پژوهش‌های کاربردی در گیاه‌پزشکی ۱۳ (۱): ۱۲۱–۱۱۱ (۱۴۰۳)- مقاله پژوهشی
Journal of Applied Research in Plant Protection 13 (1): 111–121 (2024)-*Research Article*

https://dx.doi.org/10.22034/arpp.2024.17803

بررسی اثرکشندگی قارچ بیمارگر حشرات، *Beauveria bassiana* در ترکیب با فوزالون و لامبداسای هالوترین علیه شپشه گندم، *Sitophilus granarius*

عاطفه ارمک[۱]، موسی صابر[۱]✉، مهدی ارزنلو[۱] و فریبا سهرابی[۲]

[۱]گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. [۲]گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر، ایران.
✉saber@tabrizu.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۲/۰۵/۱۵ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۹/۲۹ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۰۲

چکیده

غلات بعنوان منبع عمده و مهم غذایی برای بشر، معمولاً پس ازبرداشت تا زمان مصرف در انبار نگهداری شده و مورد حمله آفات انباری قرار می گیرند. یکی از آفات مهم غلات بخصوص گندم، شپشه گندم *Sitophilus granarius* است. در این پژوهش، اثر کشندگی دو حشره‌کش فوزالون و لامبداسای‌هالوترین، دو جدایه مختلف از قارچ بیمارگر حشرات، *Beauveria bassiana* و هم چنین اثر ترکیبی آنها روی شپشه گندم بررسی شد. زیست‌سنجی حشره‌کش‌ها به روش تماس با باقیمانده سمی و زیست‌سنجی قارچ بیمارگر به روش غوطه‌وری انجام شد. مرگ و میر حشرات کامل تیمار شده با حشره‌کش‌ها پس از ۲۴ ساعت و با جدایه‌های قارچ بیمارگر پس از ده روز ثبت شد. همچنین اثر اختلاط LC_{30} حشره کش‌ها با LC_{50} قارچ بیمارگر بر مرگ و میر حشرات کامل بررسی شد. مقادیر LC_{50} فوزالون و لامبداسای هالوترین به ترتیب ۲/۸۲ µg a.i./ml و ۰/۲۲ بدست آمد. مقادیر LC_{50} جدایه‌های OZ1 و OZ2 قارچ *B. bassiana* به ترتیب $9/3\times10^4$ و $9/03\times10^4$ کنیدی در میلی لیتر بود. نتایج بررسی اثر ترکیبی حشره‌کش‌ها و جدایه‌های قارچ بیمارگر نشان داد که فوزالون و لامبداسای هالوترین اثر سینرژیستی بر کشندگی جدایه‌های قارچ داشتند. بطور کلی می‌توان نتیجه گرفت که تیمار اولیه این آفت بوسیله غلظت‌های پایین حشره‌کش‌های فوزالون و یا لامبداسای‌هالوترین، اثر کشندگی قارچ بیمارگر *B. bassiana* را تقویت می‌کند.

کلمات کلیدی: اثرات کشندگی، شپشه گندم، کنترل میکروبی، زهرآگینی، ارگانوفسفات، پایریتروئید

Lethal effects of entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* in combination with phosalone and lambda-cyhalothrin on the wheat weevil, *Sitophilus granarius*

Atefeh Armak[1], Moosa Saber✉[1], Mahdi Arzanlou[1], Fariba Sohrabi[2]

[1]*Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.* [2]*Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Persian Gulf University, Bushehr, Iran.*✉saber@tabrizu.ac.ir

Received: 6 August 2023 Revised: 20 December 2023 Accepted: 23 December 2023

Abstract

Cereals, as the major and important sources of food for humans, are usually stored in warehouses until consumption so they may be attacked by stored products pests. Therefore, it is necessary to prevent the economic damages of such pests as the main issue. One of the important pests of cereals, especially wheat, is the wheat weevil, *Sitophilus granarius*. In the current study, the sole and combined effects of phosalone, lambda-cyhalothrin and *Beauveria bassiana*, were studied on wheat weevil. Bioassays of the insecticides were carried out by contact residue exposure method, while *B. bassiana* bioassay was done by immersion method. Mortality of the adult treated by insecticides was recorded after 24 hours, while the exposure time was 10 days for *B. bassiana*. Also, the combined effect of the insecticides and the isolates of fungus *B. bassiana* were evaluated on adult insects. The LC_{50} values of phosalone and lambda-cyhalothrin were 2.82 and 0.22 µg a.i./ml, respectively, while the LC_{50} values of OZ1 and OZ2 isolates of *B. bassiana* were reported to be 9.3×10^4 and 9.03×10^4 conidia per ml, respectively. Results of the combined effect of insecticides and *B. bassiana* isolates showed that phosalone and lambda-cyhalothrin were synergistic for *B. bassiana* lethality against *S. granarius*. In general, it can be concluded that the initial treatment with low concentrations of phosalone and lambda-cyhalothrin significantly enhances the killing effect of *B. bassiana*.

Keywords: Lethal effect, Wheat weevil, Microbial control, Virulence, Organophosphate, Pyrethroid.

How to cite:
Armak A, Saber M, Arzanlou M, Sohrabi F, 2024. Lethal effects of entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* in combination with phosalone and lambda-cyhalothrin on the wheat weevil, Sitophilus granarius (L.). *Journal of Applied Research in Plant Protection* 13 (1): 111–121.

مقدمه

غلات از منابع غذایی عمده و مهم برای بشر می‌باشند که بیشتر مواقع از زمان برداشت تا زمان مصرف در انبار نگهداری شده و مورد حمله آفات انباری قرار می‌گیرند (Rajapakse 2006). شپشه گندم، *Sitophilus granarius* (L.) از آفات مهم انباری غلات است که تقریبا پراکنش جهانی داشته و خسارت قابل توجهی به وارد می‌کند (Rees 1996). شرایط تغذیه‌ای این آفت محیط را برای فعالیت میکروارگانیسم‌هایی مانند قارچ‌های ساپروفیت مناسب می‌کند و از این طریق هم موجب خسارت می شوند (Levic *et al.* 2004).

استفاده بیش ازحد از ترکیبات شیمیایی برای کنترل آفات کشاورزی در زیست بوم‌های کشاورزی و انبارها، خطرات و اثرات جانبی بسیاری را در پی داشته است که از آن جمله می توان به بروز پدیده مقاومت، طغیان مجدد آفات، پیدایش آفات ثانویه، خطر بقایای آفتکش‌ها، اثر روی موجودات غیرهدف و اثرات مضر بر سلامتی انسان اشاره نمود(Talebi-Jahromi 2007; Rumbos et al. 2018). با این حال، حشره‌کش‌های شیمیایی اعم از ترکیبات پایریتروئیدی و ارگانوفسفات به علت کنترل طیف وسیع آفات، ارزان بودن، دوام نسبتاً بالا و همچنین ایجاد مرگ ومیر بالا روی آفات همچنان مورد توجه می‌باشند (Rumbos *et al.* 2018).

