ۳×۱۰^{۵} اسپور در متر مکعب در شرایط انبارداری خرما به‌کار برده شده و تا ۹۶ درصد جمعیت *Carda cautella* Walker را کاهش داده است (Jassim *et al*., 1998). قدرت بیمارگری قارچ *B. bassiana* برای کنترل انواع آفات انباری از جمله *Oryzaephilus surinamensis* L. بیشتر از سایر قارچ‌های حشره‌خوار از جمله *Metarhizium anisopliae* Metsch و *Nomuraea rileyi* Farlow می‌باشد (Padine *et al*., 1994). از جمله خصوصیات مؤثر هر عامل بیمارگر در بروز همه‌گیری، قدرت بیماری‌گری،توان بقا و پراکنش آن است (Steinhaus, 1967). پارامترهای مزبور را با استفاده از میانگین غلظت کشنده (LC_{50}) و میانگین زمان مرگ و میر (LT_{50}) اندازه گیری می‌کنند. فاکتورهای مختلفی نظیر نوع میزبان، شرایط تغذیه‌ای میزبان حشره‌ای، مرحله رشد و نوع رقم میزبان گیاهی بر پارامترهای مزبور مؤثر می‌باشند. برای قارچ *B. bassiana* این آزمایشات در رابطه با حشرات گوناگون و در شرایط مختلفی انجام شده است (Navon*et al*., 2000). در نظر گرفتن اثرات گیاه میزبان در مطالعات دشمنان طبیعی بندپایان به‌خصوص میکروارگانیزم‌های بیمارگر حشرات از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. زیرا گیاهان میزبان از طریق متابولیت‌های ثانویه خود توانایی اثر بر

قدرت بیماری‌گری و زهرابه‌های عوامل بیمارگر را دارند که می‌تواند در توانایی کنترلآن‌ها تأثیر داشته باشد (Kawakami, 1987). نظیر چنین تأثیراتی در رابطه با ویروس‌ها (Hassan &Steenberg, 2007)، نماتدها (Gross *et al*., 1985)، قارچها (Beegle & Yamamoto, 1992) و باکتری‌ها (Ghazavii *et al*., 2002) مطالعه گردیده است. از جمله این عوامل محدود کننده می‌توان به فنولیک‌اسیدها، فلاونول‌ها، آنتوسیانیدها، ترپن‌ها، نفتانول‌ها، کتون‌ها، ترپنوئیدها، اسیدهای چرب و ترکیبات مشابه دیگر اشاره نمود (Kawakami, 1987)، که نظیر آن‌ها در ارقام مختلف خرما با غلظت‌های متفاوت وجود دارد و می‌توانند همانند موارد مشابه اثرات منفی بر توانایی کنترلی قارچ مورد مطالعه بر جمعیت شب‌پره آرد داشته باشند. این تحقیق به‌منظور انتخاب جدایهایرانی مناسب قارچ *B. bassiana* و بررسی کارایی آن در کنترل میکروبی شب‌پره آرد *E. kuehniella* روی رقم خشک و تجاری خرمای سایر انجام شد.

مواد و روش‌ها

پرورش حشره

جهت پرورش شب‌پره آرد در آزمایشگاه، از ظروف شیشه‌ای سر پهن استفاده شد. هر هفته حشرات ماده به ظروف شیشه‌ای جدیدی جهت تخم‌گذاری منتقل شدند. بنابراین در طول این آزمایش، تمامی سنین لاروی وجود داشت. حشرات کامل (نر و ماده) به‌وسیله اسپیراتور جداسازی شده و پرورش در دمای ۵±۲۷ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۶۰ درصد درون اتاقک رشد و درون ظروف پلاستیکی استوانه‌ای درب دار به ابعاد ۸/۵×۷/۵ سانتی‌متر انجام شد.

کشت جدایه‌های قارچی

جدایه مورد استفاده در این پژوهش از طریق بخش تحقیقات حشره‌شناسی کشاورزی مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور تهیه گردید. این جدایه (IRAN 441C) از منطقه سراوان جمع‌آوری گردید، که رنگ پرگنه آن سفید بوده و پس از اسپوردهی به‌رنگ صورتی کم‌رنگ دیده می‌شود. پس از آلوده نمودن لاروها به اسپور قارچ، به آلوده‌سازی متوالی و مکرر حشره میزبان به دفعات ۱۰ بار اقدام شد.

