اثر کشندگی قارچهای *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) sorokinin و *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. روی لارو و حشره‌ی کامل سوسک شیره خوار خرما (*Carpophilus hemipterus* (Col.: Nitidulidae))

فاطمه جمالی[۱*]، محمد امین کهن مو[۲] و فریبا سهرابی[۱]

۱- استادیاران، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر.
۲- استادیار، گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه خلیج فارس، بوشهر.
* مسئول مکاتبه: jamali@pgu.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۵/۸/۲۵

چکیده

سوسک شیره خوار خرما، *Carpophilus hemipterus* یکی از آفات پس از برداشت میوه خرما می‌باشد که خسارت زیادی را در شرایط انبار به بار می‌آورد. روش‌های مختلفی برای کنترل آفات پس از برداشت وجود دارد که یکی از مهمترین آنها کاربرد قارچ‌های بیماریزای حشرات به عنوان عوامل کنترل زیستی می‌باشد. در این مطالعه، قارچ‌های Iran 1395C *Beauveria bassiana* و *Metarhizium anisopliae* Iran 1018C برای کنترل لارو سن چهار و حشره‌ی کامل آفت مورد استفاده قرار گرفتند. روش زیست‌سنجی برای لاروها با استفاده از کاغذ صافی سترون آغشته به سوسپانسیون اسپور و برای حشره‌ی کامل، با غوطه‌وری حشرات در سوسپانسیون اسپور بود. سوسپانسیون اسپور با غلظت‌های ۳×۱۰^{۸}، ۳×۱۰^{۷}، ۳×۱۰^{۶} و ۳×۱۰^{۵} کنیدی در میلی‌لیتر در توئین ۰/۰۲ درصد تهیه شد؛ سپس میزان مرگ و میر حشرات کامل پس از ۳، ۷، ۹، ۱۱ و ۱۳ روز و برای لاروها پس از ۳، ۷ و ۹ روز ثبت گردید. آزمایش‌ها در سه تکرار (هر تکرار شامل ۱۰ لارو یا حشره بالغ)، در دمای ۲۵ ^{o}C در تاریکی انجام گرفت. نتایج نشان داد که میزان مرگ و میر با افزایش زمان و غلظت سوسپانسیون اسپور افزایش یافت. میزان مرگ و میر، ناشی از قارچ *B. bassiana* برای غلظتهای فوق‌الذکر، برای حشرات کامل به ترتیب شامل ۲۴/۴، ۱۴/۴، ۱۲/۸ و ۱۰/۵ درصد و برای لاروها شامل ۸۳/۳، ۷۶/۷، ۷۲/۲ و ۷۱/۱ درصد بود. بعلاوه مشخص شد که کاربرد این قارچ در غلظت ۳×۱۰^{۸} کنیدی در میلی‌لیتر پس از ۱۵ روز و در تمامی غلظتها پس از ۹ روز به ترتیب منجر به بیشترین میزان مرگ و میر در حشرات بالغ (۳۰ درصد) و لاروها (۱۰۰ درصد) گردید. در قارچ *M. anisopliae*، میزان مرگ و میر لاروها برای غلظتهای فوق به ترتیب شامل ۷۸/۹، ۷۵/۶، ۷۳/۳ و ۵۴/۴ درصد و برای حشرات کامل ۵۱/۷، ۲۰/۶، ۱۲/۲ و ۱۰ درصد بود. از طرف دیگر، این قارچ در غلظت ۳×۱۰^{۸} اسپور در میلی‌لیتر پس از ۱۵ روز و در غلظت ۳×۱۰^{۵} اسپور در میلی‌لیتر پس از ۷ روز به ترتیب موجب بیشترین میزان مرگ و میر در حشرات بالغ (۶۳/۳ درصد) و لاروها (۹۷ درصد) گردید. نتایج نشان می‌دهد که جدایه‌های قارچی مورد استفاده در این پژوهش دارای توانایی حشره‌کشی بالایی علیه لارو و حشره کامل سوسک شیره‌خوار خرما بوده و می‌توانند برای محافظت از محصول، پس از برداشت مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: بیماریزای حشرات، سوسک شیره خوار، کنترل زیستی

مقدمه

سوسک شیره خوار خرما با نام علمی *Carpophilus hemipterus* (Col.: *Nitidulidae*) آفتی با انتشار جهانی است که روی گیاهان و نیز میوه های پوسیده، خشکبار و غلات در انبار یافت می شود (گرلینگ و بن مردچای ۱۹۸۱). این آفت در انبارهای خرما در استان بوشهر در مرحله‌ی لاروی و حشره‌ی کامل خسارت قابل توجهی را به محصول وارد می سازد. در حال حاضر برای کنترل آلودگی این آفت به عنوان ساده‌ترین و موثرترین روش از سموم شیمیایی نظیر فسفید

هیدروژن یا متیل بروماید استفاده می‌شود (جانسون و همکاران ۲۰۰۰). ولی استفاده از آفت‌کش‌های سنتی موجب حضور باقیمانده‌ی سموم در مواد غذایی مورد مصرف انسان می‌شود. همچنین برخی آفت‌کش‌ها گران-قیمت و کم دوام هستند و در نتیجه کنترل پائینی را اعمال می‌کنند. از طرف دیگر، مقادیر زیاد حشره‌کش‌های با دوام موجب بروز آلودگیهای زیست محیطی و اثرات منفی بر موجودات غیر هدف میشود. علاوه بر این، استفاده مکرر از سموم شیمیایی موجب ایجاد مقاومت در آفات می‌گردد. محدودیت در بکارگیری سموم شیمیایی، افزایش آگاهی عمومی و نگرانی در مورد آلودگیهای زیست محیطی ناشی از سموم، توجهات را بر تحقیق و توسعه عوامل کنترل زیستی بعنوان جایگزین یا به عنوان جزئی از برنامه‌های کنترل تلفیقی آفات متمرکز نموده است.

