

توانایی بیماریزایی *Beauveria bassiana* در جمعیت لارو و حشره کامل شپشه دندانه دار روی ارقام مختلف خرما

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

^{*} ۱- 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)

۲- بترتیب دانشیار، استاد و دانشیار گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز

۳- استادیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی، تهران

تاریخ پذیرش: ۱۵/۱۲/۸۷

تاریخ دریافت: ۳/۳/۸۸

چکیده

قارچ (Beauveria bassiana (Balsamo) Vuillemin) یکی از عوامل کنترل بیولوژیک شپشه دندانه دار 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 (۱۲L : ۱۲D) مطالعه شد. نتایج نشان داد برای مرحله رشدی حشره کامل کمترین LC₅₀ مربوط به رقم زاهدی معادل $4/46 \times 10$ کنیدی در میلی لیتر و بیشترین آن مربوط به رقم دیری معادل $2/19 \times 10$ کنیدی در میلی لیتر بود. برای مرحله لاروی کمترین LC₅₀ مربوط به رقم سایر و معادل $3/31 \times 10$ کنیدی در میلی لیتر و بیشترین آن مربوط به رقم دیری معادل $6/29 \times 10$ کنیدی در میلی لیتر بود. پایین ترین زمان ۵۰ درصد کشندگی (LT₅₀) 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 (LT₅₀) 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.

کلیدواژه ها: Beauveria bassiana، شپشه دندانه دار، 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 ارزان‌تری نظیر سموم

در کشور ما به طور متوسط سالیانه ۱۰ تا ۲۰

درصد محصولات کشاورزی در اینباره، 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 اینباری خرما شپشه دندانه دار Oryzaephilus

surinamensis L. می‌باشد. تغذیه لاروها و افراد

کامل این حشره از خرما اهمیت آن را به عنوان یک

آفت دو چندان 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 شپشید دندانه دار روی سه رقم خرما در شرایط انباری مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

الف) پرورش حشره

مراحل مختلف رشدی شپشید دندانه دار از خرمای آلوده از انبارهای خرمای استان خوزستان جمع آوری و به آزمایشگاه حشره‌شناسی موسسه تحقیقات خرما و میوه‌های گرمسیری کشور انتقال داده شدند. حشرات کامل (ماده و نر) بوسیله آسپیراتور جداسازی شده و پرورش آنها روی سه رقم سایر، زاهدی و دیری در دمای 27 ± 5 و رطوبت نسبی 60 ± 5 درصد درون اتفاق رشد و درون ظروف پلاستیکی استوانه‌ای شفاف درب دار به ابعاد $7/5 \times 8/5$ سانتی‌متر در 10×10 نسل انجام شد.

ب) کشت جدایه قارچ

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

پس از آلوده نمودن حشرات کامل به هاگ‌های جدایه نسبت به آلوده سازی متوالی و مکرر حشره میزبان به دفعات ۱۰ مرحله ایجاد بیماری اقدام شد. آزمایش‌ها نشان داده است که آلوده سازی متوالی و مکرر حشره میزبان نه تنها از زهر آگینی قارچ جلوگیری نمی‌کند، بلکه به میزان زهر آگینی و خاصیت تهاجمی قارچ می‌افزاید (۲).

پس از خالص سازی جدایه قارچ مورد نظر در محیط غذایی SDA¹ کشت شد. بعد از اسپرزاپی کامل (کشت ۱۴-۱۶ روزه) سطح محیط کشت با سوزن انتقال خراش داده شد و در داخل ارلن‌های

میکروبی، گازدهی با سوم شیمیایی مجاز و یا تلفیق آنها به عنوان جایگزین متبیل بروماید مناسب می‌باشد (۱۳).

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

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

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

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

پس از انجام آزمایش‌های مقدماتی و تعیین دزهای حداقل و حداکثر، پنج دز لگاریتمی برای حشره کامل شامل 5×10^3 ، 10^3 ، 5×10^4 ، 10^4 و 5×10^5 و برای مرحله لارو دزهای 5×10^2 ، 10^3 و 5×10^4 در میلی میلی لیتر تهیه و آزمون‌های حیاتی با آنها انجام شد. زیست سنجی‌ها با حشرات کامل و لاروهای پرورش یافته روی خرمای 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 برد 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 $2/5$ 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 تجمعی آنها تهیه شد.

