

توانایی بیماریزایی *Beauveria bassiana* در جمعیت لارو و حشره کامل شپشه‌دندان‌دار *Oryzaephilus surinamensis* روی ارقام مختلف خرما

مسعود لطیفیان^{۱*}، ابراهیم سلیمان نژادیان^۲، مهران غزوی^۳، محمد سعید مصدق^۴ و جمشید حیاتی^۵

* نویسنده مسئول: دانشجوی سابق دکتری حشره شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز و استادیار پژوهش مؤسسه

تحقیقات خرما و میوه های گرمسیری کشور، اهواز (masoudlatifian@yahoo.com)

۵ و ۴ - برتیب دانشیار، استاد و دانشیار گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز

۳ - مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی، تهران

تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۲/۱۵

تاریخ دریافت: ۸۸/۳/۳

چکیده

قارچ *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemia (Deut., moniliaceae) یکی از عوامل کنترل بیولوژیک شپشه دندان‌دار خرما *Oryzaephilus surinamensis* L. (Col., Silvanidae) می‌باشد. قدرت بیماریزایی این قارچ روی مراحل لارو و حشره کامل آفت پرورش یافته روی سه رقم سایر، زاهدی و دیری در حرارت 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۶۰ درصد و دوره روشنایی (۱۲D : ۱۲L) مطالعه شد. نتایج نشان داد برای مرحله رشدی حشره کامل کمترین LC_{50} مربوط به رقم زاهدی معادل $2/46 \times 10^4$ کنیدی در میلی‌لیتر و بیشترین آن مربوط به روی رقم دیری معادل $2/69 \times 10^4$ کنیدی در میلی‌لیتر بود. برای مرحله لاروی کمترین LC_{50} مربوط به رقم سایر و معادل $3/31 \times 10^3$ کنیدی در میلی‌لیتر و بیشترین آن مربوط به رقم دیری معادل $6/29 \times 10^3$ کنیدی در میلی‌لیتر بود. پایین‌ترین زمان ۵۰ درصد کشندگی (LT_{50}) به ترتیب برای لارو و حشره کامل پرورش یافته روی رقم سایر و معادل $4/69$ و $6/68$ روز بود. بالاترین زمان ۵۰ درصد کشندگی (LT_{50}) لارو و حشره کامل نیز مربوط به رقم دیری و به ترتیب معادل $6/42$ و $7/07$ روز بود. بنابراین در توصیه غلظت مناسب برای کاربرد در برنامه کنترل میکروبی باید مرحله رشدی آفت و نوع رقم خرما در نظر گرفته شود.

کلیدواژه‌ها: *Beauveria bassiana*، شپشه دندان‌دار، ارقام خرما

مقدمه

تاکنون در کشور ما تحقیقات چندانی در رابطه با این آفت و عامل مهم کنترل بیولوژیک آن صورت نگرفته است (۱۳).

مطالعات نشان می‌دهد که در استان خوزستان تنها ۸ درصد خرما از نوع درجه ۱ و ۹۲ درصد باقیمانده از نوع درجه ۲ و ۳ می‌باشد. برای خرمای درجه ۱ استفاده از روش‌های گران‌تر نظیر انواع روش‌های بسته بندی، تیمارهای حرارتی، روش‌های اتمسفری و تلفیق آنها قابل پیشنهاد می‌باشد. در حالی که برای خرماهای درجه ۲ و ۳ که نیاز به بسته بندی ندارند روش‌های ارزان تری نظیر سموم

در کشور ما به طور متوسط سالیانه ۱۰ تا ۲۰ درصد محصولات کشاورزی در انبارها، بوسیله آفات از بین می‌روند (۱۳). مسلم است که این خسارت در بعضی از نقاط کشور و در مورد پاره‌ای از محصولات به مراتب بیشتر از این مقدار است. یکی از مهمترین آفات انباری خرما شپشه دندان‌دار *Oryzaephilus surinamensis* L. می‌باشد. تغذیه لاروها و افراد کامل این حشره از خرما اهمیت آن را به عنوان یک آفت دوچندان نموده است (۱۳). یکی از عوامل کنترل بیولوژیک این آفت قارچ *Beauveria bassiana* می‌باشد (۸). علیرغم این موضوع،

نهایت از طریق خواص ترکیبات ضد میکروبی توانایی کنترل عوامل بیماریزای حشرات را تحت تأثیر قرار می دهند (۱۰). در این تحقیق توانایی بیماریزایی قارچ *B. bassiana* روی سوسک شپشه دندانه دار روی سه رقم خرما در شرایط انباری مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش ها

الف) پرورش حشره

مراحل مختلف رشدی شپشه دندانه دار از خرمای آلوده از انبارهای خرمای استان خوزستان جمع آوری و به آزمایشگاه حشره شناسی موسسه تحقیقات خرما و میوه های گرمسیری کشور انتقال داده شدند. حشرات کامل (ماده و نر) بوسیله اسپیراتور جداسازی شده و پرورش آنها روی سه رقم سایر، زاهدی و دیری در دمای 27 ± 5 و رطوبت نسبی 60 ± 5 درصد درون اتاقک رشد و درون ظروف پلاستیکی استوانه ای شفاف درب دار به ابعاد $8/5 \times 7/5$ سانتی متر در ۱۰ نسل انجام شد.