حشره‌کش لامبداسای هالوترین، ترکیبی پایریتروئیدی با طیف اثر وسیع بوده و در مقادیر خیلی کم می‌تواند علاوه بر سوسک‌ها، روی آفاتی مثل شته‌ها، تریپس‌ها، لارو پروانه‌ها، موریانه‌ها و حشرات بهداشتی نیز موثر باشد (Talebi-Jahromi 2007). این حشره‌کش روی محصولاتی مثل گندم، سیب زمینی و گیاهان زینتی و گلخانه‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد (Haghshenas 1993). فوزالون، ترکیب فسفره تماسی گوارشی است که روی حشرات و کنه‌ها موثر است. این حشره‌کش برای کنترل طیف وسیعی از سخت بالپوشان، شته‌ها، شپشک‌ها و لارو پروانه‌ها، روی محصولات مختلف از جمله درختان میوه سردسیری، صیفی‌جات و گیاهان زینتی نیز مصرف می‌شود (Talebi-Jahromi 2007).

استفاده از عوامل کنترل بیولوژیک (شکارگرها، پارازیتوئیدها، نماتدها، قارچ‌ها، باکتری‌ها، ویروس‌ها و غیره) به عنوان جزء مهمی از برنامه مدیریت تلفیقی آفات حائز اهمیت می‌باشند. در بین بیمارگرهای حشرات، قارچ‌ها از بهترین عوامل در کنترل گونه‌های مختلف آفات به شمار می‌آیند (Goettel *et al.* 1995; Greathead 1992). قارچ بیمارگر *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin طیف میزبانی بسیار وسیعی داشته و روی بیش از ۷۰۰ گونه از راسته‌های مختلف حشرات، کنه‌ها و سایر بندپایان ایجاد بیماری می‌کند (Goettel *et al.* 1995; Inglis *et al.* 2001; Charnley 2003). اسپورهای این قارچ به میزبان متصل و پس از جوانه زدن از طریق کوتیکول میزبان نفوذ کرده و ساختارهای رویشی قارچ در سراسر بدن بندپایان توسعه می‌یابد (Gabarty *et al.* 2014; Mora *et al.* 2017). مطالعه اثر سه جدایه F-52، F-53 وF-56 قارچ پاتوژن *B. bassiana* روی *S. granarius* نشان داد هر سه جدایه پتانسیل کنترل آفت را دارند (Yanar *et al.* 2019).

با وجود اینکه بیمارگری قارچ *B. bassiana* روی گونه‌های زیادی از حشرات گزارش شده است، اما جدایه‌های این قارچ از درجه تخصص میزبانی بالایی برخوردار هستند که با وضعیت فیزیولوژیک بدن میزبان، خواص کوتیکول حشره، نیازهای غذایی قارچ و دفاع سلولی میزبان ارتباط دارد (Tanda & Kaya 1993; Chery *et al.* 2005; Sewify *et al.* 2014; Yanar *et al.* 2019). بنابرین بررسی اثر جدایه‌های مختلف روی آفات مختلف می‌تواند نتایج متفاوتی را در پی داشته باشد. اثر قارچ-های بیمارگر حشرات روی آفات مختلف انباری از جمله اثر *B. bassiana* و *Metarhizium anisopliae* Metschnikoff (Sorokin) روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات، *Callosobruchus maculatus* (F.) (Cherry *et al.* 2005)، اثر *B. bassiana* بر شپشه برنج *Sitophilus oryzae* (L.) (Sheeba *et al.* 2005) و اثر همین قارچ‌ها بر سایر آفات مهم انباری (Sewify *et al.* 2014; Yanar *et al.* 2019) مطالعه شده است.

اثر استفاده ترکیبی از یک حشره‌کش شیمیایی و یک قارچ بیمارگر می‌تواند به طور بالقوه کارایی کنترل آفات را افزایش دهد و در عین حال اثرات نامطلوب شیمیایی را به حداقل برساند (Paula *et al.* 2011; Sain *et al.* 2019). با این حال، این احتمال وجود دارد که حشره‌کش‌های خاصی بتوانند جوانه‌زنی یا رشد قارچ‌های بیمارگر حشرات را مهار کنند و آنها را برای کاربرد ترکیبی ناسازگار کنند (da Silva *et al.* 2013; Bitsazde *et al.* 2013). استفاده ترکیبی قارچ‌های بیمارگر با سایر آفت‌کش‌ها از جمله ترکیبات گیاهی و مواد معدنی هم مورد توجه محققین مختلف قرار گرفته است بطور مثال کاربرد ترکیبی قارچ بیمارگر *B. bassiana* با خاک دیاتومه (Diatomaceous Earth) در مقابل *S. granarius* موجب افزایش مرگ و میر در مقایسه با کاربرد انفرادی آنها شد (Athanassiou & Steenberg 2007). بنابراین در پژوهش

حاضر به منظور بررسی امکان کاربرد تلفیقی قارچ‌های بیمارگر و حشره‌کش‌های شیمیایی برای مدیریت شپشه گندم *S. granarius* در انبارها، بیمارگری دو جدایه مختلف از قارچ *B. bassiana* به تنهایی و نیز در ترکیب با حشره‌کش‌های شیمیایی لامبداسای هالوترین و فوزالون روی حشرات کامل شپشه گندم مورد بررسی قرار گرفته است. هرچند ممکن است کاربرد قارچ‌های بیمارگر و حتی گاها حشره‌کش‌ها روی محصولات انباری توجیه عملی و احیانا اقتصادی نداشته و یا محدودیت‌های کاربرد داشته باشد با این وجود نتایج مطالعه حاضر روی شپشه گندم بعنوان حشره مدل برای کاربرد ترکیبی قارچ و حشره‌کش در کنترل سایر آفات در شرایط گلخانه‌ای و مزرعه‌ای می‌تواند مورد بهره برداری قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

پرورش شپشه گندم

کلنی شپشه گندم از گروه گیاهپزشکی دانشگاه تبریز تهیه شده و درون قوطی‌های شیر خشک با قطر دهانه ۱۰ و ارتفاع ۱۳ سانتی‌متر پرورش داده شد. جهت تهویه مناسب، چند سوراخ ریز روی درپوش‌های پلاستیکی ظروف پرورش ایجاد شد. درون هر قوطی ۴۰۰ گرم جو و ۱۰۰ گرم گندم پوست کنده ریخته و پس از اضافه نمودن حشرات کامل شپشه گندم، ظروف پرورش در اتاقک رشدی با شرایط دمایی ۲ ± ۲۸ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵ ± ۶۵ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی نگهداری شدند. به منظور داشتن حشرات هم‌سن در ابتدای آزمایش، محتویات حداقل دو قوطی پرورش الک شده و تمام حشرات کامل آنها حذف شدند. حشرات کامل ظاهر شده بعد از گذشت ۷۲ ساعت از زمان الک محتویات ظروف پرورش به عنوان حشرات هم‌سن زیر ۷۲ ساعت برای انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی استفاده شدند.