قارچ‌های بیماریزای حشرات به عنوان عوامل کنترل زیستی به ویژه از دهه ۱۹۷۰ مورد توجه ویژه‌ای قرار گرفته اند. حدود ۷۵۰ گونه قارچ، ۵۶ جنس از بندپایان را آلوده می‌کنند و بر خلاف دیگر عوامل میکروبی، به علت نفوذ مستقیم از طریق کوتیکول میزبان، نیازی به بلعیده شدن توسط حشرات برای ایجاد بیماری در آنها ندارند (رایت و راموس ۲۰۰۲). این مورد مزیت مهمی بشمار می رود چرا که پتانسیل حشره مورد نظر برای عدم مصرف دوز کشنده را محدود می سازد. سرعت از بین بردن حشره توسط قارچ متغیر بوده و درجه تخصص میزبانی بین گونه ها و حتی در میان جدایه‌های یک گونه متفاوت است (پل و همکاران ۲۰۰۱). قارچ‌های بیماریزای حشرات بعنوان عوامل کنترل زیستی (کلارکسون و چارنلی ۱۹۹۶) بویژه برای سخت بالپوشانی که هیچ بیماری ویروسی یا باکتریایی شناخته شده‌ای ندارند، توجهات زیادی را بخود جلب نموده اند (چارنلی ۱۹۹۷). علاوه بر گونه ها و استرین‌های مختلف قارچ‌های بیماریزای حشرات، روش کاربرد و فرمولاسیون‌های مختلف نیز مورد بررسی قرار گرفته است (فاریا و رایت ۲۰۰۷؛ رایت و راموس ۲۰۰۲). این قارچ‌ها احتمالا حشره‌ی میزبان را با مصرف مواد غذایی ذخیره‌ای و با روش گرسنگی فیزیولوژیکی می کشند. از طرف دیگر، این عوامل برای استفاده به عنوان حشره کش‌های زیستی مناسب بنظر می رسند چرا که دارای دامنه‌ی میزبانی نسبتا محدودی بوده و دارای اثر منفی بر تنوع زیستی یا دشمنان طبیعی نمی باشند (بات و همکاران ۲۰۰۱). یکی از مهمترین مزایای استفاده از بیمارگر قارچی نسبت به آفت‌کش‌های شیمیایی، پتانسیل آنها برای تکثیر و افزایش جمعیت پاتوژن است (فوکسا ۱۹۸۷). از جمله مهمترین این قارچ‌ها می‌توان به *Metarhizium anisopliae* و *Beauveria bassiana* اشاره کرد که دارای شدت بیماریزایی بالا، جوانه‌زنی و اسپورزایی سریع بوده و همین ویژگی‌ها این دو قارچ را بعنوان عوامل کنترل زیستی جالب توجه ساخته است (ال دقایری ۲۰۰۸).

قارچ *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Hypocreales: Cordycipitaceae) دارای دامنه‌ی میزبانی گسترده‌ای بوده و قادر به حمله به گروه‌های متنوعی از حشرات است (بات و همکاران ۲۰۰۱). حدود ۷۰۰ گونه از حشرات به عنوان میزبان این قارچ شناخته شده اند (اینگلیس و همکاران ۲۰۰۱). قارچ در محصولات گلخانه ای و مزرعه ای بعنوان ابزاری برای کنترل بسیاری از بندپایان آفت کشاورزی نظیر مگس‌های سفید، شته‌ها، تریپس‌ها، پسیل‌ها، شپشه‌ها و شپشک‌های آرد آلود مورد استفاده قرار گرفته است.

قارچ *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) sorokinin یکی دیگر از قارچ‌های بیماریزای حشرات است که حشره‌ی میزبان را با حمله فیزیکی به بدن آن و مصرف ذخیره‌ی غذایی و نیز تولید توکسین می‌کشد (کنان و همکاران ۲۰۰۸). این قارچ نیز دامنه‌ی وسیعی از گونه های حشرات را آلوده کرده و حداقل یک مرحله از سیکل زندگی خود را در خاک سپری می کند. طی اسپورزایی، پروتئینهای کریستالی موسوم به اندوتوکسین تولید می‌کند که دارای فعالیت حشره‌کشی است (فاریا و رایت ۲۰۰۷، کوکس و همکاران ۲۰۰۴، ۱۲فنگ و همکاران ۲۰۰۴).

محمدبیگی و پورت (۲۰۱۳) پس از مطالعه‌ی تاثیر این دو قارچ علیه ملخ شاخک بلند *Uvarovistia zebra* در شرایط آزمایشگاهی دریافتند که در بالاترین غلظت

قارچ‌های *B. bassiana* و *M. anisopliae* به ترتیب ۱۰۰ و ۵۳ درصد مرگ و میر پوره‌ها مشاهده شد.

راماکریشنان و همکاران (۱۹۹۹)، تاثیر *M. anisopliae* را بر موریانه *Reticulitermes flavipes* (Kollar) مورد مطالعه قرار دادند و دریافتند که در خاک استریل، موریانه‌ها به قارچ حساسیت بیشتری داشتند. میزان مرگ و میر موریانه‌ها پس از ۲۱ روز قرار گرفتن در معرض مداوم کنیدی قارچ به میزان $۱۰^{۴}$ کنیدی در گرم خاک استریل، حدود ۴۱.۶ درصد بود.

در مطالعه‌ی کنترل زیستی *Hyphantria cuanea Druru* با استفاده از غلظت‌های مختلف متاریزیوم علیه سنین لاروی محتلف آفت مشخص گردید که سنین یک و دو لاروی حساس‌تر از سن سوم بودند. در بالاترین غلظت ($۱۰^{۱۰}$ اسپور در میلی لیتر) مرگ و میر سن اول لاروی پس از ۲۰ روز صد درصد گزارش گردید (تسرودز و مسکی ۲۰۱۲).

در تحقیقات جاسیم و همکاران۱۷ (۱۹۸۹) قارچ *B. bassiana* به نسبت ۳×۱۰^{۵} اسپور در متر مکعب در شرایط انبار داری خرما بکار برده شد و تا ۹۶ درصد جمعیت *Carda cautella* Walk (Lep: Pyralidae) کاهش پیدا کرد. لطیفیان و همکاران (۱۳۸۹) توانایی *B. bassiana* را علیه لارو و حشره‌ی کامل شپشه‌ی دندانه دار خرما روی ارقام مختلف مورد بررسی قرار دادند و در توصیه‌ی غلظت مناسب برای کاربرد در برنامه‌ی کنترل میکروبی، مرحله رشدی آفت و رقم خرما را حائز اهمیت دانستند.

هیدالگو و همکاران (۱۹۹۸) کنیدی‌های قارچ *B. bassiana* را در دو فرمولاسیون مورد استفاده قرار دادند و نتیجه گرفتند که سوسپانسیون روغنی قارچ در روغن کلزا موجب ۸۴٪ مرگ و میر آفت پس از ۴۵ روز شد. سوسپانسیون با غلظت $۱۰^{۱۰}$ اسپور در گرم موجب مرگ و میر ۱۰۰ درصد شپشه‌ی ذرت پس از یک هفته گردید.

در تحقیقی دیگر زیست‌سنجی آزمایشگاهی برای ارزیابی استفاده از *M. anisopliae* علیه حشره‌ی کامل سه سوسک آفت انباری شامل *Rhyzopertha domonica*، *Sitophilus oryzae* و *Tribolium confusum* با استفاده از سوسپانسیون و پودر کنیدی انجام گرفت. در زمان‌های مختلف حشره در معرض گندم تیمار شده با غلظت‌های مختلف قارچ قرار داده شد و مشخص گردید که مرگ و میر پس از گذشت دو هفته برای *R. domonica* به ترتیب برای سوسپانسیون و پودر، ۱۰۰ و ۹۶ درصد بود (کاوالی راتوس و همکاران ۲۰۰۶).