محاسبات آماری

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

جداگانه جمع‌آوری شد که حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل با محلول $0/05$ درصد توئین^۱ 80 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 میلی‌لیتر 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 میلی‌لیتر 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 $1/5$ اتمسفر و دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه منتقل شدند.

ج) زیست سنجی

برای محاسبه مقدار کشنده جدایه قارچ بیماریزا از محلول $0/05$ درصد آب مقطر استریل و توئین 80 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 مململ دو لایه عبور داده شد تا قطعات میسیلیوم 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 $0/05$ درصد توئین 80 به حالت تعليق در آمده و روی محیط SDAY کشت شد و روز بعد فقط از کشت‌هایی استفاده شد که بیش از 85 درصد هاگ‌های آن جوانه زده بودند.^(۹)

1- Tween 80

2 - Improved Neubar

در میان ارقام مورد آزمایش کمترین LC₅₀ مربوط به جدایه Iran441C روی حشرات کامل زاهدی معادل $2/46 \times 10^4$ کنیدی در میلی لیتر بود. بیشترین مقدار LC₅₀ روی حشرات کامل رقم دیری معادل $2/69 \times 10^4$ کنیدی در میلی لیتر بود. کمترین LC₅₀ مربوط به جدایه 441C روی لارو پرورش یافته رقم سایر و معادل $3/31 \times 10^4$ کنیدی در میلی لیتر بود. بیشترین مقدار LC₅₀ روی لارو پرورش یافته رقم دیری معادل $3/29 \times 10^4$ 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 (ناگیرایی=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 ناگیرایی نسبت به دو رقم دیگر مورد مطالعه ثبت شده است. در نتیجه برای کنترل مؤثر آفت در رقم دیری به دز بالاتری از قارچ نیاز است. در حالی که برای بکارگیری قارچ در کنترل میکروبی آفت در رقم سایر به دز کمتری احتیاج است. از طرف دیگر ضریب ناگیرایی مرحله حشره کامل در سه رقم بالاتر از مرحله لاروی می باشد.

زمان کشنده‌گی 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 کشنده‌گی 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 کشنده‌گی لارو و حشره کامل مربوط به رقم دیری به ترتیب معادل $6/42$ و $7/07$ روز بود.

این تحقیق نظری 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 وتابع پراکنش انتخاب شده، رفتار دادهها را به نحو مطلوب تری توصیه می نمایند. در این فرمول L حداکثر لگاریتم^۳ و m تعداد پارامترها می باشند (۶).

LT_{50} ایزولهای مختلف با کمک نرم افزار Curve Expert.s

برای محاسبه ضریب ناگیرایی 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

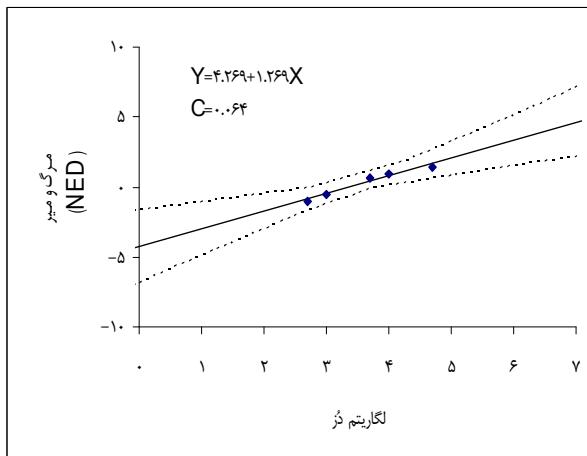
پس از آلوده ساختن مراحل مختلف رشدی با استفاده از جدایه انتخابی مورد آزمایش و سپری شدن ۱۰ روز با استفاده از آمار مرگ و میر تجمعی ترکیبی از پراکنش و مدل های رگرسیونی مناسب انتخاب شدند (شکل های ۲ و ۱) سپس دز کشنده ۵۰ و ۹۹ درصد به تفکیک برای حشرات کامل و لارو محاسبه شد که در جدول ۱ منعکس شده است.