ب) کشت جدایه قارچ

جدایه های Iran441c مورد استفاده در این تحقیق از طریق موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور تهیه شد.

پس از آلوده نمودن حشرات کامل به هاگ های جدایه نسبت به آلوده سازی متوالی و مکرر حشره میزبان به دفعات ۱۰ مرحله ایجاد بیماری اقدام شد. آزمایش ها نشان داده است که آلوده سازی متوالی و مکرر حشره میزبان نه تنها از زهر آگینی قارچ جلوگیری نمی کند، بلکه به میزان زهر آگینی و خاصیت تهاجمی قارچ می افزاید (۲).

پس از خالص سازی جدایه قارچ مورد نظر در محیط غذایی SDAY^۲ کشت شد. بعد از اسپرزایی کامل (کشت ۱۴-۱۲ روزه) سطح محیط کشت با سوزن انتقال خراش داده شد و در داخل ارلن های

میکروبی، گازدهی با سموم شیمیایی مجاز و یا تلفیق آنها به عنوان جایگزین متیل بروماید مناسب می باشند (۱۳).

مطالعات اولیه نشان داده است که در انبارهای خرما علاوه بر فعال بودن زنبور پارازیتوئید *Cephalonomia tarsalis* Ashmead امکان استفاده قارچ *B. bassiana* نیز علیه شپشه دندانه دار وجود دارد (۱۴).

در تحقیقات جاسیم و همکاران^۱ (۸) قارچ *B. bassiana* را به نسبت 3×10^5 کفایتی در متر مکعب در شرایط انبارداری خرما بکار بردند و توانستند تا ۹۶ درصد جمعیت *Carda cautella* (Walk (Lep:Pyralidae) را کاهش دهند. قدرت قارچ *B. bassiana* برای کنترل انواع آفات انباری از جمله *O. surinamensis* بیشتر از سایر قارچ های حشره خوار از جمله *anisapliae* Metsch و *Nomurea rileyi* Farlow و *Metarhizium* می باشد (۱۶).

در بروز همه گیری و قدرت بیماریزایی هر پاتوژن توان بقا و پراکنش آن اهمیت دارد (۱۹). پارامترهای مزبور را با استفاده از میانگین مقدار کشتندگی (LC₅₀) و میانگین زمان مرگ و میر (LT₅₀) اندازه گیری می کنند. عوامل مختلفی نظیر نوع و مرحله رشدی میزبان و نوع رقم میزبان گیاهی بر پارامترهای مزبور مؤثر می باشند. برای قارچ *Beauvaria bassiana* این آزمایش ها در رابطه با حشرات گوناگون و در شرایط مختلفی انجام شده است (۱۶).

گیاهان میزبان به سه طریق حساسیت حشرات گیاهخوار را نسبت به میکروارگانیزم های بیماریزای آنها تحت تأثیر قرار می دهند. گیاهان با تأثیر بر سرعت رشد گیاهخوار میزبان پاتوژن (۱۷)، از طریق ایجاد استرس های تغذیه ای بر گیاهخوار (۱۵) و در

2 -Suberbed Dextrose Agar + Yeast extract

1 -Jassim et al.

پس از انجام آزمایش‌های مقدماتی و تعیین دزهای حداقل و حداکثر، پنج دز لگاریتمی برای حشره کامل شامل 10^3 ، 5×10^3 ، 10^4 ، 5×10^4 و 10^5 و برای مرحله لارو دزهای 5×10^2 ، 5×10^4 و 5×10^5 در میلی لیتر تهیه و آزمون‌های حیاتی با آنها انجام شد. زیست سنجی‌ها با حشرات کامل و لاروهای پرورش یافته روی خرما سه رقم سایر، زاهدی و دیری در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. برای هر تکرار ۲۰ عدد از هر مرحله رشدی استفاده شد و آزمایش‌ها در ۵ تیمار شامل دزهای مختلف و در ۳ تکرار به همراه تیمار شاهد انجام گرفت. برای آلوده سازی مراحل رشدی، آنها را همزمان با هم به مدت ۲۰ ثانیه درون سوسپانسیون هاگ فرو برده و همزمان با هم به کمک صافی استریل از محلول خارج شده و پس از خروج درون انکوباتور با دمای 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 85 ± 5 درصد برای دو روز نگهداری نموده و برای روزهای بعد در رطوبت نسبی ۶۰ درصد و دوره روشنایی (۱۲D : ۱۲L) قرار گرفتند. در بازدید روزانه مراحل رشدی تلف شده جمع‌آوری و پس از ضدعفونی سطحی بدن آنها با محلول هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد، درون اتاقک مرطوب قرار داده شدند تا بار قارچ در سطح بدن آنها ظاهر شود. مرگ و میر حشرات هر روز و به مدت ۱۰ روز ثبت و جدول مرگ و میر جمععی آنها تهیه شد.