باتا (۲۰۰۴) فرمولاسیون متاریزیوم را با خاکستر آون، پودر گچ، ذغال و آرد گندم به نسبت ۴:۱ وزنی تهیه کرد و طی تحقیقی نشان داد تیمارهای همراه با ذغال و خاکستر موجب ۸۶-۷۳ درصد مرگ و میر در افراد بالغ *S. oryzae* پس از یک هفته شدند .

چری و همکاران (۲۰۰۵) هشت جدایه بومی و خارجی از دو قارچ مذکور را برای ارزیابی بیماریزایی و قابلیت کنترل جمعیت‌های *Callosobruchus maculates* در لوبیا چشم بلبلی انبار شده را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج این تحقیق نشان داد جدایه‌های بومی جمع‌آوری شده نسبت به جدایه‌های خارجی جدا شده از سایر حشرات از بیماریزایی بیشتری در زیست-سنجی آزمایشگاهی برخوردار بودند. در بسته‌های یک کیلو گرمی لوبیا حاوی ۵۰ عدد حشره‌ی بالغ، قارچ *B. bassiana* در غلظت ۱×۱۰^{۸} کنیدی در گرم منجر به مرگ و میر معنی‌دار حشرات بالغ شد و ظهور حشرات نسل اول را نسبت به جمعیت‌های تیمار نشده کاهش داد.

با توجه به اهمیت سوسک شیره خوار خرما در خرمای انبار شده و اهمیت استفاده از روش‌های سازگار با محیط زیست و با خطرات کم برای سلامت انسان و محیط زیست، این مطالعه با هدف ارزیابی تاثیر جدایه‌ای از *B. bassiana* در کنترل مراحل لاروی و حشره‌ی کامل *C. hemipterus* و افزایش دانش و ترغیب به مطالعات بعدی بر استفاده از جدایه‌های قارچی برای مدیریت آفات خرما انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه و کشت قارچ بیمارگر و آفت

مراحل مختلف رشدی *Carpophilus hemipterus* از خرمای آلوده از انبارهای خرمای استان بوشهر جمع آوری و به آزمایشگاه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه خلیج فارس بوشهر انتقال داده شدند و روی خرما درون ظروف پلاستیکی درب دار در دمای ۱±۲۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد در شرایط تاریکی در دستگاه اتاقک رشد پرورش داده شدند.

جدایه‌های IRAN 1395C قارچ *Beauveria bassiana* و IRAN *Metarhizium anisopliae* 1018C از مرکز تحقیقات گیاهپزشکی کشور دریافت گردیدند. قارچ در محیط کشت جامد سیب زمینی- دکستروز- آگار (PDA) به مدت ۱۶-۱۴ روز در دمای ۲۶ درجه‌ی سانتی‌گراد در انکوباتور رشد داده شد. کنیدی‌های تولید شده در محیط پس از افزودن ۱۵ میلی لیتر توئین ۸۰، ۰/۰۲ درصد با استفاده از اسکالپل استریل از روی محیط خراش داده شدند و برای حذف میسلیوم‌های قارچ، سوسپانسیون اسپور از پارچه ململ عبور داده شد. پس از شمارش اسپورها با استفاده از لام گلبول شمار در سوسپانسیون پایه، سوسپانسیون اسپور با غلظت‌های 5×10^{8} (غلظت اول)، 5×10^{7} (غلظت دوم)، 5×10^{6} (غلظت سوم) و 5×10^{5} (غلظت چهارم) تهیه شد.

زیست سنجی

زیست‌سنجی با حشرات کامل و لارو سن چهار آفت در شرایط آزمایشگاهی صورت گرفت. برای هر تکرار تعداد ۱۰ عدد از هر مرحله‌ی رشدی استفاده شد و ازمایش‌ها در چهار تیمار شامل غلظت‌های مختلف سوسپانسیون اسپور و در سه تکرار به همراه تکرار شاهد انجام شد. لاروها روی کاغذ صافی استریل در کف پلیت‌های استریل با قطر ۹ سانتی‌متر قرار داده شد و سپس دو میلی لیتر سوسپانسیون اسپور با غلظت‌های مختلف با استفاده از سمپلر به کاغذ صافی افزوده شد. حشرات کامل به طور همزمان به کمک صافی درون سوسپانسیون اسپور غوطه ور شده و پس از ۱۰ ثانیه خارج شدند و درون پتری دیش قرار گرفتند. در نهایت مقداری خرما به وزن پنج گرم به عنوان غذا در تمامی پتری‌ها قرار گرفت. برای شاهد از توئین ۸۰، ۰/۰۲ درصد استفاده گردید. پتری ها در اتاقک رشد با دمای ۲۶ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شدند. در بازدید روزانه مراحل رشدی تلف شده جمع آوری و پس از ضد عفونی سطحی بدن آنها با محلول هیپوکلریت سدیم دو درصد، درون اتاقک مرطوب قرار داده شدند تا بار قارچ در سطح بدن حشرات تشکیل شود. میزان مرگ و میر تجمعی لارو پس از ۳، ۷ و ۹ روز و حشره کامل پس از ۳ ، ۷ ، ۹ ، ۱۱ ، ۱۳ و ۱۵ روز ثبت گردید.

تجزیه و تحلیل آماری داده ها

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو عامل زمان بررسی مرگ و میر (سه و شش سطح به ترتیب برای لارو و حشره کامل) و غلظت سوسپانسون اسپور قارچ (چهار سطح) در سه تکرار (هر تکرار شامل ۱۰ عدد لارو یا حشره کامل) انجام شد. داده ها با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند و میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه و گروه بندی شدند.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثر مستقل زمان تأثیر قارچ *B. bassiana* بر مرگ ومیر لارو معنی‌دار است ($p\leq0.05$) به نحوی که با افزایش زمان میزان مرگ و میر لاروها افزایش یافت و از ۴۳٪ در روز سوم به ۹۰٪ و ۱۰۰٪ به ترتیب در روزهای هفتم و نهم افزایش یافت (جدول ۱). اثر مستقل غلظت و اثر متقابل غلظت و زمان بر مرگ و میر لاروها معنی دار نبود که می تواند ناشی از عدم تفاوت واقعی بین تیمارها بوده باشد.

جدول ۱- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) مرگ و میر لارو سوسک شیره‌خوار خرما توسط قارچ‌های انگل ***B. bassiana*** و ***M. anisopliae***

منابع تغییرات	درجه آزادی	مرگ و میر توسط *B. bassiana*	مرگ و میر توسط *M. anisopliae*
زمان مرگ و میر لارو	۲	۱۱۱/۰۲۷ **	۱۰۳/۳۶۱ **
غلظت سوسپانسیون قارچ	۳	۲/۳۹۸ ns	۰/۹۶۲ ns
زمان × غلظت	۶	۱/۸۴۲ ns	۱/۹۹۰ ns
خطای آزمایش	۲۴	۱/۳۸۸	۱/۰۲۷
ضریب تغییرات (٪)		۱۵/۰۹	۱۳/۰۳

ns، * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد در روش آزمون دانکن.