حشره‌کش و جدایه های قارچی مورد آزمایش

در این آزمایش حشره‌کش‌های فوزالون با نام تجاری زولون با فرمولاسیون 35EC ساخت شرکت کاوش کیمیای کرمان و لامبداسای هالوترین با نام تجاری ژوپیتر با فرمولاسیون 10SC ساخت شرکت آریاشیمی استفاده شد. هم چنین جدایه‌های OZ1 و OZ2 قارچ *B. bassiana* از آزمایشگاه کنترل بیولوژیک گروه گیاهپزشکی دانشگاه تهران تهیه شد. جدایه OZ1 از خاک منطقه ازبکی شهرستان کرج و OZ2 از خاک مزرعه ذرت منطقه نظرآباد کرج جمع آوری شده بودند.

کشت و تکثیر جدایه‌های قارچ بیمارگر B. bassiana

برای کشت جدایه‌های قارچ بیمارگر و به دست آوردن کنیدی به منظور آلوده سازی، از محیط کشت سابورو دکستروز آگار (Sabouraud Dextrose Agar) (ساخت شرکت Ibresco Life Sciences کشور ایتالیا) استفاده شد. کشت قارچ در تشتک‌های پتری شش سانتیمتری حاوی محیط کشت و در شرایط سترون در زیر هود آزمایشگاهی صورت گرفت. پس از انتقال قارچ به محیط کشت جدید درب تشتک پتری برای جلوگیری از آلودگی‌های احتمالی توسط پارافیلم کاملا بسته و سپس در انکوباتور با دمای ۲ ± ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵ ± ۶۵ درصد در تاریکی به مدت دو هفته نگهداری شدند تا به طور کامل کنیدی‌زایی کنند.

تهیه سوسپانسیون اسپور قارچی

توده قارچی از سطح محیط‌های کشت با کنیدی‌زایی کامل توسط تیغ آزمایشگاهی سترون برداشته شده و به داخل لوله-های آزمایش حاوی آب مقطر سترون به همراه ۰/۰۵ درصد توین ۸۰ منتقل و به صورت سوسپانسیون در آورده شدند. درب لوله‌ها توسط پارافیلم بسته شده و لوله‌ها به مدت پنج دقیقه بخوبی تکان داده شدند. سوسپانسیون بدست آمده از پارچه ململ چند لایه عبور داده شد تا ریسه‌ها و قطعات محیط کشت حذف شوند. برای تعیین تراکم کنیدی از لام گلبول شمار نئوبار استفاده شد و غلظت مورد نظر کنیدی با افزودن مقدار مشخص آب مقطر سترون به داخل سوسپانسیون اصلی تهیه شد. در شاهد از آب مقطر سترون حاوی ۰/۰۵ درصد توئین ۸۰ استفاده شد. در کشت‌های انجام شده در این مطالعه درصد تندش کنیدی‌ها در محیط کشت ۹۰ درصد بود.

زیست سنجی جدایه‌های قارچ B. bassiana

اثر قارچ‌ها روی حشرات کامل شپشه گندم به روش غوطه-وری بررسی شد. به این صورت که پس از تهیه غلظت‌های مورد نظر از اسپورها، حشرات کامل شپشه گندم به مدت پنج ثانیه در سوسپانسیون قارچی غوطه‌ور شدند. دامنه غلظت‌های اصلی مورد استفاده در هر دو جدایه OZ1 و OZ2 برابر با $۱۰^{۷}$-$۱۰^{۳}$ کنیدی بر هر میلی لیتر بود. هر غلظت مورد آزمایش دارای دو تکرار و در هر تکرار از ۲۰ عدد حشره استفاده شد. در تیمار شاهد، حشرات کامل در آب مقطر محتوی توین ۸۰ غوطه‌ور

شدند. حشرات تیمار شده به داخل تشتک‌های پلاستیکی (با قطر ۹ سانتی‌متر) محتوی کاغذ صافی منتقل و بعد از گذشت شش ساعت غذای استریل شده شامل ۲۰ گرم گندم به آنها داده شد. تشتک‌های پتری در دمای ۲ ± ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵ ± ۶۵ و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی در داخل انکوباتور نگهداری شدند. مرگ میر حشرات تیمار شده در فواصل زمانی ۲۴ ساعت و تا ۱۰ روز ثبت شد. آزمایش‌های زیست سنجی در هر کدام از جدایه‌ها سه بار تکرار شد.

زیست‌سنجی حشره‌کش‌های شیمیایی

زیست‌سنجی حشره‌کش‌های فوزالون و لامبداسای هالوترین به روش تماس با باقیمانده سمی در تشتک‌های شیشه‌ای انجام شد. ابتدا با آزمایش‌های مقدماتی غلظت‌های کشنده حدود ۱۰ و ۹۰ درصد تعیین شد. سپس تعداد پنج غلظت بر اساس فاصله لگاریتمی برای هر ترکیب مشخص شد. برای هر کدام از غلظت‌های تهیه شده توین ۸۰ به غلظت ۰/۰۵ درصد استفاده شد. دامنه غلظت‌های استفاده شده برای فوزالون ۱۰/۵-۰/۳۵ و برای لامبداسای‌هالوترین ۱-۰/۱ میکروگرم ماده موثر بر میلی-لیتر بود. برای شاهد از آب مقطر به همراه توین ۸۰ استفاده شد. تشتک‌های پتری ۱۰ سانتی‌متری شیشه‌ای با مقدار دو میلی‌لیتر محلول سمی خیس شد. پس از خشک شدن تشتک-های پتری، تعداد ۲۰ عدد حشره کامل هم‌سن در هر تشتک-های پتری رها شد. برای هر غلظت دو تکرار در نظر گرفته شد. حشرات تیمار شده به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲ ± ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵ ± ۶۵ درصد نگهداری شد. مرگ و میر حشرات کامل پس از ۲۴ ساعت ثبت شد. حشراتی که هیچگونه علائم زنده بودن نداشتند و یا آنهایی که پس از تحریک با قلم قادر به حرکت نبودند، مرده در نظر گرفته شدند. زیست سنجی برای هر حشره‌کش سه بار تکرار گردید.

اثر ترکیبی حشره‌کش‌های شیمیایی و جدایه‌های قارچ‌های بیمارگر

ابتدا حدود ۲۰۰ حشره کامل هم‌سن به مدت ۲۴ ساعت در معرض غلظت LC_{30} سم فوزالون (۰/۹۸ میکروگرم ماده موثر بر میلی‌لیتر) و یا لامبداسای هالوترین (۰/۱۲ میکروگرم ماده موثر بر میلی‌لیتر) به صورت تماسی قرار داده شدند. بعد از گذشت ۲۴ ساعت، تعداد ۶۰ عدد حشره زنده مانده بصورت تصادفی از تیمار مربوطه انتخاب شده و سپس به مدت پنج ثانیه در معرض LC_{50} هر کدام از جدایه‌های OZ1 و یا OZ2 قارچ بیمارگر *B. bassiana* به روش غوطه‌وری قرار گرفتند. در این آزمایش دو نوع شاهد هم در نظر گرفته شد. شاهد اول تیمار با آب مقطر و شاهد دوم صرفا تیمار با LC_{50} جدایه‌های قارچ بیمارگر بودند. مرگ و میر ثبت شده در هر کدام از تیمارها و شاهد دوم قبل از تجزیه آماری بوسیله فرمول (1925) Abbott اصلاح شد. آزمایش‌ها در دمای ۲ ± ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵ ± ۶۵ و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی در داخل انکوباتور نگهداری شدند. مرگ میر حشرات تیمار شده در فواصل زمانی ۲۴ ساعت و تا ۱۰ روز ثبت شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