در این تحقیق از روش‌های استاندارد آزمون عوامل بیمارگر قارچی استفاده شد (Boucias&Pendl&, 1998 ; Gillespie & Clayton, 1989 ; Yoshinori & Kaya, 1992). برای این منظور پس از خالص‌سازی به روش تک اسپور، جدایه قارچی مورد نظر در محیط غذایی[1] SDAY کشت گردید. بعد از اسپورزایی کامل (کشت ۱۲-۱۴ روزه) سطح محیط کشت به‌وسیله سوزن انتقال خراش داده شد. اسپورها داخل ارلن‌های جداگانه‌ای که حاوی ۱۰

[1]SDAY=Sobered Dextrose Agar + Yeast extract

میلی‌لیتر آب مقطر استریل با محلول ۰/۰۵ درصد توئین ۸۰ بود، جمع‌آوری گردیدند. سوسپانسیون فوق به منظور پراکنده شدن یکنواخت اسپورها در داخل آن به‌مدت ۵ دقیقه به طور پاندولی به‌هم زده شد. برای افزایش تولید اسپور از محیط کشت SDAY استفاده شد. این محیط کشت با دارا بودن شرایط اسیدی (PH=۵/۶) از رشد باکتری‌های ساپروفیت جلوگیری می‌نماید (Webb & Shelton, 1990). برای نگهداری جدایه‌ها به مدت طولانی از محیط کشت PCA[1] استفاده گردید. محیط اخیر به‌علت ضعیف بودن از اسپورزایی شدید جلوگیری نموده و باعث می‌شود جدایه‌ها به مدت طولانی (در دمای۱۰°C) قدرت حیاتی خود را حفظ نمایند (Kaya, 1993).

برای تهیه محیط کشت SDAY، ۱۰ گرم پپتون، ۴۰ گرم دکستروز، ۲گرم عصاره مخمر و ۱۵ گرم آگار با هم زدن و به نقطه جوش رساندن درون ۱ لیتر آب مقطر حل گردید. سپس مخلوط حاصله در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع به مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی شد.

آزمون بیمارگری

در این تحقیق هم از روش‌های استاندارد آزمون عوامل بیمارگر قارچی استفاده شد (Butt & Goettel, 2000 ; Iwana & Ashida, 1986). به‌این منظور برای انجام آزمون بیمارگری، از جمعیت لاروها (با اندازه متوسط ۲/۶±۰/۵ میلی‌متر) استفاده شد. برای تغذیه مراحل رشدی مورد آزمایش از بافت خرمای رقم سایر که در کف ظروف پرورش قرار داده‌می‌شد، استفاده گردید. برای آلوده‌سازی مراحل رشدی تخم، لارو و شفیره تعداد ۲۰ عدد از هر مرحله را به مدت ۲۰ ثانیه درون سوسپانسیون اسپور فرو برده و پس از خروج درون انکوباتور با درجه حرارت ۱±۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت‌نسبی ۵±۸۵ درصد و دوره روشنایی: تاریکی (۱۲ : ۱۲) برای دو روز نگهداری شدند. برای روزهای بعد در رطوبت‌نسبی ۴۰ درصد و دوره روشنایی: تاریکی (۱۲ : ۱۲) در قفس‌های مخصوص که کف آن‌ها برای تغذیه خرمای رقم سایر قرار داده شده بود قرار گرفتند و به داخل اتاقک رشد منتقل گردیدند. تخم، لارو و شفیره مرده مورد آزمایش هر روز شمارش و ثبت شده، در بازدید روزانه مراحل رشدی مرده جمع‌آوری شده و سپس بدن آن‌ها با محلول هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد به‌صورت سطحی، ضدعفونی شد و نمونه‌های ضدعفونی شده درون اتاقک مرطوب که کف آن با قرار دادن پنبه خیس به‌صورت اشباع درآمده بود، نگهداری شدند، تا اسپور قارچ در سطح بدن آن‌ها ظاهر گردد. این قارچ‌ها مجدداً کشت داده شده و مراحل رشدی به‌وسیله آن آلوده گردیدند. پس از مرگ و ظهور مجدد

[1]PCA=Potato Carrot Agar

اسپورها در سطح بدن مراحل مختلف رشدی مورد آزمایش، اصول کخ برای اثبات بیمارگری جدایه مورد آزمایش کامل گردید.