مقایسه میانگین تاثیر زمان بر مرگ و میر لاروها توسط *B. bassiana* نشان داد که با افزایش زمان تاثیر قارچ بر مرگ و میر لاروها افزایش می یابد به گونه‌ای که درصد مرگ و میر از ۴۳ در روز سوم به صد درصد در روز نهم رسید (جدول ۲).

جدول۲-مقایسه میانگین اثر مستقل تاثیر زمان بر میزان مرگ و میر لاروهای سوسک شیره‌خوار خرما توسط قارچهای ***B. bassiana*** و ***M. anisopliae***

زمان مرگ و میر	*B. bassiana*	*M. anisopliae*
روز سوم	۴.۳b	۴.۴b
روز هفتم	۹.۱a	۹.۱a
روز نهم	۱۰a	۹.۸a

*میانگین‌های هر ستون که با حروف مشترک نشان داده شده اند در سطح ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت سوسپانسیون اسپور قارچ *B. bassiana* و زمان بر مرگ میر لاروها نشان داد که تمامی غلظت‌ها در روز نهم و غلظت دوم و چهارم پس از ۷ و ۹ روز موجب مرگ و میر ۱۰۰ درصدی لاروها شدند. از طرف دیگر تمامی غلظت‌ها در روز سوم کمترین تاثیر را بر مرگ و میر لارو داشتند (۳۰-۶۰ درصد) (جدول ۳).

جدول۳- مقایسه میانگین اثر متقابل زمان بررسی نمونه ها و غلظت های مختلف سوسپانسیون قارچ ***B. bassiana*** بر مرگ و میر لاروهای سوسک شیره-خوار خرما

میانگین مرگ و میر	اثر متقابل غلظت × زمان	میانگین مرگ و میر	اثر متقابل غلظت × زمان
۱۰a	روز نهم×غلظت دوم	۹b	روز هفتم×غلظت چهارم
۱۰a	روز نهم×غلظت سوم	۸.۳۳bc	روز هفتم×غلظت اول
۱۰a	روز نهم×غلظت اول	۶c	روز سوم×غلظت سوم
۱۰a	روز هفتم×غلظت دوم	۴.۳۳bc	روز سوم×غلظت چهارم
۱۰a	روز نهم×غلظت چهارم	۴bc	روز سوم×غلظت دوم
۹b	روز هفتم×غلظت سوم	۳c	روز سوم×غلظت اول

*میانگین‌هایی که با حروف مشترک نشان داده شده اند در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

در مورد قارچ *M. anisopliae* نیز نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اثر مستقل زمان تأثیر قارچ بر مرگ ومیر لارو معنی‌دار گردید ($p\leq0.05$) به نحوی که با افزایش زمان میزان مرگ و میر لاروها افزایش یافت و از ۴۶٪ در روز سوم به ۹۰٪ و ۹۸٪ به ترتیب در روزهای هفتم و نهم افزایش یافت (جدول ۲). اثر مستقل غلظت و اثر متقابل غلظت و زمان بر مرگ و میر لاروها معنی‌دار نبود که می‌تواند ناشی از عدم تفاوت واقعی بین تیمارها بوده باشد. نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت سوسپانسیون اسپور قارچ و زمان بر مرگ میر لاروها نشان داد که غلظت-های اول و دوم در روز نهم موجب مرگ و میر ۱۰۰ درصدی لاروها شدند. از طرف دیگر تمامی غلظتها در روز سوم کمترین تاثیر را بر مرگ و میر لارو داشتند (۳۷-۶۰ درصد) (جدول ۴).

جدول۴- مقایسه میانگین اثر متقابل زمان بررسی نمونه ها و غلظت‌های مختلف سوسپانسیون قارچ ***M. anisopliae*** بر مرگ و میر لاروهای سوسک شیره‌خوار خرما

میانگین مرگ و میر	اثر متقابل غلظت × زمان	میانگین مرگ و میر	اثر متقابل غلظت × زمان
۱۰a	روز نهم×غلظت دوم	۸.۶۷a	روز هفتم×غلظت دوم
۱۰a	روز نهم×غلظت اول	۸.۳۳a	روز هفتم×غلظت اول
۹.۶۷a	روز هفتم×غلظت چهارم	۶b	روز سوم×غلظت دوم
۹.۶۷a	روز هفتم×غلظت سوم	۴c	روز سوم×غلظت اول
۹.۶۷a	روز نهم×غلظت سوم	۴c	روز سوم×غلظت چهارم
۹.۶۷a	روز نهم×غلظت چهارم	۳.۶۷c	روز سوم×غلظت سوم

*میانگین‌هایی که با حروف مشترک نشان داده شده اند در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

در مورد تاثیر قارچ *B. bassiana* بر سوسک شیره خوار خرما، نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده ها نشان داد که اثر مستقل زمان، غلظت و اثر متقابل غلظت و زمان بر میزان مرگ و میر حشرات کامل معنی دار گردید ($p\leq0.01$) (جدول ۵). با افزایش زمان بررسی، میزان مرگ و میر حشرات کامل افزایش یافت و از ۱۰ درصد در روز سوم به ۲۱.۷ درصد در روز پانزدهم افزایش یافت (جدول ۶). از طرف دیگر قارچ در غلظت ۵×۱۰^{۸} (غلظت اول) بیشترین تاثیر را در پی داشت و موجب ۲۴ درصد مرگ و میر حشرات کامل گردید (جدول ۷).

جدول ۵- تجزیه واریانس (میانگین مربعات) مرگ و میر حشره کامل سوسک شیره‌خوار خرما توسط قارچ‌های ***B. bassiana*** و ***M. anisopliae***

منابع تغییرات	درجه آزادی	مرگ و میر توسط *B. bassiana*	مرگ و میر توسط *M. anisopliae*
زمان مرگ و میر حشره کامل	۵	۲/۱۴۷ **	۹/۹۵۵ **
غلظت سوسپانسیون قارچ انگل	۳	۶/۳۴۷ **	۵۷/۳۵۱ **
زمان × غلظت	۱۵	۰/۹۰۲ **	۲/۷۶۲ **
خطای آزمایش	۴۸	۰/۲۹۱	۰/۲۲۲
ضریب تغییرات (٪)		۲۹/۸۱	۱۸/۶۴

*و**: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد در روش آزمون دانکن.