نتایج آزمایش‌های کشندگی از نظر برازش نیکویی با استفاده از فرآیند PROC GENMOD تست شدند (SAS Institute 2018; Robertson *et al.* 2007) و داده ها با استفاده از دستور PROC PROBIT برای محاسبه غلظت‌های کشنده بر مبنای لگاریتمی و استاندارد و همچنین حدود اطمینان مربوطه، تجزیه پروبیت شدند (SAS Institute 2018). داده‌های مربوط به اثرات ترکیبی جدایه‌های قارچ بیمارگر و ترکیبات شیمیایی بر مرگ و میر حشرات کامل، تجزیه واریانس شده و میانگین‌ها با استفاده از روش توکی در سطح احتمال ۵٪ مقایسه شدند (SAS Institute 2018).

نتایج و بحث

نتایج زیست‌سنجی حشره‌کش‌های شیمیایی

نتایج حاصل از زیست‌سنجی روی حشرات کامل شپشه گندم نشان داد که حشره‌کش‌های لامبداسای هالوترین و فوزالون سمیت بسیار زیادی روی حشرات کامل آفت دارند (جدول ۱). بر اساس مقایسه حدود اطمینان داده‌های مربوط به LC_{50} دو ترکیب و عدم هم‌پوشانی آنها، لامبدا سای‌هالوترین بطور معنی‌داری سمیت بیشتری در مقایسه با فوزالون روی این آفت داشت. براساس مقادیر LC_{50} ترکیب لامبداسای هالوترین حدود ۱۳ برابر سمی‌تر از فوزالون بود. این نسبت در LC_{90} حدود ۴۳ برابر بود (جدول ۱).

جدول ۱. کشندگی حاد فوزالون و لامبداسای هالوترین روی حشرات کامل شپشه گندم *Sitophilus granarius*

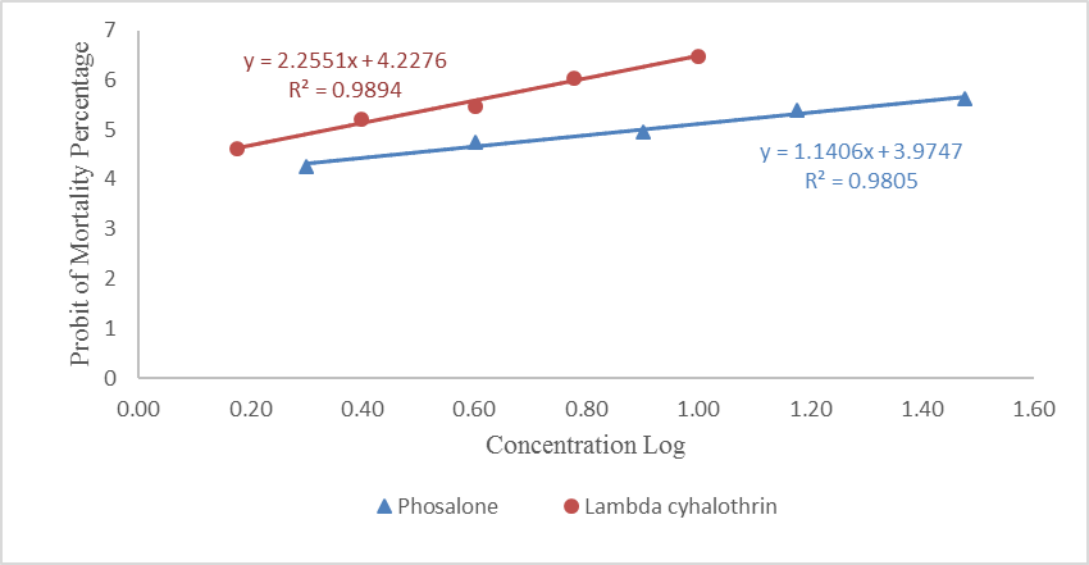
Table 1. Acute toxicity of phosalone and *lambda-cyhalothrin* on wheat weevil, *Sitophilus granarius.*

Insecticide	n	Slope ± SE	χ^2	Lethal concentration (µg a.i./ml)		
				LC_{30} (95% FL**)	LC_{50} (95% FL)	LC_{90} (95% FL)
Phosalone	720	1.14 ± 0.18	0.6	0.98 (0.58-1.40)	2.82 (2.0-4.21)	37.40 (17.8-143.7)
Lambdacyhalothrin	720	2.14 ± 0.29	0.63	0.12 (0.09-0.16)	0.22 (0.17-0.26)	0.86 (0.64-1.36)

*number of used insects

**Lethal concentration and Fiducial Limits (FL) based on standard scale

شیب خط دوز-اثر در تجزیه پروبیت حشره‌کش لامبداسای‌هالوترین نسبت به فوزالون بیشتر بوده و نشان می-دهد با تغییرات کمتر غلظت در لامبداسای‌هالوترین تغییر بیشتری در مرگ و میر حشره ایجاد می‌شود. مثلاً برای افزایش کشندگی جمعیت از ۵۰ به ۹۰٪ در حشره کش لامبداسای هالوترین کافی است غلظت ۳/۹ برابر شود در حالی که در سم فوزالون برای همین منظور غلظت بایستی ۱۳/۳ برابر شود (شکل ۱).



شکل۱. خط دز–اثر تجزیه پروبیت سمیت حشره‌کشهای لامبداسای هالوترین و فوزالون روی شپشه گندم *Sitophilus granarius*

Figure 2. Log dose-response regression line for probit analysis of lambda-cyhalothrine and phosalone on *Sitophilus granarius*.

در پژوهش Karimzadeh *et al.* (2021) مقدار LC_{50} ترکیب لامبداسای‌هالوترین روی شپشه گندم ۴۳/۳۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر بدست آمد که نسبت به مطالعه حاضر سمیت پایینتری بوده است. این تفاوت می‌تواند بخاطر استفاده از دو نوع فرمولاسیون متفاوت و یا جمعیت متفاوت آفت باشد. در پژوهش مذکور، دلتامترین هم اثر کشندگی مشابه با لامبداسای هالوترین نشان داده بود. در پژوهش Ismezilla *et al.* (2020) موثرترین حشره‌کش برای کنترل *S.oryzae* ترکیب اسپاینوسد بود و سایپرمترین از گروه ترکیبات پایرتروئیدی اثر متوسطی روی آفت داشت. در بررسی‌های انجام شده بوسیله Kljajic *et al.* (2006) ترکیب دلتامترین بهمراه کلرپایریفوس سمی‌ترین ترکیبات در مقابل *S. granarius* بودند. ترکیبات پایریتروئیدی برای کنترل شپشه گندم در ایران کمتر مورد استفاده قرار گرفته است (Karimzadeh *et al.* 2021) بنابرین حساسیت شپشه گندم در مقابل لامبداسای هالوترین در مطالعه حاضر ممکن است بخاطر همین استفاده بسیار کمتر پایرتروئیدها باشد.