محاسبات آماری

برای تعیین دزهای کشنده از نرم افزار Probit (1998-2000) استفاده شد. برای رسم خط رگرسیون داده‌هایی که توسط نرم افزار اخیر پردازش شده بود به نرم افزار Excel منتقل و منحنی‌های خطی و سیگموئیدی مربوطه رسم شد. برای این منظور مدلی انتخاب می‌شد که کمترین آ-

جداگانه جمع‌آوری شد که حاوی ۱۰ میلی لیتر آب مقطر استریل با محلول ۰/۰۵ درصد توئین^۱ ۸۰ بود. محلول فوق به مدت ۵ دقیقه به طور پاندولی به هم زده شد. با استفاده از لام گلبول شمار، غلظت‌های مختلف کنیدی بر حسب تعداد در میلی میلی لیتر تهیه شد. برای تهیه محیط کشت SDAY از ترکیب آگار ۱۵ گرم، دکستروز ۲۰ گرم، باکتوپیتون ۱۰ گرم، عصاره مخمر ۲ گرم و آب مقطر به میزان ۱۰۰۰ میلی لیتر استفاده شد. پس از حل کردن مواد درون ارلن و بوسیله به هم زن الکتریکی حرارتی ارلن‌های حاوی محیط کشت جهت ضدعفونی به دستگاه اتوکلاو با فشار ۱/۵ اتمسفر و دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه منتقل شدند.

ج) زیست سنجی

برای محاسبه مقدار کشنده جدایه قارچ بیماریزا از محلول ۰/۰۵ درصد آب مقطر استریل و توئین ۸۰ به عنوان حامل استفاده شد. به این ترتیب که اجزاء هاگ مربوط به جدایه از سطح ظرف پتری با قطر ۹ سانتی‌متر برداشته شده و درون محلول به حالت معلق در آمد و سپس سوسپانسیون حاصل از پارچه ململ دو لایه عبور داده شد تا قطعات میسلیوم از آن جدا شدند. برای جدا شدن هاگ‌ها از هم و عدم تشکیل زنجیر در هنگام شمارش، درون لوله‌های حاوی سوسپانسیون قارچ، مهره‌های شیشه‌ای ریخته و برای چند دقیقه به شدت تکان داده شد. جهت شمارش اسپورها و تهیه تراکم‌های مختلف اسپور در واحد حجم از لام گلبول شمار^۲ استفاده شد. برای اندازه‌گیری زنده‌مانی هاگ‌ها روز قبل از آزمایش مقدار اندکی از اسپورهای مورد آزمایش به صورت استریل درون محلول ۰/۰۵ درصد توئین ۸۰ به حالت تعلیق در آمده و روی محیط SDAY کشت شد و روز بعد فقط از کشت‌هایی استفاده شد که بیش از ۸۵ درصد هاگ‌های آن جوانه زده بودند (۹).

1- Tween 80

2 - Improved Neubar

در میان ارقام مورد آزمایش کمترین LC_{50} مربوط به جدایه Iran441C روی حشرات کامل زاهدی معادل $2/46 \times 10^4$ کنیدی در میلی لیتر بود. بیشترین مقدار LC_{50} روی حشرات کامل رقم دیری معادل $2/69 \times 10^4$ کنیدی در میلی لیتر بود. کمترین LC_{50} مربوط به جدایه 441C روی لارو پرورش یافته روی رقم سایر و معادل $3/31 \times 10^3$ کنیدی در میلی لیتر بود. بیشترین مقدار LC_{50} روی لارو پرورش یافته روی رقم دیری معادل $6/29 \times 10^3$ کنیدی در میلی لیتر بود. بنابراین دز کشنده بسته به مرحله رشدی سوسک ها و ارقام مورد آزمایش متفاوت بود. این دز در حشرات کامل به طور قابل توجهی بیشتر از لاروها می باشد.

مقایسه ضریب ایمنی (ناگیری $D=$) در ارقام مختلف در شکل ۳ نشان داده شده است. همان طور که در این شکل ملاحظه می شود، بالاترین مقدار این ضریب در هر دو مرحله رشدی برای رقم دیری نمایه شده است. این در حالی است که در رقم زاهدی کمترین ناگیری 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 حالی که برای بکارگیری قارچ در کنترل میکروبی آفت در رقم سایر به دز کمتری احتیاج است. از طرف دیگر ضریب ناگیری مرحله حشره کامل در سه رقم بالاتر از مرحله لاروی می باشد.