در مورد داده های حاصل از کاربرد جدایه انتخابی روی شپشه دندانه دار پرورش یافته روی سه رقم خرمای 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.

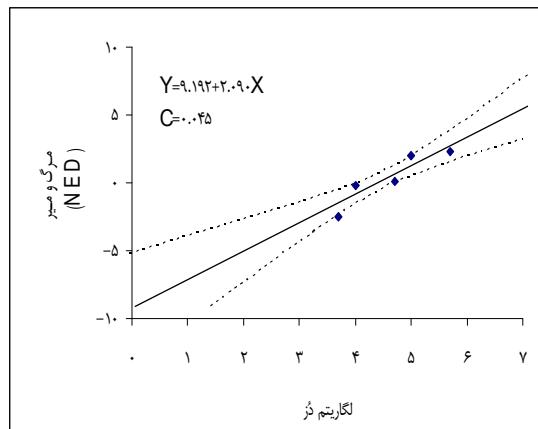
1-AIC

2-Akaike

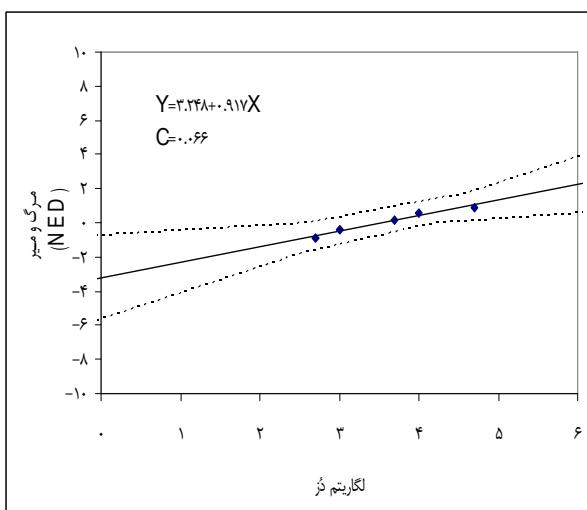
3- Maximum log-likelihood (حداکثر درستنمایی)