در این مطالعه فوزالون نیز اثر کشندگی مناسبی روی شپشه گندم نشان داد هرچند سمیت آن کمتر از لامبداسای-هالوترین بود. اثر کشندگی ارگانوفسفات‌ها روی شپشه گندم و یا شپشه برنج در مطالعات مختلفی مطالعه شده و برای بیشتر این ترکیبات اثر کشندگی بالایی گزارش شده است (Kljajic *et al.* 2006; Iqbal *et al.* 2013; Ravandian *et al.* 2015). Ravandian *et al.* (2015) نشان دادند که کلرپایریفوس و

مالاتیون سمیت بالایی بر *S. oryzae* دارند. با وجود اثر مناسب ترکیبات ارگانوفسفات بر علیه این حشرات، بروز مقاومت در آفات و خطرات باقیمانده این حشره‌کش‌ها استفاده از آنها را محدود می‌کند (Arthur *et al.* 2007). این مشکلات موجب انجام آزمایش‌های متعددی برای جایگزینی آنها با ترکیبات پایریتروئیدی شده است (Ravandian *et al.* 2015). پژوهش حاضر نشان داد ترکیب لامبداسای‌هالوترین به دلیل شرایط کشندگی و میزان غلظت می‌تواند جایگزین مناسبی برای ارگانوفسفات‌ها در کنترل شپشه گندم باشد.

نتایج زیست‌سنجی جدایه‌های قارچ B. bassiana

نتایج مربوط به زیست‌سنجی جدایه‌های قارچ *B. bassiana* موید اثر کشندگی بالای هر دو جدایه روی حشرات کامل شپشه گندم بود (جدول ۲). براساس مقدار LC_{50} بدست آمده، و با توجه به همپوشانی محدوده اطمینان بدست آمده، سمیت دو جدایه OZ1 و OZ2 از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول ۲).

جدول ۲. اثر کشندگی جدایه‌های قارچ بیمارگر *Beauveria bassiana* روی حشرات کامل شپشه گندم *Sitophilus granarius*.

Table 2. Toxicity of isolates of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* on wheat weevil, *Sitophilus granarius*.

Isolate	n	Slope ± SE	χ^2(df)	Lethal concentration (spore/ml)	
				LC_{50} (95% FL*)	LC_{90} (95% FL)
OZ1	360	5.98 ± 0.84	8.46(3)	6.2×10^4 (2.5×10^4 -1.5×10^5)	7.1×10^7 (8.9×10^6 -3.8×10^9)
OZ2	360	6.4 ± 0.85	0.68(3)	6.03×10^4 (2.8×10^4 -1.26×10^5)	3.6×10^7 (5.9×10^6 -9.8×10^8)

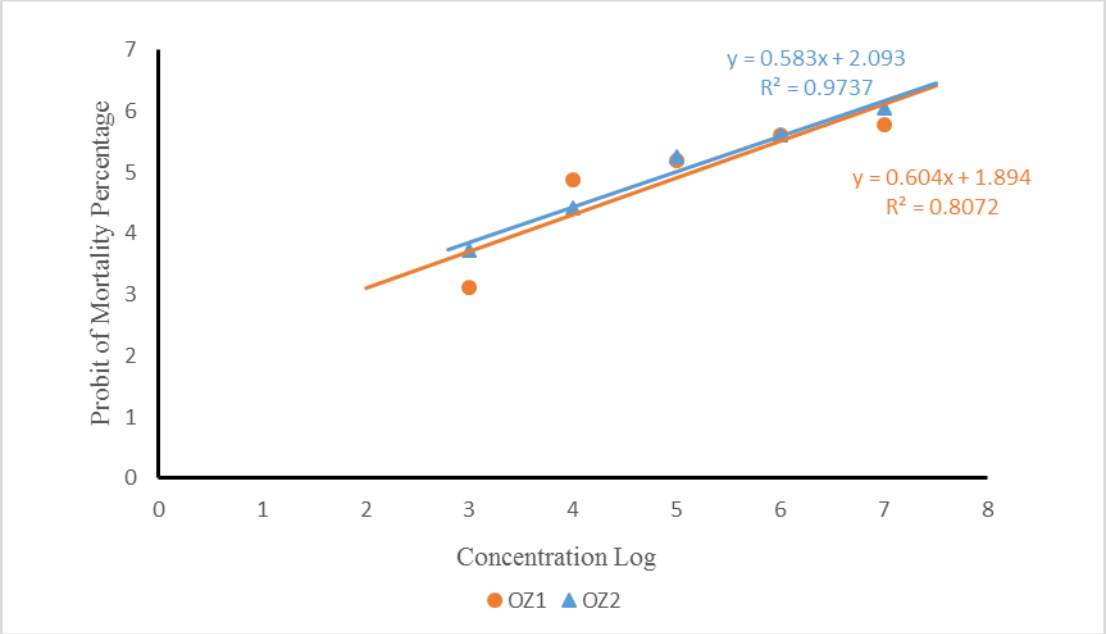
*number of used insects

**Lethal concentration and Fiducial Limits (FL) based on standard scale

شیب خط دز-اثر در هر دو جدایه قارچ بالا بود که نشان می‌دهد جمعیت آفت در مقابل این جدایه‌ها واکنش یکنواخت‌تری نشان می‌دهد. همچنین با افزایش کم در غلظت قارچ کشندگی با شدت بیشتری افزایش پیدا می‌کند (شکل ۲). کارایی قارچ‌های بیمارگر حشرات برای کنترل آفات انباری مختلف در پژوهش‌های قبلی نیز گزارش شده است (Oreste *et al.* 2012; Sabbour *et al.* 2012; Sohrabi *et al.* 2019, 2021;). Adane *et al.* (1996) اثر ده جدایه قارچ *B. bassiana* را روی *S. zeamais* (Motschulsky) مطالعه کردند. تمامی جدایه‌ها روی آفت ایجاد بیماری نمودند و موثرترین آنها I90-520 بود که در غلظت ۱۰^۴ کنیدی بر میلی لیتر موجب ۸۸٪ مرگ و میر شد. در بررسی Mantzoukas *et al.* (2019) غلظت‌های ۱۰^۴، ۱۰^۶ و ۱۰^۸ کنیدی بر میلی لیتر قارچ *B. bassiana* روی *S. granarius* موجب مرگ و میر ۲۶/۷ الی ۵۳/۳ درصد شد. این مقدارکشندگی (۵۳٪/۳) برای غلظت ۱۰^۸ کنیدی بر میلی‌لیتر در مقایسه با نتایج مطالعه حاضر خیلی پایین‌تر است (جدول ۲) و نشان می‌دهد جدایه‌های مورد بررسی در بررسی حاضرکشندگی به مراتب بهتری روی این آفت ایجاد می‌کنند. در پژوهش Kashaveh *et al.* (2011) اثر فرمولاسیون تجاری *B. bassiana* را روی *S. granarius*، *Tribolium castaneum* Herbst و *Oryzaephilus surinamensis* L. بررسی کرده و نشان دادند که *S. granarius* در مقایسه با دو گونه دیگر در مقابل قارچ بیمارگر حساس‌تر بود.