جدول ۶-اثر مستقل زمان بر میزان مرگ و میر حشرات کامل سوسک شیره خوار خرما توسط قارچ‌های ***M. anisopliae*** و ***B. bassiana***

زمان مرگ و میر	***B. bassiana***	***M. anisopliae***
روز سوم	۱ c	۱c
روز هفتم	۱.۴۲ bc	۲.۱۷b
روز نهم	۱.۵ b	۲.۲۵b
یازدهم	۱.۵ b	۳.۱۷a
سیزدهم	۲ a	۳.۱۷a
پانزدهم	۲.۱۷ a	۳.۴۲a

*میانگین‌های هر ستون که با حروف یکسان نشان داده شده‌اند در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

جدول ۷-اثر مستقل غلظت های سوسپانسیون قارچ‌های ***M. anisopliae*** و ***B. bassiana*** بر میزان مرگ و میر حشرات کامل سوسک شیره-خوار خرما

غلظت سوسپانسیون اسپور قارچ (اسپور در میلی لیتر)	***B. bassiana***	***M. anisopliae***
۵×۱۰^{۸} (غلظت اول)	۲.۴a	۵.۲a
۵×۱۰^{۷} (غلظت دوم)	۱.۳bc	۲.۱b
۵×۱۰^{۶} (غلظت سوم)	۱c	۱.۶c
۵×۱۰^{۵} (غلظت چهارم)	۱.۷b	۱.۳۳c

*میانگین‌های هر ستون که با حروف یکسان نشان داده شده اند در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی دار ندارند.

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت سوسپانسیون اسپور قارچ *B. bassiana* و زمان بر مرگ و میر حشرات کامل (جدول ۸) نشان داد که غلظت اول و چهارم در روز پانزدهم بیشترین تاثیر را بر مرگ و میر حشرات کامل داشت (۳۰ درصد) و کمترین میزان مرگ و میر (۱۰ درصد) در روز سوم بررسی برای تمامی غلظتها ثبت گردید. براساس این نتایج به نظر می رسد غلظت ۵×۱۰^{۸} بیشترین تاثیر را بر مرگ و میر حشره کامل داشته و بهتر است در آزمایشات تکمیلی غلظتهای بالاتر با قارچ با شدت بیماریزایی بیشتر مورد بررسی قرار گیرند. همچنین نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها در مورد تاثیر قارچ *M. anisopliae* بر حشرات کامل نشان داد که اثر مستقل زمان یا غلظت و اثر متقابل غلظت و زمان بر میزان مرگ و میر معنی دار گردید ($p\leq0.01$) (جدول ۵).

نتایج حاکی از این بود که با افزایش زمان بررسی، میزان مرگ و میر حشرات کامل افزایش یافت و از ۱۰ درصد در روز سوم به ۳۴.۲ درصد در روز پانزدهم رسید (جدول ۶). همچنین با افزایش غلظت سوسپانسیون قارچ، میزان مرگ و میر نیز افزایش یافت و بیشترین میزان مرگ و میر حشره کامل برای غلظت ۵×۱۰^{۸} اسپور در میلی لیتر (غلظت اول)، به میزان ۵۲ درصد رسید (جدول ۷).

جدول۸- میانگین اثر متقابل زمان بررسی‌ها و غلظت‌های سوسپانسیون قارچ ***B. bassiana*** بر مرگ و میر حشرات کامل سوسک شیره‌خوار خرما.

میانگین مرگ و میر	اثر متقابل غلظت × زمان	میانگین مرگ و میر	اثر متقابل غلظت × زمان
۳a	روز پانزدهم×غلظت اول	۱c	روز هفتم×غلظت سوم
۳a	روز سیزدهم×غلظت چهارم	۱c	روز سوم×غلظت اول
۳a	روز پانزدهم×غلظت چهارم	۱c	روز سوم×غلظت دوم
۲.۶۶a	روز یازدهم×غلظت اول	۱c	روز سوم×غلظت چهارم
۲.۶۶a	روز سیزدهم×غلظت اول	۱c	روز نهم×غلظت سوم
۲.۶۶a	روز نهم×غلظت اول	۱c	روز سوم×غلظت سوم
۲.۳۳ab	روز هفتم×غلظت اول	۱c	روز سیزدهم×غلظت سوم
۱.۶۷abc	روز پانزدهم×غلظت دوم	۱c	روز هفتم×غلظت چهارم
۱.۳۳bc	روز نهم×غلظت دوم	۱c	روز یازدهم×غلظت سوم
۱.۳۳bc	روز پانزدهم×غلظت دوم	۱c	روز یازدهم×غلظت چهارم
۱.۳۳bc	روز نهم×غلظت دوم	۱c	روز پانزدهم×غلظت سوم
۱.۳۳bc	روز یازدهم×غلظت دوم	۱c	روز نهم×غلظت چهارم

*میانگین‌هایی که با حروف مشترک نشان داده شده اند در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت سوسپانسیون اسپور قارچ و زمان بر مرگ میر حشرات کامل نشان داد که غلظت اول از روز هفتم تا پانزدهم بیشترین تاثیر (۵۶-۶۳ درصد) را بر مرگ و میر حشرات کامل داشت. براساس این نتایج به نظر می رسد غلظت ۵×۱۰^{۸} بیشترین تاثیر را بر مرگ و میر حشره کامل داشته و بهتر است در آزمایشات تکمیلی غلظت‌های بالاتر با قارچ با شدت بیماریزایی بیشتر مورد بررسی قرار گیرند. از طرف دیگر با افزایش زمان بررسی، میزان مرگ و میر افزایش می یابد که نشان از اهمیت زمان در عملکرد آفت‌کشی قارچ علیه آفت دارد (جدول ۹).

جدول۹- مقایسه میانگین اثر متقابل زمان بررسی و غلظت‌های سوسپانسیون قارچ ***M. anisopliae*** بر مرگ و میر حشرات کامل سوسک شیره-خوار خرما

میانگین مرگ و میر	اثر متقابل غلظت × زمان	میانگین مرگ و میر	اثر متقابل غلظت × زمان
۶.۳۳a	روز پانزدهم×غلظت اول	۱.۶۶de	روز پانزدهم×غلظت سوم
۶a	روز یازدهم×غلظت اول	۱.۶۶de	روز یازدهم×غلظت سوم
۶a	روز سبزدهم×غلظت اول	۱e	روز سوم×غلظت اول
۶a	روز نهم×غلظت اول	۱e	روز سوم×غلظت چهارم
۵.۶۷a	روز هفتم×غلظت اول	۱e	روز سوم×غلظت دوم
۳.۳۳b	روز پانزدهم×غلظت دوم	۱e	روز هفتم×غلظت دوم
۳bc	روز یازدهم×غلظت دوم	۱e	روز هفتم×غلظت سوم
۳bc	روز سیزدهم×غلظت دوم	۱e	روز هفتم×غلظت چهارم
۲.۳۳bcd	روز پانزدهم×غلظت چهارم	۱e	روز سوم×غلظت سوم
۲cde	روز یازدهم×غلظت چهارم	۱e	روز نهم×غلظت دوم
۲cde	روز سیزدهم×غلظت چهارم	۱e	روز نهم×غلظت سوم
۱.۶۶de	روز سیزدهم×غلظت سوم	۱e	روز نهم×غلظت چهارم