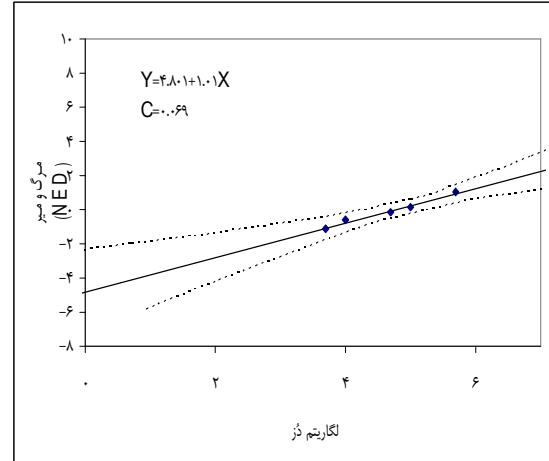
(الف) رقم سایر



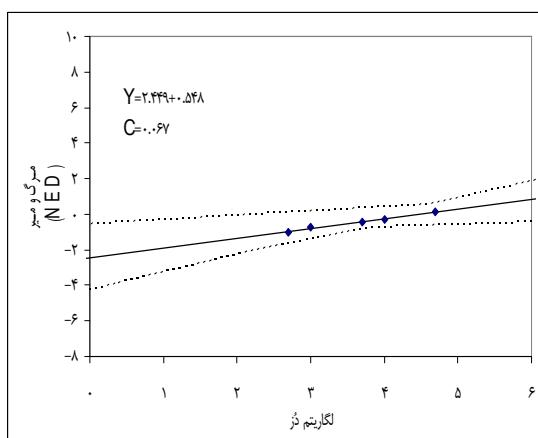
(الف) رقم سایر



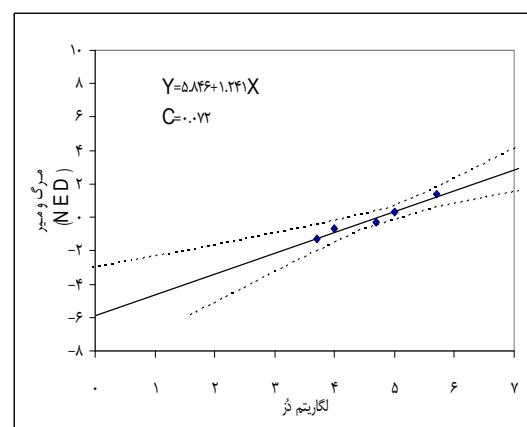
(ب) رقم زاهدی



(ب) رقم زاهدی



(ج) رقم دیری



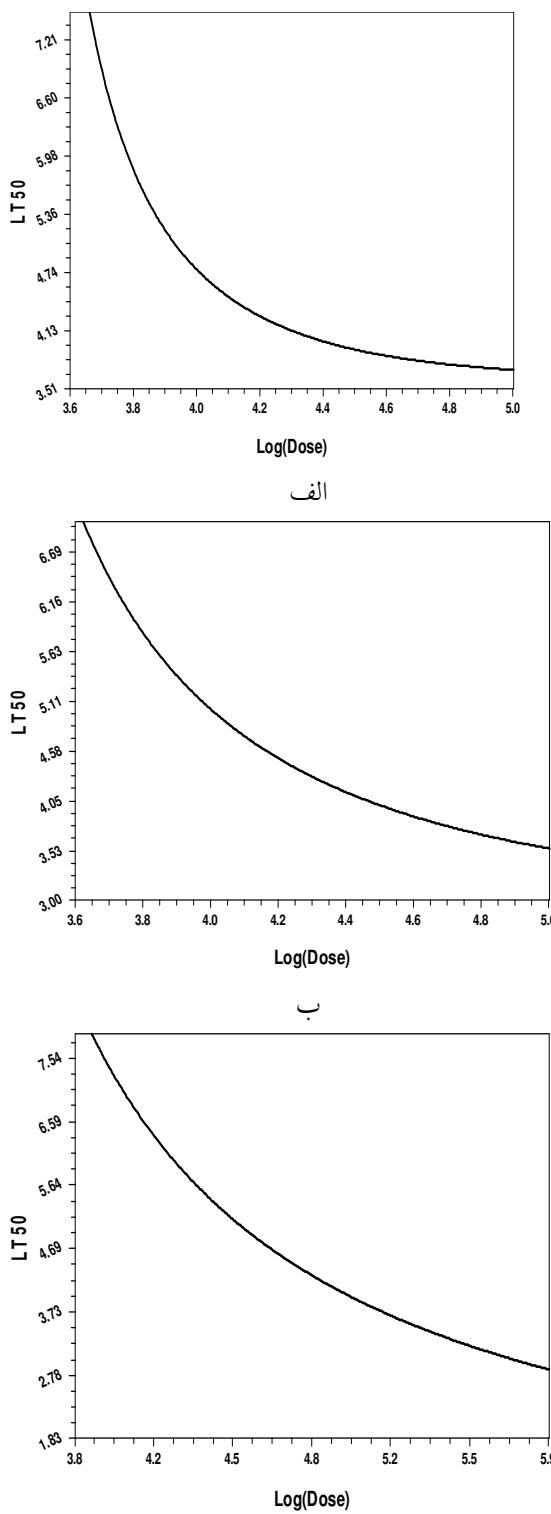
(ج) رقم دیری

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

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

جدول ۱- دز کشندۀ جدایه‌های Iran441C به تفکیک لارو و حشره کامل شپشه دنداندار خرما در سه رقم سایر زاهدی و دیوری