زمان کشندگی جدایه به تفکیک برای مراحل رشدی حشره کامل و لارو در ارقام مختلف برای گروه های دزی که تا پایان آزمایش نیمی از حشرات تلف شدند، محاسبه شد (شکل های ۴ و ۵). پایین ترین زمان ۵۰ درصد کشندگی به ترتیب برای لارو و حشره کامل مربوط به رقم سایر به ترتیب معادل $4/69$ و $6/68$ روز بود. بالاترین زمان ۵۰ درصد کشندگی لارو و حشره کامل مربوط به رقم دیری به ترتیب معادل $6/42$ و $7/07$ روز بود.

این تحقیق نظیر تحقیقات مشابه بیانگر این

ای-سی^۱ را داشته باشد. معیار اطلاعاتی آکایکی^۲ معیاری است که با استفاده از فرمول زیر محاسبه می شود:

$$AIC = -2L + 2M$$

هر چه مقدار آن کمتر باشد ترکیب مدل رگرسیونی و تابع پراکنش انتخاب شده، رفتار داده ها را به نحو مطلوب تری توصیه می نمایند. در این فرمول L حداکثر لگاریتم^۳ و m تعداد پارامترها می باشند (۶).

LT_{50} ایزوله های مختلف با کمک نرم افزار Curve Expert.s محاسبه شد.

برای محاسبه ضریب ناگیری طبیعی (D) از رابطه زیر استفاده شد (۵).

$$P^* = C + (1 - C - D)P$$

در این رابطه P^* نسبت جمعیت پاسخ نداده به عامل بیماریزا در مدل، P نسبت جمعیت پاسخ نداده به عامل بیماریزا در آزمایش و C نسبت جمعیت پاسخ داده به عامل بیماریزا در شرایط مدل می باشد (۵).

نتایج و بحث

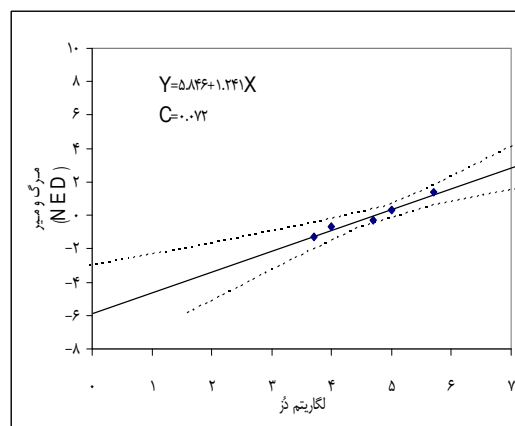
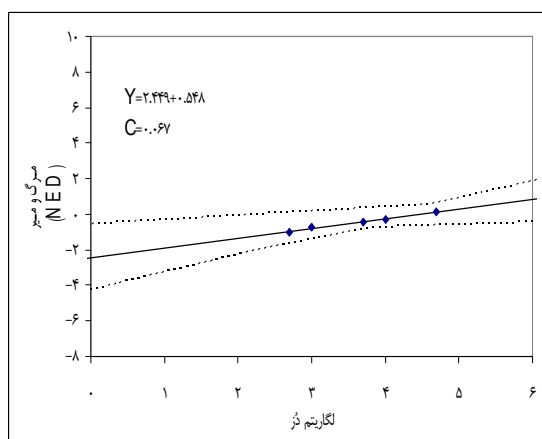
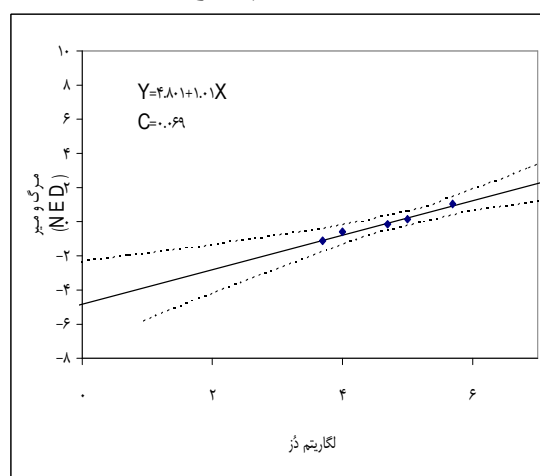
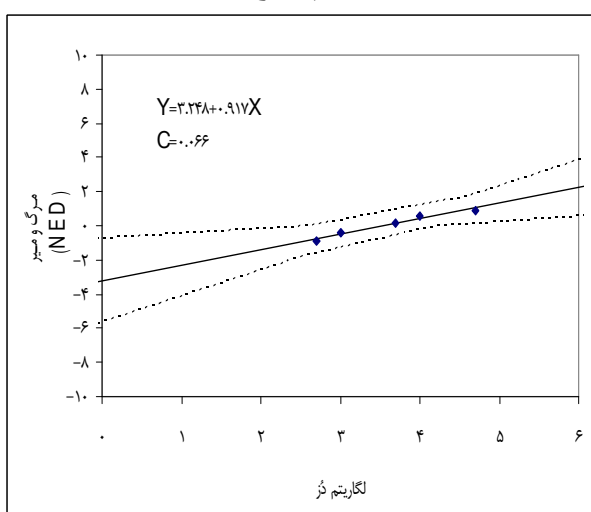
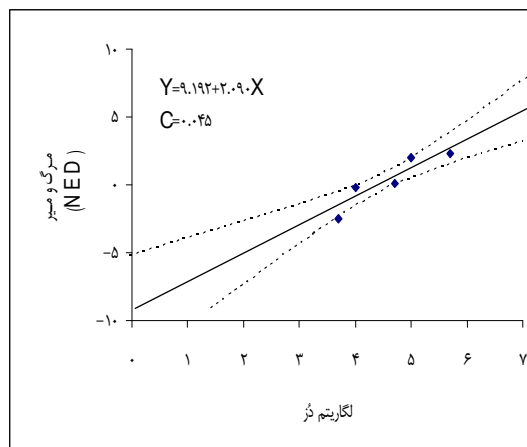
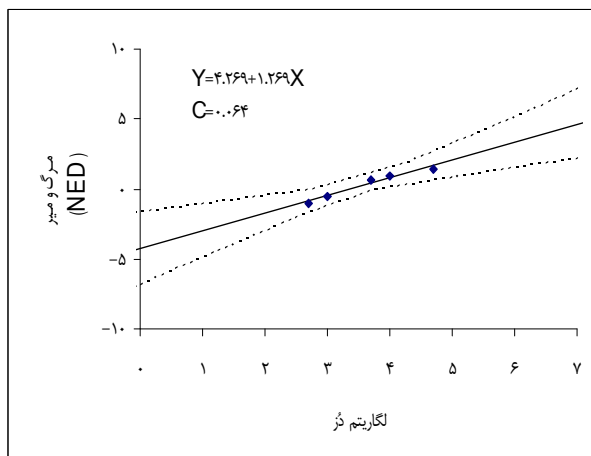
پس از آلوده ساختن مراحل مختلف رشدی با استفاده از جدایه انتخابی مورد آزمایش و سپری شدن ۱۰ روز با استفاده از آمار مرگ و میر تجمعی ترکیبی از پراکنش و مدل های رگرسیونی مناسب انتخاب شدند (شکل های ۲ و ۱) سپس دز کشنده ۵۰ و ۹۹ درصد به تفکیک برای حشرات کامل و لارو محاسبه شد که در جدول ۱ منعکس شده است.