در مطالعه‌ای که به وسیله Batta (2018) انجام گرفت شپشه گندم *S. granarius* به روش گوارشی در معرض قارچ‌های بیمارگر *B. bassiana* و *M. anisopliae* قرار داده شد. نتایج نشان داد هر دو قارچ به روش گوارشی هم می‌توانند موثر واقع شوند. این مطالعه نشان داد موثرترین غلظت برای *B. bassiana* ۱۰^۸ × ۲/۷۵ و برای *M. anisopliae* غلظت ۱۰^۸ × ۲/۶ کنیدی بر میلی‌لیتر بود.

بیمارگری سه ایزوله ایرانی قارچ *M. anisopliae* شامل DEMI001، IRAN 715C و IRAN1018C توسط Khashaveh *et al.* (2008) روی *S. granarius* مطالعه شد. کمترین LC_{50} با مقدار ۱۰^۵ × ۱/۴ مربوط به جدایه EMI001 بود و ایزوله CS1 مورد مطالعه هم کشندگی مناسبی با LC_{50} معادل ۱۰^۵×۳/۱ روی این آفت نشان داد.



شکل ۲. خط دز –اثر تجزیه پروبیت سمیت جدایه های قارچ بیمارگر *Beauveria bassiana* روی شپشه گندم *Sitophilus granarius*.

Figure 2. Log dose-response regression line for probit analysis of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* strains on *Sitophilus granarius*.

در مطالعه‌ای که به وسیله Batta (2018) انجام گرفت شپشه گندم *S. granarius* به روش گوارشی در معرض قارچ‌های بیمارگر *B. bassiana* و *M. anisopliae* قرار داده شد. نتایج نشان داد هر دو قارچ به روش گوارشی هم می‌توانند موثر واقع شوند. این مطالعه نشان داد موثرترین غلظت برای *B. bassiana* $۲/۷۵ \times ۱۰^{۸}$ و برای *M. anisopliae* غلظت $۱۰^{۸} \times$ ۲/۶ کنیدی بر میلی لیتر بود.

بیمارگری سه ایزوله ایرانی قارچ *M. anisopliae* شامل DEMI001، IRAN 715C و IRAN1018C توسط Khashaveh *et al.* (2008) روی *S. granarius* مطالعه شد. کمترین LC_{50} با مقدار $۱/۴ \times ۱۰^{۵}$ مربوط به جدایه EMI001 بود و ایزوله CS1 مورد مطالعه هم کشندگی مناسبی با LC_{50} معادل $۳/۱\times۱۰^{۵}$ روی این آفت نشان داد.

بررسی اثر ۱۱ جدایه *M. anisopliae* و شش جدایه *B. bassiana* روی *S. zeamais* نشان داد که جدایه‌های PPRC-2، PPRC-14 و PPRC-51 قارچ *M. anisopliae* و جدایه‌های PPRC-GG و PPRH-HH قارچ *B. bassiana* مرگ و میری در حد ۹۸/۳-۸۴/۴ درصد ایجاد کردند. در بین جدایه‌های مورد مطالعه، PPRC-2 با LC_{50} معادل $۱/۴۶ \times ۱۰$ موثرترین بود. تفاوت نتایج این مطالعه و مطالعه حاضر می‌تواند بخاطر تفاوت ژنتیکی جدایه‌های مورد مطالعه، تفاوت در منشا جمع‌آوری این جدایه‌ها، روش زیست‌سنجی مورد استفاده و همچنین گونه آفت مورد بررسی باشد (Teshome & Tefera 2009).

اثر ترکیبی حشره‌کش‌های شیمیایی و جدایه‌های B. bassiana

تجزیه و تحلیل نتایج حاصل از آزمایش کاربرد مقادیر LC_{50} جدایه‌های قارچ بیمارگر *B. bassiana* یک روز پس از اعمال LC_{30} حشره‌کش‌های شیمیایی نشان داد که در این حالت کشندگی هر دو جدایه OZ1 و OZ2 افزایش یافت. اثر کشندگی جدایه‌های OZ1 و OZ2 پس از اعمال تیمار با فوزالون ($F = 126.9$; $df = 3, 23$; $P < 0.0001$) و همچنین تیمار با لامبداسای‌هالوترین ($F = 89.2$; $df = 3, 23$; $P < 0.0001$) بطور معنی داری افزایش یافت (جدول ۳).

جدول ۳. اثر کشندگی غلظت LC_{50} جدایه‌های قارچ پاتوژن *Beauveria bassiana* روی حشرات کامل شپشه گندم، *Sitophilus granarius* که قبلا به مدت ۲۴ ساعت در معرض LC_{30} حشره‌کش فوزالون و یا لامبداساى هالوترین قرار گرفته بودند.

Table 3. Toxicity of LC_{50} of isolates of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* on wheat weevil, *Sitophilus granarius* exposed to LC_{30} of either phosalone or lambdacyhalothrin for 24 h.

Treatment	n	Lambdacyhalothrin	Phosalone
OZ1	180	96.7 ± 2.11 [a]	100 ± 0.0 [a]
OZ2	180	91.7 ± 1.7 [a]	98.3 ± 1.67 [a]
OZ1 Control*	180	46.7 ± 2.11 [b]	46.7 ± 2.11 [b]
OZ2 Control*	180	50.0 ± 4.47 [b]	50.0 ± 4.47 [b]

*LC_{50} value of the *B. bassiana* isolate applied on insects that were not exposed to the chemical
The means in a column followed by different small letter are significantly different (Tukey), a=<0.05