زیست سنجی

در این مرحله نیز از روش‌های استاندارد آزمون عوامل بیمارگر قارچی استفاده شد (Butt &Goettel, 2000; Kaya, 1993). بنابراین برای محاسبه دُز کشنده جدایه‌های مختلف، از توئین ۸۰ پنج صدم درصد به‌منظور پخش یکنواخت اسپورها به‌عنوان حامل استفاده شد. به‌این ترتیب که ابتدا اسپورهای جدایه مورد آزمایش از سطح پتری خراشیده شده و درون محلول به حالت معلق در آمدند. سپس سوسپانسیون حاصله از پارچه ململ ضدعفونی شده دو لایه عبور داده شد تا قطعات میسیلیوم از آن جدا گردند. برای جدا شدن اسپورها از همدیگر و عدم تشکیل زنجیر در هنگام شمارش آن‌ها درون لوله‌های حاوی سوسپانسیون قارچ مهره‌های شیشه‌ای به قطر ۵ میلی‌متر ریخته و برای چند دقیقه به‌شدت تکان داده شد. جهت شمارش اسپورها و تهیه تراکم‌های مختلف اسپور در واحد حجم از لام نئوبار Assistent ساخت کشور آلمان استفاده شد. برای اندازه‌گیری زنده‌مانی اسپورها روز قبل از آزمایش مقدار اندکی از اسپورهای مورد آزمایش به‌صورت استریل درون محلول ۰/۰۵ درصد توئین۸۰ به حالت تعلیق در آمده و روی محیط دکستروز آگار و عصاره مخمر کشت شد. روز بعد فقط از کشت‌هایی استفاده می‌گردید که بیش از ۹۵ درصد اسپورهای آن جوانه زده بود. آزمون‌های مقدماتی با استفاده از دزهای متعدد و با تعداد اندک میزبان صورت گرفت، سپس طیفی از دزها که مرگ و میری بین ۲۵ تا ۷۵ درصد را نشان دادند، برای زیست‌سنجی استفاده شدند. به این ترتیب پنج دُز لگاریتمی شامل دزهای $۱۰^{۴}$، $۱۰^{۴}\times۵$، $۱۰^{۵}$، ۵×۱۰^{۵} و $۱۰^{۶}$اسپور در میلی‌لیتر تهیه و آزمون‌های زیست‌سنجی با آن‌ها انجام شد. زیست‌سنجی‌ها با تخم، لارو و شفیره در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. برای هر تکرار ۲۰ عدد از مراحل مختلف رشدی استفاده شد. آزمایش‌ها در ۶ تیمار (دُزهای مختلف و شاهد) و ۳ تکرار انجام گرفت. برای آلوده ساختن لاروهای حشرات مشابه روش قبل اقدام گردید. مرگ و میر حشرات هر روز و به مدت ۱۰ روز ثبت و جدول مرگ و میر تجمعی آن‌ها تهیه شد و شاخص‌های LC_{50}، LC_{99}، LT و ضرایب ناگیرایی محاسبه گردید (Fragues*et al*., 1994 ; Gillespie & Clayton, 1989).

محاسبات آماری

تجزیه و تحلیل آماری در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها به وسیله آزمون چند دامنه‌ای دانکن (DMRT) در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام گردید. برای تعیین دزهای کشنده از نرم‌افزار Priprobit (1998-2000) با استفاده از آمار مرگ و میر تجمعی ترکیبی از پراکنش و مدل‌های رگرسیونی انتخاب گردید که کم‌ترین

AIC را داشته باشد. AIC یا معیار اطلاعاتی Akaike معیاری است که با استفاده از فرمول AIC= - 2L +2M محاسبه می‌شود و هر چه مقدار آن کم‌تر باشد ترکیب مدل رگرسیونی و تابع پراکنش انتخاب شده، رفتار داده‌ها را به نحومطلوب‌تری توصیه می‌نمایند. در این فرمول L حداکثر لگاریتم (maximum log-likelihood) و M تعداد پارامترها می‌باشند. برای نرمال کردن داده‌ها، درصد مرگ ومیر به Arc sin√x تبدیل گردید. برای رسم خط رگرسیونداده‌هایی که توسط نرم‌افزار اخیر پردازش شده بود به نرم‌افزار Excel منتقل و منحنی‌های خطی و سیگموئیدی مربوطه رسم گردید. LT_{50} جدایه‌های مختلف با کمک نرم‌افزار Curve Experts محاسبه شد.

نتایج و بحث

قدرت بیماری‌زایی

جدایه ایرانی قارچ *B. bassiana* با نام IRAN441C توانایی بیمارگری بر روی تخم، لارو و شفیره بید آرد را دارا بود. پس از آلوده ساختن تخم، لارو و شفیره با استفاده از جدایه مورد آزمایش و سپری شدن ۱۰ روز، سپس دُزهای کشنده ۵۰ و ۹۹ درصد برای آن‌ها محاسبه شد که مقادیر آن‌ها در جدول یک منعکس شده است. در مورد داده‌های حاصل از کاربرد جدایه ایرانی *B. bassiana* کم‌ترین AICها از ترکیب پراکنش لجستیک با مدل ترجیحی با پاسخ طبیعی حاصل گردید (Gomez, K. A. & Gomez, A. A, 1984) (شکل‌های ۱ تا ۳). بیشترین دُز کشنده ۵۰ درصد مربوط به جدایه 441C روی شفیره و معادل $۱/۷۶\times۱۰^{۴}$ اسپور در میلی‌لیتر و کم‌ترین دز کشنده ۵۰ درصد مربوط به مرحله تخم و معادل $۳/۴۹\times۱۰^{۳}$ اسپور در میلی‌لیتر بود. در تحقیقات انجام شده در مورد داده‌های حاصل از کاربرد جدایه انتخابی روی شپشه‌دندانه‌دار پرورش یافته روی سه رقم خرمای سایر، زاهدی و دیری کم‌ترین AICها از ترکیب پراکنش لجستیک و لگاریتم – لگاریتم با مدل ترجیحی با پاسخ طبیعی حاصل گردید. میان ارقام مورد آزمایش کم‌ترین LC_{50} مربوط به جدایه441C روی حشرات‌کامل رقم زاهدی معادل $۲/۴۶\times۱۰^{۴}$ اسپور در میلی‌لیتر بود. بیش‌ترین مقدار LC_{50} روی حشرات‌کامل رقم دیری معادل $۲/۶۹\times۱۰^{۴}$ اسپور در میلی‌لیتر بود. کم‌ترین LC_{50} مربوط به جدایه 441C روی لارو رقم سایر و معادل $۳/۳۱\times۱۰^{۳}$ اسپور در میلی‌لیتر بود. بیش‌ترین مقدار LC_{50} روی لارو رقم دیری معادل $۶/۲۹\times۱۰^{۳}$ اسپور در میلی‌لیتر بود. بنابراین دز کشنده بسته به مرحله رشدی سوسک‌ها و ارقام مورد آزمایش متفاوت بود. این دز در حشرات‌کامل به‌طور قابل توجهی بیشتر از لاروها بود (Latifian*et al*., 2009).