در مورد داده های حاصل از کاربرد جدایه انتخابی روی شپشه دندان دار پرورش یافته روی سه رقم خرماي سایر، زاهدی و دیری کمترین آ-ای-سی ها از ترکیب نوع توزیع پراکنش داده ها بصورت لجستیک و لگاریتم - لگاریتم با مدل زیست سنجی از نوع ترجیحی با پاسخ طبیعی حاصل شد.

1-AIC

2-Akaike

3- Maximum log-likelihood (حداکثر درست نمایی)



ج) رقم دیری

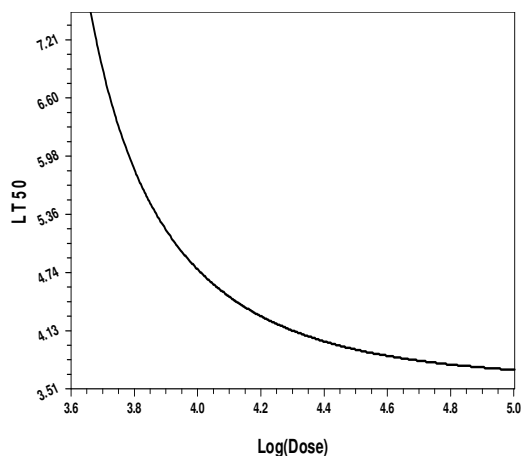
شکل ۲- نمودار دز - مرگ و میر^۱ جدایه
IRAN 441C برای حشره کامل

شکل ۱- نمودار دز - مرگ و میر جدایه IRAN
441C برای لارو

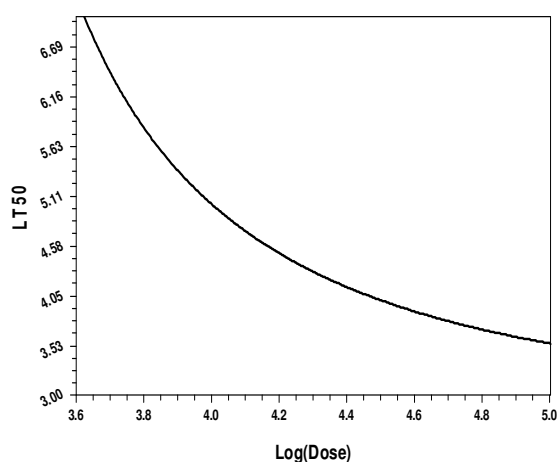
1-NED=نرخ خالص مرگ و میر

جدول ۱- دز کشنده جدا به‌های Iran441C به تفکیک لارو و حشره کامل شیشه دندان‌دار خرما در سه رقم سایر زاهدی و دیری