ترکیب قارچ‌های بیمارگر حشرات با حشره‌کش‌ها ممکن است راهبرد مدیریت آفات پایدارتر با هزینه کمتر فراهم کند (Sahayaraj *et al*. 2011). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که غلظت‌های زیرکشنده فوزالون و لامبداساى‌هالوترین به طور قابل توجهی حساسیت حشرات کامل *S. granarius* را به آلودگی *B. bassiana* افزایش می‌دهد. طبق اطلاعات موجود، این مطالعه اولین بررسی انجام شده در زمینه کاربرد همزمان قارچ‌های بیمارگرو حشره‌کش‌های شیمیایی در کنترل شپشه گندم *S. granarius* است. با این حال، مرگ و میر افزایشی سایر حشرات آفت با ترکیبی از قارچ‌های بیمارگر و حشره‌کش-های مختلف در پژوهش‌های قبلی گزارش شده است. برای مثال، Bahmani *et al.* (2020) گزارش کردند که ترکیب قارچ *B. bassiana* و حشره‌کش میکروبی *Bacillus thuringiensis kurstaki* (BtK) ، منجر به افزایش کنترل لاروهای *Ephestia kuehniella* (Zeller) در مقایسه با کاربرد هر کدام از این تیمارها به تنهایی شد. در مطالعه دیگری، کاربرد ترکیبی حشره‌کش اسپینوساد در غلظت‌های زیرکشنده و قارچ *M. anisopliae* منجر به افزایش مرگ و میر و کاهش تغذیه دو گونه کرم آرد *Agriotes lineatus* (L.) و *A. obscurus* (L.) شد (Ericsson *et al.* 2007). اثرات سینرژیستی حشره‌کش اسپینوساد در ترکیب با قارچ *B. bassiana* علیه لاروهای شب-پره آرد *E. kuehniella* نیز قبلاً گزارش شده است (Sohrabi *et al.* 2021). در پژوهش انجام شده توسط Bitsazde *et al.* (2013) یک اثر متقابل افزایشی در کاربرد همزمان *B. bassiana* و حشره‌کش‌های دیفلوبنزورون یا نووالورون روی پوره‌های سن دوم ملخ مهاجر *Locusta migratoria migratorioides* (Sauss.) آشکار شد. با این حال، یک اثر آنتاگونیستی زمانی که پوره‌های ملخ ابتدا با برگ‌های ذرت تیمار شده با دیفلوبنزورون تغذیه و بعد از ۴۸ ساعت با قارچ تیمار شدند، مشاهده گردید. این اثرات متقابل افزایشی یا سینرژیستی بین حشره‌کش‌ها و قارچ‌های بیمارگر ممکن است به این دلیل ایجاد شود که حشره‌کش، مکانیسم‌های سم‌زدایی را که یک حشره آلوده به قارچ ممکن است برای پاک کردن آفتکش‌های قارچی استفاده کند، مهار می‌کند و در نتیجه مرگ آن را تسریع می‌کند (Serebrov *et al.* 2003; Ericsson *et al.* 2007). امروزه چندین فرمولاسیون از قارچ *B. bassiana* با نام-های Boverosil®، Mycotrol® ES، Mycotrol® 22WP و Naturalis® SC برای استفاده در انبارها در سطح دنیا ثبت شده است (Yanar *et al.* 2019).

بطور کلی، نتایج این بررسی نشان می‌دهد که قارچ *B. bassiana* به تنهایی و نیز در ترکیب با حشره‌کش‌های فوزالون و لامبداساى‌هالوترین می‌تواند به عنوان ابزار ارزشمندی در برنامه‌های مدیریت تلفیقی علیه *S. granarius* در محصولات انباری استفاده شود. تیمارهای ترکیبی می‌توانند مقدار حشره-کش مورد نیاز برای کنترل *S. granarius* را کاهش دهند و فشار انتخابی روی آفت را برای ایجاد مقاومت در برابر حشره‌کش کاهش دهند. مطالعات بیشتر برای تعیین ترکیب بهینه قارچ *B. bassiana* و حشره‌کش‌های فوزالون و لامبداساى‌هالوترین و نیز فرمولاسیون مناسب از این حشره-کش‌ها برای کنترل آلودگی *S. granarius* در شرایط خاص انبارهای خالی ضروری است. همچنین مطالعه حاضر روی *S. granarius* می تواند بعنوان یک مطالعه مدل در نظر گرفته شده و نتایج جالب توجه آن پس از مطالعه موردی برای سایر آفات کشاورزی تعمیم داده شود.

References

Abbott WS, 1925. A method of computing the effectiveness of insecticides. *Journal of Economic Entomology* 18: 265–267.

Adane K, Moore D, Archer SA, 1996. Preliminary studies on the use of *Beauveria bassiana* to control

Sitophilus zeamais (Coleoptera: Curculionidae) in the laboratory. *Journal of Stored Products Research* 32 (2): 105–113

Arthur FH, Chanbang Y, Wilde GE and Throne JE, 2007. Efficacy of diatomaceous earth and methoprene, alone and in combination, against *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptra: Bostrichidae) in rough rice. *Journal of Stored Products Research* 43: 369–401.

Athanassiou CG, Steenberg T, 2007. Insecticidal Effect of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Ascomycota: Hypocreales) in Combination with Three Diatomaceous Earth Formulations against *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Biological Control* 40: 411–416.

Bahmani N, Latif M, Ostovan H, Hesami S, 2020. Pathogenic effects of *Beauveria bassiana* and *Bacillus thuringiensis* on the population dynamics of *Ephestia kuehniella*. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 30: 1–9

Batta YA, 2018. Efficacy of two species of entomopathogenic fungi against the stored-grain pest, *Sitophilus granarius* L. (Curculionidae: Coleoptera), via oral ingestion. *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 28 (44). doi.org/10.1186/s41938-018-0048-x

Bitsazde N, Jaronski S, Khasdan V, Abashidze M, Latchininsky A, Samadashvili D, Sokhadze I, Rippa M, Ishaaya I, Horowitz RA, 2013. Joint action of *Beauveria bassiana* and the insect growth regulators diflubenzuron and novaluron, on the migratory locust, *Lucusta migratoria. Journal of Pest Science* 86: 293–300.

Charnley AK, 2003. Fungal pathogens of insects: cuticle degrading enzymes and toxins. *Advances in Botanical Research* 40: 241–321.

Cherry AJ, Abalo P, Hell K, 2005. A laboratory assessment of the potential of different strains of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Balsamo) vuillemin and *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) to control *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) in stored cowpea. *Journal of Stored Products Research* 41(3): 295–309.

Cox PD, Wakefield ME, Price NR, Wildey KB, Moore D, *et al.*, 2003. Entomopathogenic fungi for the control of invertebrate pests in storage structures: advances in stored product protection. *Proceedings of the 8th International Working Conference on Stored Product Protection*, 22–26 July 2002, York, UK. PP. 87–94.

Da Silva RA, Quintela ED, Mascarin GM, Barrigossi JAF, Liao LM, 2013. Compatibility of conventional agrochemicals used in rice crops with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Scientia Agricola* 70(3): 152–160.

Ericsson JD, Todd Kabaluk J, Goettel MS, Myers JH, 2007. Spinosad interacts synergistically with the insect pathogen *Metarhizium anisopliae* against the exotic wireworms *Agriotes lineatus* and *Agriotes obscurus* (Coleoptera: Elateridae). *Journal of Economic Entomology* 100: 31–38.

Gabarty A, Salem HM, Fouda MA, Abad AA, Ibrahim AA, 2014. Pathogencity induced by the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in *Agrotis ipsilon*. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences* 7: 95–100

Goettel MS, Johnson DL, Inglis GD, 1995. The role of fungi in the biological control of grasshoppers. *Canadian Journal of Botany* 73 (1): 71–75.

Greathead DJ, 1992. Natural enemies of tropical locusts and grasshoppers: their impact and potential as biological control agents. In: Lomer CJ, Prior C (eds). Biological Control of Locusts and Grasshoppers. CAB International, Wallingford, UK. Pp. 105–121.

Haghshenas AR, 1993. The effect of the five types of insecticides in granules and emulsion formulation on sun pest. Master of Science thesis. Faculty of Agriculture, Tehran University, 162 pp.