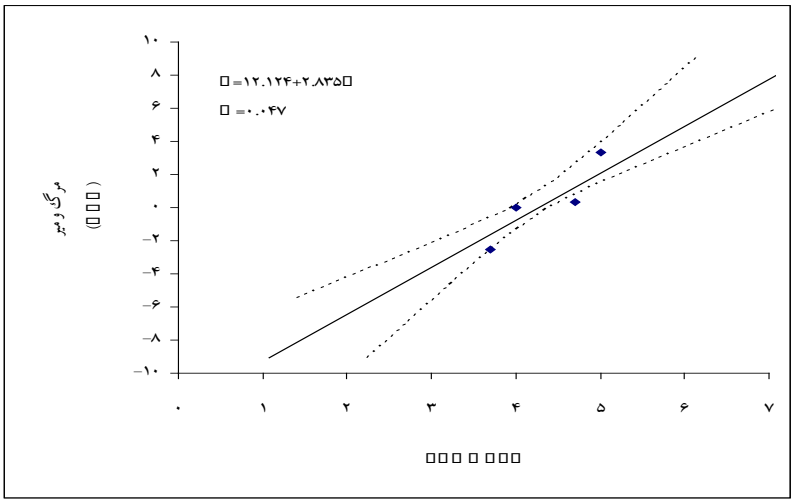
جدول ۱- دُز کشنده جدایه‌های مختلف *B. bassiana* به تفکیک تخم، لارو و شفیره شب‌پره آرد

Table 1. Lethal doses of different isolates of *B. bassiana* regarding egg, larvae and pupa of flour-mouth

Regression models	Distribution models	Log LC_{99} at 95% Confidence level	Log LC_{50} at 95% Confidence level		AIC	Developmental Stages
6	Logestic	$7/88 \times 10^5$ $(2/56 \times 10^5, 8/51 \times 10^6)$	$1/49 \times 10^4$ $(9/53 \times 10^3, 2/48 \times 10^4)$	0/46	97/76	Larvae
6	Logestic	$9/67 \times 10^5$ $(3/9 \times 10^5, 1/91 \times 10^7)$	$1/76 \times 10^4$ $(9/35 \times 10^3, 3/03 \times 10^4)$	0/47	100/75	Pupa
6	Logestic	$8/91 \times 10^5$ $(2/87 \times 10^5, 1/67 \times 10^6)$	$3/49 \times 10^3$ $(4/06 \times 10^2, 1/62 \times 10^4)$	0/69	144/93	Egg