*میانگین‌هایی که با حروف مشترک نشان داده شده‌اند در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

وقتی اسپورهای قارچ *B. bassiana* یا *M. anispliae* با کوتیکول حشره تماس برقرار می کنند قارچ از این طریق به کوتیکول نفوذ کرده و درون بدن حشره رشد می کند در حالیکه بیمارگرهای باکتریایی و ویروسی باید توسط حشره میزبان مصرف شوند. قارچ *B. bassiana* درون بدن حشره تولید ترکیبات سمی نظیر ااسپورین، بوواریسین و باسینولید می کند. این ترکیبات سمی عملکردهای مختلفی داشته و دارای اثرات مختلفی نظیر اثرات آنتی‌بیوتیکی علیه سایر میکروارگانیسم‌ها، آسیب به غشاء و اثرات منفی بر عملکرد آنزیمی است(بات و همکاران ۲۰۰۱). آلودگی قارچی بندرت سریع اتفاق می افتد که می تواند یکی از ضعف‌های یک عامل کنترل زیستی باشد. اگر این مساله مورد قبول واقع شود که این روش اندکی بیش از حشره کشهای شیمیایی زمان می برد، این روش یک جایگزین کاملا ایمن برای محیط زیست محسوب می شود (بات و همکاران ۲۰۰۱). سیرل و دوبرسکی (۱۹۸۴) نیز گزارش کردند که آلودگی به قارچ *B. bassiana* در *O. surinamensis* به آسانی در $۱۰^{۴}$ اسپور در میلی لیتر رخ می‌دهد، برخلاف این واقعیت که در این غلظت سوسک‌ها احتمالا در معرض اسپورهای نسبتا اندکی قرار می گیرند.

در پژوهش حاضر، کارایی دو جدایه قارچی علیه لارو و حشره‌ی کامل سوسک شیره خوار خرما مورد بررسی قرار گرفت و مشاهده گردید که این قارچها در هر دو مرحله موجب مرگ و میر افت شدند. قارچ *Beauveria* و سایر گونه‌های قارچ‌های بیماریزای حشرات به طور جدی به عنوان عوامل کنترل زیستی برای افات حشره ای مورد بررسی قرار گرفته اند ولی تحقیقات اندکی در مورد آفات انباری صورت گرفته است. یک دلیل برای عدم علاقه به استفاده از این قارچها علیه آفات انباری ممکن است مربوط به نیاز این قارچهای بیماریزا به درصد رطوبت بالا برای موثر بودن باشد؛ ولی این چنین نبوده و این قارچ برخی از حشرات را در شرایط رطوبتی مختلف آلوده می‌کند. بیماریزایی قارچ عمدتا با ترشح آنزیم‌های تجزیه کننده کوتیکول آغاز می شود. برخی از آنزیم‌های تجزیه کننده و شناخته شده کوتیکول شامل کیتیناز، پروتئاز، و لیپاز است که می توانند کیتین، پروتئین و لیپید کوتیکول را بترتیب تجزیه کنند. (خان و همکاران ۲۰۱۲)

در تحقیق حاضر مشخص شد که قارچ *M. anisopliae* علیه حشرات کامل موفق‌تر از قارچ *B. bassiana* عمل کرد که این نشان از حساسیت بیشتر آفت نسبت به این قارچ دارد. طی تحقیقی، کوکس و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که گونه های مختلف سخت بالپوشان دارای حساسیت های متفاوت به قارچ *B. bassiana* هستند و تاثیر مشاهده شده بدلیل تفاوت-های ذاتی در حساسیت بین گونه‌ای یا اثر غلظت‌های مورد استفاده است. همچنین در مطالعات آزمابشگاهی مشاهده شد که این قارچ تحت شرایط ویژه، یک بیمارگر موثر علیه افراد بالغ *O. surinamensis* (L.) می‌باشد. زمانی که سوسک‌ها در معرض گندم تیمار شده با غلظت‌های مختلف کنیدیوسپورهای قارچ ($۱۰^{۶}$-$۱۰^{۴}$ اسپور در میلی‌لیتر) قرار گرفتند مرگ و میر سوسک‌ها به درجات مختلف مشاهده شد ولی میزان مرگ و میر در غلظت $۱۰^{۳}$ اسپور در میلی لیتر پائین‌تر بود (سیرل و دوبرسکی ۱۹۸۴).

سوسک‌های انباری دارای حساسیت‌های مختلفی به *B. bassiana* هستند. مثلا سوسک غلات *O. surinamensis* حساستر از سوسک آرد *Tribolium confusum* به این قارچ تحت غلظت کنیدی یکسان است. در تحقیقی دو حشره *O. surinamensis* و *T. confusum* به عنوان دو گونه نمونه مورد استفاده قرار داده شدند تا اتصال و جوانه زنی کنیدی‌های قارچ با روش اسکنینگ الکترون میکروسکپی (SEM) مورد مطالعه قرار گیرد. نتایج نشان داد که بین دو گونه از نظر مقدار کنیدیهای یافت شده روی بدن حشره و جوانه زنی کنیدی‌ها اختلاف وجود دارد؛ روی سوسک آرد نسبت به سوسک غلات کنیدی‌های کمتری یافت شد (ویکفیلد، ۲۰۱۴).

از طرف دیگر پتانسیل قارچ *B. bassiana* برای تاثیر علیه آفت نباید نادیده گرفته شود، ممکن است که شرایط

محیطی نظیر رطوبت کاملا برای ایجاد آلودگی قارچ روی حشره مناسب نبوده باشد. اگر چه اهمیت رطوبت در ایجاد آلودگی در لاروها توسط عوامل قارچی بطور قطع مشخص نیست ولی اهمیت آن احتمالا کمتر از ایجاد آلودگی در افراد بالغ است (سیرل و دوبرسکی ۱۹۸۴). همچنین احتمال دارد کوتیکول حشرات کامل حاوی موادی باشد که از جوانه زنی اسپورها ممانعت نماید. به طور مثال مشخص شده است که هیدروکربن‌های کوتیکولی ممکن است موجب افزایش یا کاهش جوانه زنی اسپورهای قارچ شوند (سنت لگر ۱۹۹۳). در این بررسی همچنین مشخص شد که در غلظتهای بالاتر میزان مرگ و میر لارو و حشره کامل بیشتر بود.