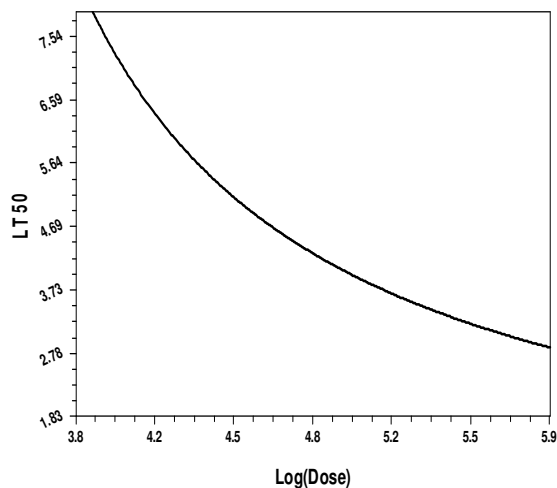
مدل رگرسیونی	تابع پراکنش	LC ₉₉ (کنیدی در میلی لیتر) و حدود بالا و پایین	LC ₅₀ (کنیدی در میلی لیتر) و حدود بالا و پایین در سطح ۹۵ درصد	کای اسکور	AIC	مرحله رشدی	رقم
Preference with Natural Preference	Logistic	$3/46 \times 10^6$	$7/51 \times 10^4$	۰/۵۴	۱۱۵/۵۳	کامل	سایر
Preference with Natural Preference	Logistic	$(1/32 \times 10^8, 8/62 \times 10^5)$	$(4/45 \times 10^4, 1/81 \times 10^4)$	۰/۶۴	۱۳۵/۷۶	لارو	لارو
Preference with Natural Preference	Log-Log	$(1/99 \times 10^5, 5/34 \times 10^4)$	$(6/03 \times 10^3, 5/42 \times 10^2)$	۰/۶۱	۱۲۸/۴۵	کامل	زاهدی
Preference with Natural Preference	Log-Log	$(4/66 \times 10^7, 5/46 \times 10^5)$	$(5/36 \times 10^4, 5/47 \times 10^2)$	۰/۶۹	۱۴۴/۹۳	لارو	لارو
Preference with Natural Preference	Log-Log	$(9/05 \times 10^5)$	$(1/62 \times 10^4, 4/06 \times 10^2)$	۰/۵۷	۱۲۱/۳۹	کامل	دیری
Preference with Natural Preference	Log-Log	$(9/24 \times 10^6, 3/47 \times 10^5)$	$(5/28 \times 10^4, 7/72 \times 10^2)$	۰/۷۱	۱۴۸/۳۹	لارو	لارو
Preference with Natural Preference	Log-Log	$(9/29 \times 10^8, 4/5 \times 10^5)$	$(6/06 \times 10^4, 2/28 \times 10^2)$				



الف

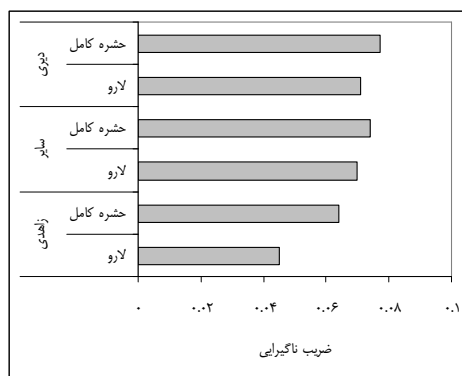


ب



ج

شکل ۴- زمان کشندگی ۵۰ درصد در دزهای متفاوت در مرحله رشدی لارو الف: سایر، ب: زاهدی و ج: دیری



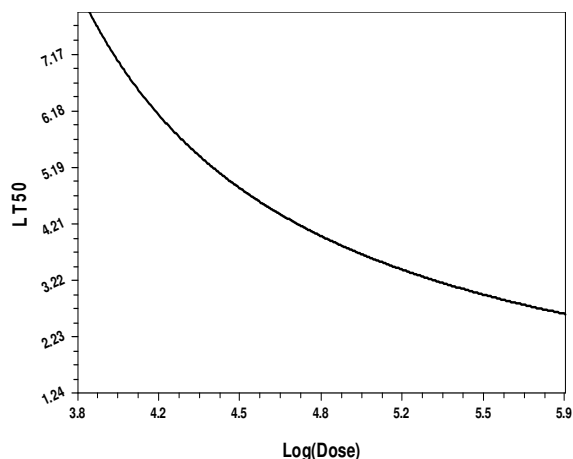
شکل ۳- مقایسه ضریب ایمنی مراحل رشدی مختلف شپشه دندانه دار نسبت به جدایه Iran441C در ارقام سایر، زاهدی و دیری