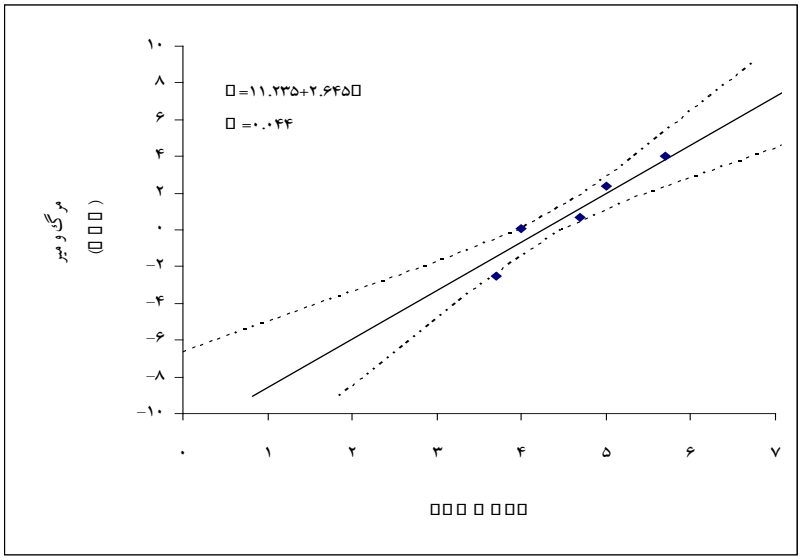
6: Preference with Natural Preference

همچنین در تحقیقات انجام شده، در مورد داده‌های حاصل از کاربرد دو جدایه بومی از قارچ *B. bassiana*، یک جدایه بومی از قارچ *M. anisopliae* به همراه یک فرآورده بیولوژیک مبتنی بر اسپورهای قارچ *M. anisopliae*var. acridum با نام تجاری Green Muscle ویژه کنترل ملخ‌های شاخک کوتاه روی ملخ *Chrotogonustrac hypterus* Blanchard، کم‌ترین LC_{50} مربوط به جدایه بومی قارچ *M. anisopliae* در حشرات ماده و معادل ۱۸۷ اسپور بر حشره بود. بیش‌ترین LC_{50} مربوط به فرآورده بیولوژیک روی حشرات نر و معادل ۲۲۰ اسپور بر حشره بود (Mirshekar*et al*., 2004).



شکل۱– نمودار دز- مرگ و میر [1] جدایه‌ی ایرانی قارچ *B. bassiana* روی مراحل رشدی لارو بید آرد

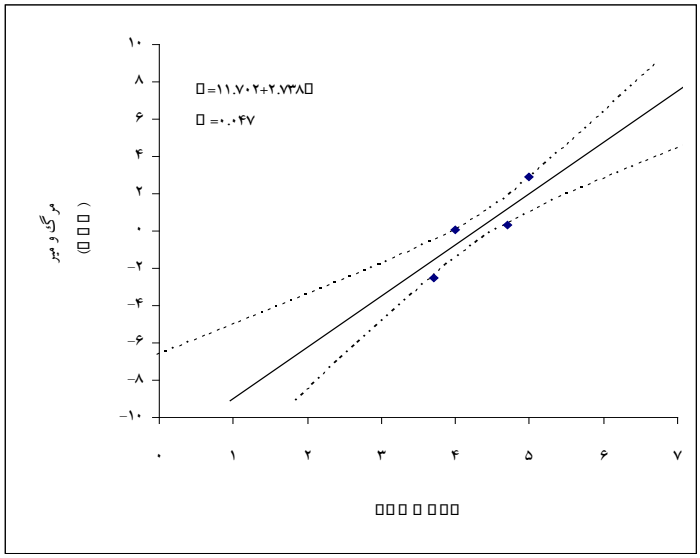
Figure 1. Dose-mortality curve in larvae of *E. kuehniella* by *B. bassiana* isolate IRAN 441C



شکل۲– نمودار دز- مرگ و میر جدایه‌ی ایرانی قارچ *B. bassiana* بر روی مراحل رشدی شفیره بید آرد

Figure 2. Dose-mortality curve in pupae of *E. kuehniella* by *B. bassiana* isolate IRAN 441C

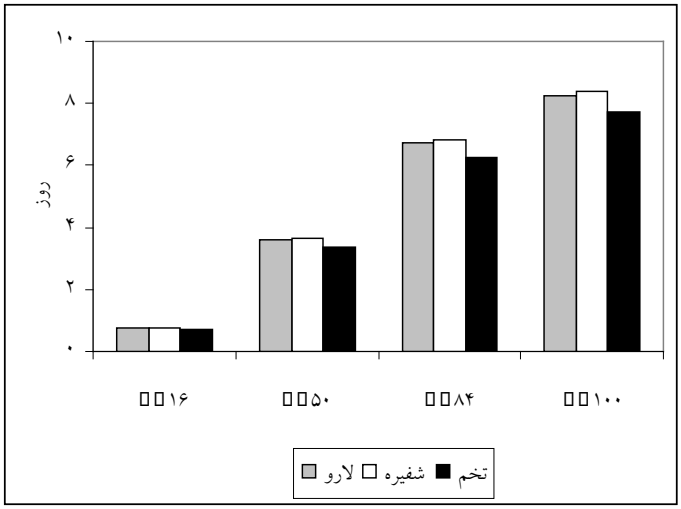
[1] The % response are converted to units of deviation from the mean or normal equivalent deviation = NED



شکل۳- نمودار دُز-مرگ و میر جدایه‌ی ایرانی قارچ *B. bassiana* بر روی مراحل رشدی تخم بید آرد

Figure 3. Dose-mortality curve in egg of *E.kuehniella* by *B.bassiana* isolate IRAN 441C

زمان کشندگی بر مراحل رشدی تخم، لارو و شفیره برای گروه‌های دزی که تا پایان آزمایش نیمی از حشرات تلف شدند، محاسبه گردید. بالاترین و پایین‌ترین زمان ۵۰ درصد کشندگی به ترتیب برای شفیره و تخم و معادل ۳/۶۷ و ۳/۳۸ روز بود (شکل ۴).