فاگید و همکاران (۲۰۰۵) به منظور کنترل میکروبی *Zonocerous variegates* (Orthoptera) از جمعیت-های بومی *B. bassiana* و *Metarhizium* sp. استفاده کردند. پاسخهای زیست سنجی آن‌ها نشان دادند که مرگ و میر آفت وابسته به دوز کاربرد قارچ داشته و میزان مصرف غذا در میان ملخهای آلوده به اسپور قارچ کاهش چشمگیری داشت. اکمل و همکاران (۲۰۱۳) اثر قارچ بووریا را بر افراد بالغ گونه های مختلف شته مورد بررسی قرار دادند و دریافتند که بیشترین غلظت اسپور یعنی $۱۰^{۸}$ اسپور در میلی لیتر دارای حداکثر قدرت کنترل در کمترین زمان بود. منیون و همکاران (۲۰۱۲) با بررسی تاثیر ایندو قارچ بر بقای لارو *Xenopsylla brasiliensis* دریافتند که در معرض قرار دادن لاروها به مدت سه ساعت بر روی کاغذ آغشته به قارچ با غلظت $۲×۱۰^{۸}$ کنیدی در متر مربع بیش از ۹۰ درصد لاروها را آلوده کرد و منجر به کاهش زنده‌مانی لاروها نسبت به شاهد گردید. ریسک روزانه مرگ در لاروهایی که بترتیب در معرض *B. bassiana* و *M. anisopliae* قرار گرفتند سه و چهار برابر بیشتر بود. هر دو قارچ بطور موفقی موجب آلودگی و مرگ لاروهای این افت شدند (منیون و همکاران ۲۰۱۲).

بسیاری از آزمایشاتی که روی قارچها بعنوان عامل کنترل زیستی حشرات صورت گرفته نشان می‌دهند که وقتی آفت با قارچها آلوده می شود فعالیت تغذیه ای آن قبل از مرگ کاهش می یابد. این اثرات رفتاری منجر به کاهش صدمه آفت به محصول می گردد (ماکاکا ۲۰۰۸). از طرف دیگر، افزایش غلظت اسپور منجر به افزایش مرگ و میر می شود. همچنین، جدایه قارچی نیز بر نتایج تاثیر می گذارد. در واقع، حتی یک جدایه از منابع مختلف می‌تواند در تولید توکسین و شدت بیماریزایی متفاوت بوده و بنابراین نتایج مختلفی بدست آید (کنان و همکاران ۲۰۰۸، ماکاکا ۲۰۰۸، تای لاک و همکاران، ۲۰۰۴).

قارچ‌های بیماریزای حشرات برای برنامه‌های کنترل تلفیقی آفات (IPM) ایده آل هستند، زیرا استفاده از آنها نسبتا ایمن بوده و دارای طیف فعالیت محدودتری نسبت به حشره‌کش های شیمیایی هستند. موجودات زنده میکروسکپی مانند قارچ *B. bassiana* از طریق رابطه پویای خود با حشرات، در برنامه های IPM پایدار می باشند. این امر موجب افزایش کارایی کنترل، کاهش مقدار حشره کش مورد نیاز و به حداقل رساندن خطرات ناشی از آلودگی های زیست محیطی و ایجاد مقاومت به آفات می گردد. در نهایت پیشنهاد می گردد با توجه به تاثیر مثبت قارچ *M. anisopliae* علیه *C. hemipterus* در شرایط آزمابشگاهی، تاثیر این قارچ علیه افت در شرایط انباری نیز موردآزمایش قرار گیرد تا بتوان از آن به عنوان یک عامل بالقوه برای کنترل زیستی و مدیریت سوسک شیره خوارخرما استفاده نمود.

منابع

لطیفیان م، سلیمان نژادیان ا، غزوی م، مصدق م س و حیاتی ج، ۱۳۸۹. توانایی بیماریزایی *Beauveria bassiana* در جمعیت لارو و حشره کامل شپشه دندانه دار *Oryzaephilus surinamensis* روی ارقام مختلف خرما. گیاه پزشکی: شماره ۱، صفحات ۳۰-۲۱.

Akmal M, Freed S, Naeem Malik, M, Tahira Gul H, 2013. Efficacy of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hypomycetes) Against Different Aphid Species under Laboratory Conditions. Pakistan Journal of Zoology 45(1):71-78.

Al-Deghairi M A, 2008. Bioassay Evaluation of the Entomophatogenic Fungi *Beauveria bassiana Vuellemin* Against Eggs and Nymphs of *Bemisia tabaci Gennadius (homoptera:Aleyrodidae).* Pakistan Journal of Biological Sciences 11 (12).

Butt TM, Jackson CW, Magan N, 2001. Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential. Wallingford, Oxon, CAB International.

Batta YA, 2004. Control of rice weevil (*Sitophilus orysae* L., Coleoptera: *Curculionidae*) with various formulations of *metarhizium anisopliae*. Crop Protection 23: 103-108.

Charnely AK, 1997. Entomopathogenic fungi and their role in pest control. Pp.185-201 In: Wicklow DT and Soderstorm BE (eds.) The Mycota IV Environmental and Microbial Relationships, Springer, Heildelberg.

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 maculates* (F.) (Coleoptera:Bruchidae) in stored cowpea. Journal of Stored Products Research 41:295-309.

Clarkson JM, Charnley AK, 1996. New insights into the mechanisms of fungal pathogenesis in insects. Trends in Microbiology 4: 197-203.

Cox PD, Wakefield ME, Price N, Wildey KB, Chambers J, Moore D, Aquino de Muro M, Bell BA, 2004. The potential use of insect-specific fungi to control grain storage pests in empty grain stores. HGCA Project Report No. 341, 50 pp.

Fagade OE, Balogun SA, Lomer CJ, 2005. Microbial control of caged population of *Zonocerus variegates* using *Beauveria basiana* and *Metarhizium* sp. African Journal of Biotechnology 4(1):113-116.

Faria M, Wraight S, 2007. Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. Biological Control 43: 237-256.

Feng MG, Chen B, Ying SH, 2004. Trials of *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus* and imidacloprid for management of *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: *Aleyrodidae*) on greenhouse grown lettuce. Journal of Biocontrol Science Technology 14: 531–544.

Fuxa JR, 1987. Ecological considerations for the use of entomopathogens in IPM. Annual Review of Entomology 32: 225-251.

Gerling D, Ben-Mordechai Y, 1981. Biological observations with *Zeteticontus* sp. (Hymenoptera: Encyrtidae) a parasite of *Carpophilus hemipterus* (L.) (Coleoptera: Nitidulidae). Proceeding of the Hawaiian Entomological Socieyt 23: 351-354.

Hidalgo E, Moore D, Le Patourel G, 1998. The effect of different formulations of *Beauveria bassiana* on *Sitophilus zeamais* in stored maize. Journal of Stored Products Research 34(2/3):171-179.

Inglis GD, Goettel MS, Butt TM, Strasser H, 2001. Use of hyphomycetous fungi for managing insect pests. Pp. 23–69 In: Butt T. M., Jackson, C. W, and Magan, N. (Eds) Fungi as Biocontrol Agents, progress, problems and potential, CAB International, Wallingford, UK.