واقعیت است که در نظر گرفتن اثرات گیاه میزبان در مطالعات دشمنان طبیعی بندپایان به ویژه میکروارگانیزم های پاتوژن حشرات از اهمیت ویژه ای برخوردار است. زیرا گیاهان میزبان از طریق متابولیت های ثانویه خود توانایی اثر بر قدرت بیماریزایی و توانایی تولید زهرابه های عوامل بیماریزا دارند که می تواند اثر محدود کننده در توانایی کنترل آنها داشته باشد (۱۸). نظیر چنین تأثیراتی در رابطه با ویروس های (۱۱ و ۱۷)، نماتدها (۱)، قارچ ها (۷ و ۴) و باکتری ها (۷) مطالعه شده است.

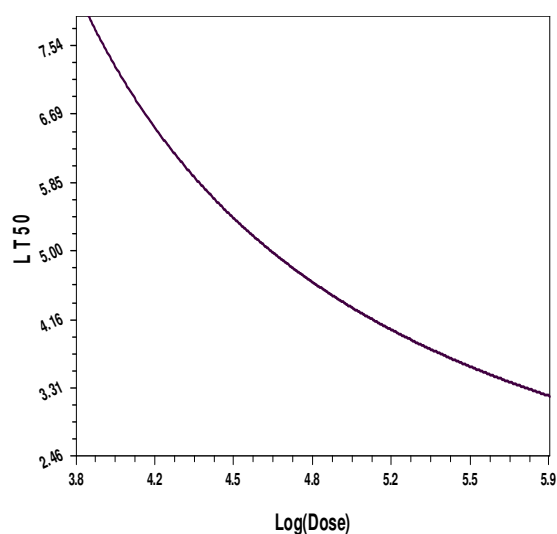
از جمله این عوامل محدود کننده می توان به فنولیک اسیدها، فالونول ها، آنتوسیانیدها، ترپن ها، نفتانول ها، کتون ها، ترپنوئیدها، اسیدهای چرب و ترکیبات مشابه دیگر اشاره نمود (۳). مطالعات انجام شده در رابطه با قارچ *B. bassiana* نشان داده است که نوع رقم سیب زمینی روی حساسیت سوسک های کلرادو نسبت به این قارچ مؤثر بوده است (۷). نوع رقم گیاه میزبان می تواند روی دفاع موفق حشره میزبان در مقابل عامل بیماریزگر و در نتیجه میزان بقای آن تاثیر گذارد. گاهی این عامل طول دوره انکوباسیون عامل بیماریزگر را در جمعیت حشره میزبان کاهش داده است. در مطالعه ای که

روی *B. bassiana* انجام شده نشان داده شد که نوع رقم گندم مورد تغذیه سوسک‌های آفت در نرخ مرگ و میر ایجاد شده توسط این قارچ بر جمعیت حشره میزبان مؤثر بوده است (۵). وجود ترکیبات گلوکوزینولات^۱، نیتروژن و سولفور در سنتز آنزیم‌های لازم برای نفوذ قارچ به بدن حشره میزبان مؤثر می‌باشد. ارقامی که حاوی نرخ بیشتری از ترکیبات مزبور باشند، شرایط مناسب‌تری را برای ایجاد بیماری و بقای آن در جمعیت حشره میزبان فراهم می‌کنند (۹). بررسی اثرات چنین موادی در توانایی بیماریزایی قارچ مورد بررسی توصیه می‌گردد.

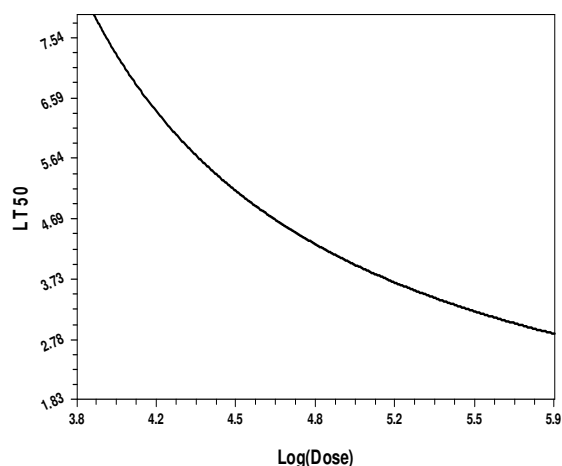
همچنین مقایسه روش تیمار خرما با استفاده از قارچ باواریا با سایر روش‌های تیمار نظیر تیمارهای تغییر اتمسفری و روش‌های حرارتی نشان داد که روش مزبور در حفظ خصوصیات کیفی خرما تیمار شده مؤثر بوده و نتایج مشابهی داشته است. مطالعات انجام شده نشان داده است که استفاده از اتمسفر کنترل شده و تیمار بسته بندی سبب حفظ خصوصیات کیفی میوه خرما رقم برخی گشته است. اتمسفر تغییر یافته به طور مستقیم بر شدت تنفس میوه تأثیر گذاشته و با کاهش یا جلوگیری از فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده سبب حفظ کیفیت میوه می‌شود (۱۲).