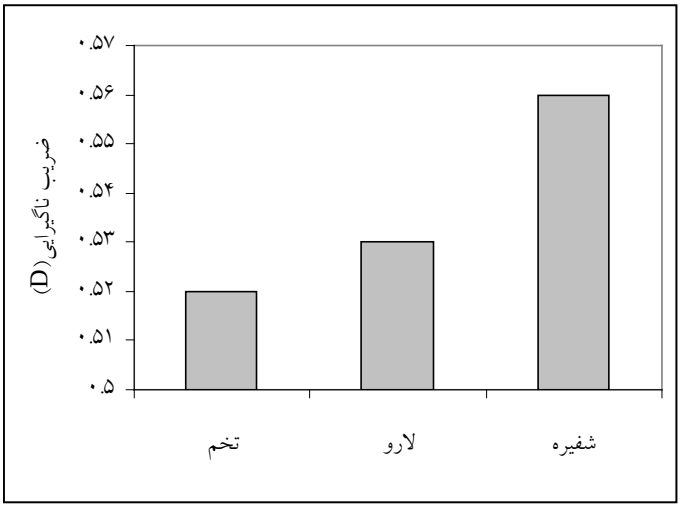
شکل ۴- مقایسه زمان کشندگی جدایه IRAN 441C در جمعیت تخم، لارو و شفیره بید آرد (LT_x= زمان کشندگی (روز) و x درصد)

Figure 4. Lethal time of isolate IRAN 441C on egg, larvae and pupa of flour mouth

زمان کشندگی جدایه به تفکیک بر مراحل رشدی حشره‌کامل و لارو در ارقام مختلف برای گروه‌های دُزی که تا پایان آزمایش نیمی از حشرات تلف شدند، محاسبه گردید. پایین‌ترین

زمان ۵۰ درصد کشندگی به‌ترتیب برای لارو و حشره‌کامل مربوط به رقم سایر و به‌ترتیب معادل ۴/۶۹ و ۶/۶۸ روز بود. بالاترین زمان ۵۰ درصد کشندگی لارو و حشره‌کامل مربوط به رقم دیری و به ترتیب معادل ۶/۴۲ و ۷/۰۷ روز بود (Latifian *et al*., 2009). در تحقیقی دیگر زمان کشندگی جدایه‌ها به تفکیک بر مراحل رشدی حشرات کامل نر و ماده برای گروه‌های دُزی که تا پایان آزمایش نیمی از حشرات تلف شدند، محاسبه گردید. کم‌ترین زمان ۵۰ درصد کشندگی مربوط به جدایه بومی قارچ *M. anisopliae* روی حشرات نر و معادل ۳/۱۲ روز بود و بیش‌ترین زمان ۵۰ درصد کشندگی مربوط به فرآورده بیولوژیک مبتنی بر اسپورهای قارچ *M. anisopliae* و معادل ۶/۴۱ روز بود (Mirshekar *et al*., 2004). همچنین در این تحقیق مراحل مختلف زندگی ملخ *C. trachypterus*، از نظر حساسیت به جدایه‌ی بومی قارچ *M. anisopliae* مورد بررسی قرار گرفت، نتایج حاصل نشان داد که حساسیت حشره، با افزایش سن به قارچ کاهش پیدا می‌کند به‌طوری‌که کم‌ترین زمان ۵۰ درصد کشندگی برای پوره‌های سنین ۴، ۵ و ۶ به‌ترتیب ۷/۵، ۷/۹ و ۵/۱۷ روز بود و در حشرات کامل در طول مدت آزمایش، تلفات به ۵۰ درصد نرسید (Mirshekar *et al*., 2004).

مقایسه ضریب ایمنی (ناگیرایی=D) برای سه مرحله رشدی تخم، لارو و شفیره در شکل ۵ نشان داده شده است. همان‌طور که در شکل ملاحظه می‌گردد، بالاترین مقدار ضریب ایمنی در مرحله رشدی شفیره نمایه گردیده‌است. این در حالی است که کم‌ترین ناگیرایی در مرحله رشدی تخم ثبت شده است. در نتیجه برای کنترل مؤثر آفت در مرحله رشدی تخم به دُز پایین‌تری از قارچ نیاز است.