Jasim H, Abd Al-Ahad I, Abdullah AS, 1989. The control of the date-palm stem borer, *Pseridophilus testaceus* (Coleoptera: *Cerambycidae*) by the fungus *Beauveria bassiana*. Arab Journal of Plant Protection 7(1):37-42.

Johnson JA, Valero K A, Hannel MM, Gill RF, 2000. Seasonal occurrence of postharvest dried fruit insects and their parasitoids in a gulled fig warehouse. Journal of Economic Entomology 93(9): 1380-1390.

Kannan SK, Murugan K, Naresh Kumar A, Ramasubramanian N, Mathiazhagan P, 2008. Adulticidal effect of fungal pathogen, *Metarhizium anisopliae* on malarial vector *Anopheles stephensi* (Diptera: *Culicidae*). African Journal of Biotechnology 7(6): 838-841.

Kavallieratos NG, Athanassiou CG, Michalaki MP, Batta YA, Rigatos HA, Pashalidou FG, Balotis GN, Tomanovic Z, Yayias BJ, 2006. Effect of the combined use of *Metarhizium anisopliae* (Metschinkoff) Sorokin and diatomaceous earth for the control of three stored-product beetle species. Crop Protection 25: 1087-1094.

Khan S, Guo L, Maimaiti Y, Mijit M, Qiu D, 2012. Entomopathogenic fungi as microbial agent. Molecular Plant Breeding 3(7): 63-79.

Makaka C, 2008. The efficacy of two isolates of *Metarhizium anisopliae* (Metschin) Sorokin *(Deuteromycotina: Hyphomycetes)* against the adults of the black maize beetle *Heteronychus licas Klug (Coleoptera: Scarabidae)* under laboratory conditions. African Journal of Agricultural Research, 3 (4): 259-265.

Mnyone LL, Kija R, Ng'habi KR, Mazigo HD, Katakweba AA, Lyimo IN, 2012. Entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* reduce the survival of *Xenopsylla brasiliensis* larvae (Siphonaptera: *Pulicidae*). Parasites and Vectors 2012, **5**:204

Mohammadbeigi A, Port G, 2013. Efficacy of Beauveria bassiana and Metarhizium anisopliae against Uvarovistia zebra (Orthiptera:*Tettigoniidae*) via contact and ingestion. International journal of Agriculture and Crop Sciences 5(2):138-146.

Pell JK, Eilenberg J, Hajek AE, Steinkraus DC, 2001. Biology, ecology and pest management potential of entomophthorales. Pp. 71-154 In: Butt TM, Jackson, CW, and Magan, N (eds) Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential. CAB International, Wallingford, UK.

Ramakrishnan R, Suiter DR, Nakatsu CH, Humber RA, Bennett GW, 1999. Imidacloprid-Enhanced *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: *Rhinotermitidae*) Susceptibility to the Entomopathogen *Metarhizium anisopliae.* Journal of Economical Entomology 92(5): 1125-1132.

Searle T, Doberski J, 1984. An investigation of the entomogenous fungus *Beauveria bassiana* (BALS.) Vuill. as a potential biological control agent for *Oryzaephilus surinamensis* (L.). Journal of Stored Products Research 20(1): 17-23.

St. Leger RJ, 1993. Biology and mechanisms of insect-cuticle invasion by deuteromycete fungal pathogens. Parasites and pathogens of insects, Vol. 2: Pathogens. Academic Press, San Diego, California, pp. 211–229

Thi Loc N, Bich Chi VT, Nhan NT, Thanh ND, Be Hong TT, Hung PQ, 2004. Biocontrol potential of *Metarhizium anisopliae* against coconut beetle. Brontispa longissima. Omonrice 12: 85-91.

Tserodze M, Meskhi N, 2012. Biological control of fall webworm. Third International Scientific Symposium on Agrosym Jahorina, Pp. 514-516.

Wakefield ME, 2014. Factors affecting storage insect susceptibility to the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. 9th International Working Conference on Stored Product Protection. pp 855-862.

Wright MS, Osbrink WLA, Lax AR, 2002. Transfer of entomopathogenic fungi among formosan subterranean termites and subsequent mortality. Journal of Applied Entomology 126: 20-23.

Wright SP, Ramos ME, 2002. Application parameters affecting field efficacy of *Beauveria bassiana* foliar treatments against Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*. Biological Control 23:164–178.

Lethal effect of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. and *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokinin Against Larvae and Adults of Date Sap Beetle (*Carpophilus hemipterus*)

F Jamali[1*], MA Kohanmoo[2] and F Sohrabi[1]

[1]Assistant Professors, Department of Plant Protection, College of Agriculture and Natural Resources, Persian Gulf University, Bushehr, Iran
[2]Assistant Professor, Department of Plant Breeding, College of Agriculture and Natural Resources, Persian Gulf University, Bushehr, Iran
[*]Corresponding author: Jamali@pgu.ac.ir

Received: 7 Mar 2015 Accepted: 15 Vov 2016

Abstract

Date sap beetle, *Carpophilus hemipterus* (Col.: Nitidulidae) is one of the post-harvest pests of date palm fruits which causes a lot of damages under store conditions. There are several methods for controlling stored product pests and one of the major methods is applying entomopathogenic fungi as biological control agents. In this study, the fungus *B. bassiana* Iran 1395C and *M. asisopliae* isolate Iran 1018C were used to control fourth instar larvae and adults. Bioassay method for larvae was performed with filter paper impregnated with spore suspensions in sterile Petri dishes and for adults by immersing insects in spore suspension. Spore suspension at concentrations of 3×10^8, 3×10^7, 3×10^6, 3×10^5 conidia/ml was prepared in Tween 0.02%, then mortality rate of adults was examined after 3, 7, 9, 11, 13 days and for larvae after 3, 7 and 9 days. The results showed that mortality rate increased by increasing time and concentration of spore suspension. Mortality rates of adults for abovementioned concentrations using *B. bassiana* were 24.4, 14.4, 12.8 and 10.5% and for larvae were 83.3, 76.7, 72.2 and 71.1%, respectively. Moreover, it is revealed that fungal application at a concentration of 3×10^8 conidia/ml after 15 days and at all concentrations after 9 days lead to the highest mortality rate of adults (30%) and larvae (100%), respectively. Regarding *M. anisopliae*, mortality rates of larvae for were 78.9, 75.6, 73.3 and 54.4% and for adults were 51.7, 20.6, 12.2 and 10%, respectively. On the other hand results showed that the fungus at a concentration of 3×10^8 after 15 days and at a concentration of 3×10^5 after seven days caused the highest mortality rate of adults (63.3%) and larvae (97%), respectively. Results indicate that fungal isolates used in this study have high insecticidal activity against larvae and adults of date sap beetle, and can be used for product protection after harvest.

Keywords: Biocontrol, Entomopathogen, Sap-beetle.