Inglis GD, Goettel MS, Butt TM, Strasser H, 2001. Use of hyphomycetous fungi for managing insect pests. In: Butt TM, Jackson C, Magan N (eds). Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential. CAB International, Wallingford, UK. Pp. 27–69.

Iqbal H, Rashid A, Begum RA, Shahjahan R, 2013. Toxicity of cypermethrin and malathion on rice weevil *Sitophilus oryzae* (L.) and their effect on esterase isozymes. *Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences* 3(1): 305–313.

Ismeazilla MB, Mohd Rasdi Z, Dzolkhifli O, Norhayu A, Izaitul Aida I, *et al.*, 2020. An evaluation of mortality of *Sitophilus oryzae* treated with selected insecticides via filter paper and food impregnated method. *Asian Journal of Agriculture and Rural Development* 10 (1): 23–38.

Karimzadeh R, Salehpour M, Saber M, 2021. Initial efficacy of pyrethroids, inert dusts, their low-dose combinations and low temperature on *Oryzaephilus surinamensis* and *Sitophilus granarius*. *Journal of Stored Products Research* 91: 101780

Khashaveh A, Ghosta Y, Safaralizadeh MH, 2008. Pathogenicity of three Iranian isolates of the fungus, *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against granary weevil, *Sitophilus granarius* L. (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Biological Science* 8(4) DOI:10.3923/jbs.2008.804.808

Khashaveh A, Ghosta Y, Safaralizadeh MH, Ziaee M, 2011. The use of entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* (Bals.) vuill. in assays with storage grain beetles. *Journal of Agricultural Science & Technology* 13(1): 35–43.

Khashaveh A, Ghosta Y, Safaralizadeh MH, Ziaee M, 2011. The use of entomopathogenic fungus, *beauveria bassiana* (bals.) vuill. in assays with storage grain beetles. *Journal of Agricultural Science and Technology* 13: 35–43.

Kljajic P, G. Andric G, Peric I, 2006. Effects of several contact insecticides on adults of three Sitophilus species. *IX*th *International Conference on Stored Product Protection*, October 15-18, Sao Paulo, Brazil. Pp 338–343.

Levic J, Stankovic S, Boèarov-Stanèic A, 2004. Incidence and control of toxigenic fungi in stored cereals. *Biljni lekar (Plant doctor), Novi Sad, Serbia* 3: 245–254.

Mantzoukas S, Zikou A, Triantafillou V, Lagogiannis I, Eliopoulos PA, 2019. Interactions between *Beauveria bassiana* and *Isaria fumosorosea* and their hosts *Sitophilus granarius* (L.) and *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Insects* 10 (10): 362.

Mora MAE, Castilho AMC, Fraga ME, 2017. Classification and infection mechanism of entomopathogenic fungi. *Arquivos do Instituto Biológico* 84: 1–10

Oreste M, Bubici G, Poliseno M, Triggiani O, Tarasco E, 2012. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin against *Galleria mellonella* L. and *Tenebrio molitor* L. in laboratory assays. *Redia* 95: 43–48.

Paula AR, Carolino AT, Paula CO, Samuels RI, 2011. The combination of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* with the insecticide imidacloprid increases virulence against the dengue vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Parasites and Vectors* 4: 1–8

Rajapakse RHS, 2006. The potential of plants and plant products in stored insect pest management. *Journal of Agricultural Sciences* 2: 11–21.

Ravandian H, Mohammadi Sharif M, Golmohammadi G, Hadizadeh A, 2015. Susceptibility of rice weevil *Sitophilus oryzae* (L.) to abamectin, permethrin, thiamethoxam, chlorpyrifos and malathion. *Applied Research in Plant Protection* 4(1): 113–126.

Rees DP, 1996. Coleoptera. In: Subramanyam, Bh. and Hagstrum, D.W.(Eds.). Integrated Management of Insects in Stored Products. Marcel Dekker, New York-Basel. Hong Kong".

Robertson JL, Russell RM, Preisler HK, Savin NE, 2007. Bioassays with Arthropods. CRC Press. New York. 207 pp.

Rumbos CI, Dutton AC, Tsiropoulos NG, Athanassiou CG, 2018. Persistence and residual toxicity of two pirimiphos-methyl formulations on wheat against three stored-product pests. *Journal of Stored Products Research* 76: 14–21.

Sabbour M, Abd-EL-Aziz S, Sherief M, 2012. Efficacy of three entomopathogenic fungi alone or in combination with diatomaceous earth modifications for the control of three pyralid moths in stored grains. *Journal of Plant Protection Research* 52: 359–363.

Sahayaraj K, Namasivayam SKR, Rathi JM, 2011. Compatibility of entomopathogenic fungi with extracts of plants and commercial botanicals. *African Journal of Biotechnology* 10(6): 933–938.

Sain SK, Monga D, Kumar R, Nagrale DT, Hiremani NS, Kranthi S, 2019, Compatibility of entomopathogenic fungi with insecticides and their efficacy for IPM of *Bemisia tabaci* in cotton. *Journal of Pest Science* 44: 97–105.

SAS Institute, 2018. SAS/STAT user's guide. SAS Institute, Cary. NC

Serebrov VV, Kiselev AA, Glupov VV, 2003. Study of some factors of synergy between entomopathogenic fungi and chemical insecticides, *Mycology & Phytopathology* 37(1): 76–82.

Sewify G. H., El Shabrawy H. A., Eweis M. E., Magda

Naroz H. (2014). Efficacy of Entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* for controlling certain stored product insects egypt. *Journal of Biological Pest Control* 24(1): 191–196.

Sheeba G., Sundaram S., Raja N., Janarthanan S., Ignacimuthu S. (2001). Efficacy of *Beauveria bassiana* for control of the rice weevil *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Applied Entomology Zoology* 36(1):117–120.

Sohrabi, F., Jamali, F. and Michaud, J.P., 2021. Sublethal concentrations of spinosad synergize the pathogenicity of fungi to larvae of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). *European Journal of Entomology* 118: 142–147.

Sohrabi F, Jamali F, Morammazi S, Saber M,Kamita SG, 2019. Evaluation of the compatibility of entomopathogenic fungi and two botanical insecticides tondexir and palizin for controlling *Galleria mellonella* L (Lepidoptera: Pyralidae). *Crop Protection* 117: 20–25.

Talebi-Jahromi K, 2007. Pesticide Toxicology (4th ed.). University of Tehran Publication, Tehran. 507 pp.

Tanda Y, Kaya HK, 1993. Insect Pathology. San Diego, CA, USA Academic Press, 666 pp.

Teshome A, Tefera T, 2009. Susceptibility of *Sitophilus zeamais* (mostch.) (Coleoptera: curculionidae) to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *Ethiopian Journal of Science* 32 (1): 21–28.

Yanar Y, Yanar D, Demir B, Karan YB. 2019. Effects of local entomopathogenic *beauveria bassiana* isolates against *sitophilus granarius* (coleoptera). *Agriculture & Forestry* 65(1): 49–55.

This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons .org/licenses/by-nc/2.0/)