شکل ۵- مقایسه ضریب ایمنی مراحل رشدی تخم، لارو و شفیره بید آرد نسبت به جدایه IRAN 441C

Figure 5 . Immnueity index of isolate IRAN 441C on egg, larvae and pupa of flour moth

در تحقیقات انجام شده در مورد داده‌های حاصل از کاربرد جدایه انتخابی روی شپشه‌دندانه‌دار پرورش یافته روی سه رقم خرمای سایر، زاهدی و دیری بالاترین مقدار این ضریب در هر دو مرحله رشدی (لارو و حشره کامل) برای رقم دیری نمایه گردیده است. این در حالی است که در رقم زاهدی، کم‌ترین ناگیرایی نسبت به دو رقم دیگر مورد مطالعه ثبت شده است، در نتیجه برای کنترل مؤثر آفت در رقم دیری به دز بالاتری از قارچ نیاز است. در حالیکه برای به کارگیری قارچ در کنترل میکروبی آفت در رقم زاهدی به دُز کم‌تری احتیاج است. از طرف دیگر ضریب ناگیرایی مرحله حشره کامل در سه رقم بالاتر از مرحله لاروی بود (Latifian *et al*, 2009). محققین دیگر انواع مختلفی از قارچ‌های بیمارگر حشرات را روی گونه‌های مختلف آفات انباری در شرایط آزمایشگاهی و انباری با موفقیت گزارش نموده‌اند (Akbar *et al*., 2004 ; Batta, 2004 ; Moore *et al*., 2000; Sabbour & El. Aziz, 2010). به طور کلی قارچ *B. bassiana* و *M. anisopliae* برای کنترل میکروبی شب‌پره‌های *E. kuehniella* و *Plodiainter punctella* HB. در شرایط انبارداری غلات با موفقیت استفاده گردید (Horak, 1994). در نهایت نتایج تحقیقات در فاز آزمایشگاهی که قدم نخست در امکان‌سنجی کاربرد این قارچ در کنترل میکروبی شب‌پره آرد روی خرما می‌باشد، نشان داد که قارچ عامل بیمارگر از دیدگاه همه‌گیرشناسی از پتانسیل کاربرد بالایی برخوردار است.

سپاسگزاری

بدینوسیله از مدیریت محترم مؤسسه تحقیقات خرما و میوه‌های گرمسیری کشور (جناب آقای دکتر عبدالامیر راهنما) به‌خاطر فراهم نمودن امکانات اجرای طرح و نیز از همکاری‌های جناب آقای دکتر مصطفی حقانی و آقای مهندس محمد چالنگی قدردانی می‌گردد.

منابع

Akbar W., Lord J.C., Nechols J.R., Howard R.W. 2004. Diatomaceous earth increases the efficacy of *Beauveriabassiana*against *Triboliumcastaneum*larvae and increases conidia attachment. *Journal of Economic Entomology*. 97 (2): 273–280.

Bagheri-Zenouz, E. 2007.*Pests of Stored Products and Management to Maintain Bioecology of Insects*, Acari and Microorganism. University of Tehran Publication, Iran

Batta Y.A. 2004. Control of the rice weevil (*Sitophilusoryzae*L., Coleoptera: Curculionidae) with various formulations of *Metarhiziumanisopliae*. *Crop Protection.* 23 (2): 103–108.

Beegle, C. C. & YamamotoT. 1992**.** Invitation paper C.P. Alexander fund. History of*Bacillus thuringiensis*Bertiner research and development *Canadian Entomologist* 124 587-616.

Boucias, D. G. &PendlandJ. C. 1998. *Principles of Insect Pathology*. Kluwer Academic Publishers. Boston, Masachusetts. 491Pp.

Butt, T. M. & M. S. Goettel**.** 2000**.** Bioassay of entomogenous fungi. Pp. 141-195In: Navon, A. and K. R. S. Ascher(eds.).*Bioassay ofEntomopathogenicMicrobes and Nematodes*. CABI publishing, U. K.

Charnley, A. K.1992. Mechanisms of fungal pathogenesis in insects with particular reference to locusts. In C. J. Lomer and C. Prior: (Eds)Biological control of locusts and grasshoppers, proceeding of a workshop held at International Institute of Tropical AgricultureCotonou, Republic ofBenin. CAB International UK.

Daoust, R. A. & RobertsD. W.1983. Studies on the prolonged storage of *Metarhiziumanisopliae*conidia effect of growth substrate on conidial survival and virulence against mosquitoes**.** J. Inverteb. Path. 41: 161-170.

Dehoog, G. S.1972. The genera *Beauveria*, *Isaria*, *Tritirachium*and *Acrodontium* gen. Nov. *Studies in Mycology* (CBS) 1:1-41

Fragues, J., DelmasJ. C.& LebrunR. A. 1994**.** Leaf consumption by larvae of Colorado potatoes beetle(Coleoptera: Chrysomelidae) infected with the entomopathogen, *Beauveriabassiana*. Pp. 23-69In: Butt, T. M., Jackson, C. and Magan, N. (Eds.) Fungi as biocontrol agents, Progress, Problems and Potentials. CAB International, Wallingford UK.