الف



ب



ج

شکل ۵- زمان کشندگی ۵۰ درصد در دزهای متفاوت در مرحله رشدی حشره کامل ارقام الف: سایر، ب: زاهدی و ج: دیری

1 -Glucosinolates

منابع

1. Barbercheck M.E. 1993. Tritrophic level effects on entomopathogenic nematodes. *Environmental Entomology*, 22: 1166–1171.
2. Daoust, R.A., and Roberts, D.W. 1982. Virulence of natural and insect- passed strains of *Metarhizium anisopliae* to mosquito larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*, 40: 107-117.
3. Cole, M.D. 1994. Key antifungal, antibacterial and anti-insect assays – A critical review. *Biochemical System Ecology*, 22: 837–856.
4. Costa, S.D., and Gaugler R.R. 1989. Influence of *Solanum* host plants on Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) susceptibility to the entomopathogen *Beauveria bassiana*. *Environmental Entomology*, 18: 531–536.
5. Finney, D.J. 1979. Bioassay and the Practice of Statistical Inference. *International Statistist Reviwes*, 47, 1–12.
6. Fragues, J., Delmas, J.C. and R.A. Le Brun. 1994. Leaf consumption by larvae of Colorado potatoes beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) infected with the entomopathogen, *Beauveria bassiana*. In: Butt, T. M., Jackson, C. and Magan, N. (Eds.) *Fungi as biocontrol agents, Progress, Problems and Potentials*. CAB International, Wallingford UK. pp: 23-69
7. Hare, J.D., and Andreadis T.G. 1983 .Variation in the susceptibility of *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) when reared on different host plants to the fungal pathogen, *Beauveria bassiana* in the field and laboratory. *Environmental Entomology*, 12: 1892– 897.
8. James, E.T., and Jeffrey, C.L. 2003. Tritrophic interactions and storage pest control: interaction of the fungus *Beauveria bassiana* with resistant oat varieties for control of *Oryzaephilus surinamensis*. *Insect Pathology and Microbial Control*, 4: 153-170.
9. Jenkins, N.E., and Hevief, G. Langewald, Jcherry, A.J., and Lomer, C.J. 1998. Development of mass production technology for aerial conidia for use as mycopensticides. *Biocontrol News and Information*, 19 (1): 29-39.
10. Jones, C.G. 1991. Interactions among insects, plants, and microorganisms: A net effects perspective on insect performance. In: Barbosa P, Krischik V.A, Jones C.G, (eds). *Microbial Mediation of Plant-Herbivore Interactions*. New York: John Wiley & Sons, pp: 7–35.
11. Keating, S.T., and Yendol, W.G. 1987. Influence of selected host plants on gypsy moth Lepidoptera: Lymantriidae) larval mortality caused by a baculovirus. *Environmental Entomology*, 16: 459– 462.
12. Klingen, I.A., Hajek, R.M., and Renwick, J.A.A. 2002. Effect of brassicaceous plants on the survival and infectivity of insect pathogenic fungi. *BioControl*, 47: 411– 425.

13. Latifian, M. 2004. Date palm stored pests control technology. Ahang Galam Publisher. Mashad, 100 p.
14. Lord, J.C. 2001. Response of the wasp *Cephalonomia tarsalis* (Hymenoptera: Bethyridae) to *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales) as free conidia or infection in its host, the sawtoothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae). *Biological Control*, 21(3): 300-304.
15. Mayer, R.T., Inbar, M., McKenzie, Shatters, C.L.R., Borowicz, Albrecht, V.U. Powell, C.A., and Doostdar, H. 2002. Multitrophic interactions of the silverleaf whitefly, host plants, competing herbivores, and phytopathogens. *Archive Insect Biochemical Physiology*, 1: 151–169.
16. Navon, A., and Ascher, K.R.S. 2000. Bioassay of entomopathogenic microbes and nematodes. CABI publishing, 324 p.
17. Santiago-Alvarez, C., and Ortiz-Garcia, R. 1992. The influence of host plant on the susceptibility of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lep., Noctuidae) larvae to *Spodoptera littoralis* NPV (Baculoviridae, Baculovirus). *Journal of Applied Entomology*, 114: 124–130.
18. Schultz, J.C., and Keating, S.T. 1991. Host-plant-mediated interactions between the gypsy moth and a baculovirus. In: Barbosa P, Krischik VA, Jones CG, (eds.) *Microbial Mediation of Plant- Herbivore Interactions*. New York: John Wiley & Sons, pp: 489–506.
19. Steinhaus, E.A. 1949. *Principles of insect pathology*. McGraw-Hill Book Company, New York Toronto London, 757 p.