Ghazavii, M. Kharazi-Pakdel,A.Ershad,J.&Bagherizenouz,E. 2002. Effeciency of Iranian isolates of *Beauveriabassiana*againset*Locustamigratoria* (Orthoptera: Acrididae). *Applied Entomology and Phytopathology*. 69(2): 111-128

Gillespie, A. T.& Clayton,N.1989. The use of entomogenous fungi for pest control and the role of toxin in pathogenesis. *Pesticides Science*. 27: 203-215.

Gomez K. A.&Gomez A. A. 1984**.**Statistical Procedures for Agricultural Research. 2nd end. New York, NY, USA: John Wiley and Sons. Pp. 116–140.

Gross, H. R. JR., Pair, S.D.& JacksonR.D. 1985. Behavioral responses of primary entomophagous predators to larval homogenates of *Heliotbiszea* and *Spodopterafrugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in whorl-stage corn. *Journal of Environmental Entomology*, 14:360-364

Hassan, L. S., &Steenberg,T.2007. Combinating larval parasitoids and entomophatogenic fungus for biological controlof*Sitophilus granaries* in stored grain.*Biological Control*, 40: 237-242.

Horak M. 1994. A review of *cadra*walker in Australia: five new native species and the two introduced pest species (Lepidoptera: Pyralidae: Phycitinae). *Australian Journal of Entomology*, 33 (3): 245–262.

Iwana, R. &AshidaM. 1986. Biosynthesis of prophenoloxidase in hemocytes of larval hemolymph of the silkworm, *Bombyxmori*. *Insect Biochemistry*, 16:547-555.

James, E. T. & Lord, J. C.2003. Tritrophic interactions and storage pest control: interaction of the fungus *Beauveriabassiana* with resistant oat varieties for control of *Oryzaephilussurinamensis*. *Insect Pathology and Microbial Control*, 4: 153-170

Jassim, H. K., Abdullah,L. M.&Abd-Al-Ahad, I. 1998. Determination of the exact concentration of *Beauveriabassiana* to control the larvae of the Fig moth *Ephestiacautella*on stored dates in Iraq. *Arab Journal of Plant Protection*, 6: 44-45

Kawakami, K. 1987. The use of an entomogenous fungus *Beauveriabrongniartii*, to control the yellow- spottedlongicorn beetle, psacotbeabilaris. Extension Bulletin, ASPAC Food and fertilizer technology center for the Asian and pacific Region (1987) No. 257, Pp. 38-39.

Kaya, G. P. 1993. *Humeral Antibacterial Immunity in Insect Immunity*. Kluwer Academic Press, London. Pp 93-115.

Latifian, M. 2004. Date *palm Stored Pests,Control Technology*. AhangGhalamPublicher. Mashhad,Iran

Latifian, M.,Soleimannejadian,E.Ghazavi, M.,Hayati, J.,Mosadegh,S, M. &Nikbakht,P.2009. Evaluation of three *Beauveriabassiana* isolates on Sawtoothed beetle *Oryzaephilussurinaemensis* and the effect of different temperature on their germination and mycelium growth. 77(1): 151-168.

Mirshekar, A. M. Ghazavi. P. Azmayeshfard. & A. Kharazi-Pakdel. 2004. Comparative and laboratory study of pathogencity of *Beauveriabassiana* and *Metarhiziumanisopliae* on *Chrotogonustrachypterus*. 68(1): 141-156.

Moore D., Lord J.C.& Smith S.M. 2000. Pathogens. p. 193–227. In: “Alternatives to Pesticides in Stored-Product IPM” (Bh. Subramanyam, D.W. Hagstrum, eds.). Kluwer Academic Publishers, Dordreecht, 193 Pp.

Navon, A. & K. R. S. Ascher. 2000. *Bioassay of EntomophathogenicMicrobes and Nematodes*.CABI publishing. 324Pp.

Padin, S. B., Dal belloG. M. &Vasicek, L.1994. *Bioinsecticide Potential of EntomopathogenicFungi in Stored Grain Pests*. Rev. Fac. Agron. Univ. Nac. La Plata. 15: 1-7.

Pezhman, H. 2001. *Guidness of Cultivation, Sanitation and Harvesting of Date palm.*AhangGhalamPublicher. Mashhad,Iran

Sabbour M.M., Abd-El-Aziz Sh.E. 2010. Efficacy of some bioinsecticides against *Bruchidius incarnates* (Boh.) (Coleoptera: Bruchidae) infestation during storage. *Journal of Plant ProtectionResearch*, 50 (1): 25–31.

Steinhaus, E. A. 1967. *Insect Microbiology*. New York and London: Hafner Publishing Co.

Webb, S.E. & Shelton,A.M. 1990. Effect of age structure on the outcome of viral epizootics in field populations ofimported cabbage worm (Lepidoptera: Pieridae). *Environmental Entomology*, 19:111-116.

Yoshinori, T. & Kaya,H. K. 1992. *Insect Pathology*. Academic Press. USA