ردیف	کای اسکوینر	AIC	مرحله	رشدی	سایر
Preference with Natural Preference	LC ₉₀ (کنیدی در میلی لیتر) و حدود در سطح ۹۵ درصد بالا و پایین در سطح ۹۵ درصد	۰/۵۴	۱۱۵/۵۳	کامل	کامل
Preference with Natural Preference	Logistic Natural Preference	۰/۵۱×۱۰ ^{-۴} (۴/۴۵×۱۰ ^{-۴})	۱۳۵/۷۶	لارو	کامل
Preference with Natural Preference	Logistic Natural Preference	۰/۵۲×۱۰ ^{-۵} (۳/۳۱×۱۰ ^{-۵})	۰/۶۴	۱۳۵/۷۶	لارو
Preference with Natural Preference	Logistic Natural Preference	۰/۵۳×۱۰ ^{-۵} (۹/۰۳×۱۰ ^{-۵})	۰/۶۱	۱۲۸/۴۵	کامل
Preference with Natural Preference	Log-Log Natural Preference	۰/۵۴×۱۰ ^{-۴} (۵/۳۶×۱۰ ^{-۴})	۱۴۴/۴۳	لارو	کاهشی
Preference with Natural Preference	Log-Log Natural Preference	۰/۵۶×۱۰ ^{-۴} (۱/۶۱×۱۰ ^{-۴})	۰/۶۹	۱۴۴/۴۳	لارو
Preference with Natural Preference	Log-Log Natural Preference	۰/۵۷×۱۰ ^{-۵} (۹/۳۶×۱۰ ^{-۵})	۰/۷۵	۱۲۱/۳۹	کامل
Preference with Natural Preference	Log-Log Natural Preference	۰/۵۸×۱۰ ^{-۵} (۹/۲۴×۱۰ ^{-۵})	۰/۷۷	۱۲۱/۳۹	کامل
Preference with Natural Preference	Log-Log Natural Preference	۰/۵۹×۱۰ ^{-۵} (۹/۲۹×۱۰ ^{-۵})	۰/۷۸	۱۲۱/۳۹	کامل



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



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

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 تاثیراتی در رابطه با ویروس های (۱۱ و ۱۷)، نماتدها (۱)، قارچ ها (۷ و ۲۴) و باکتری ها (۷) مطالعه شده است.

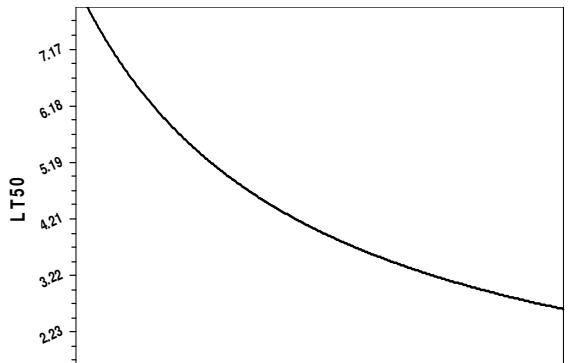
از جمله این عوامل محدود کننده می توان به فنولیک اسیدها، فلاونول ها، آنتوسیانیدها، ترپن ها، نفتانول ها، کتون ها، ترپنوبئیدها، اسیدهای چرب و ترکیبات مشابه دیگر اشاره نمود (۳). مطالعات انجام شده در رابطه با قارچ *B. bassiana* نشان داده است که نوع رقم سیب زمینی روی حساسیت سوسک های کلرادو نسبت به این قارچ مؤثر بوده است (۷). نوع رقم گیاه میزبان می تواند روی دفاع موفق حشره میزبان در مقابل عامل بیمارگر و در نتیجه میزان بقای آن تاثیر گذارد. گاهی این عامل طول دوره انکوباسیون عامل بیمارگر 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 گلوكوزینولات^۱، نیتروژن و سولفور در سنتز آنزیم‌های لازم برای نفوذ قارچ به بدن حشره میزبان مؤثر می‌باشد. ارقامی که حاوی نرخ بیشتری از ترکیبات مذبور باشند، شرایط مناسب‌تری را برای ایجاد بیماری و بقای آن در جمعیت حشره میزبان فراهم می‌کنند (۶). بررسی اثرات چنین موادی در توانایی بیماریزایی قارچ مورد بررسی توصیه می‌گردد.

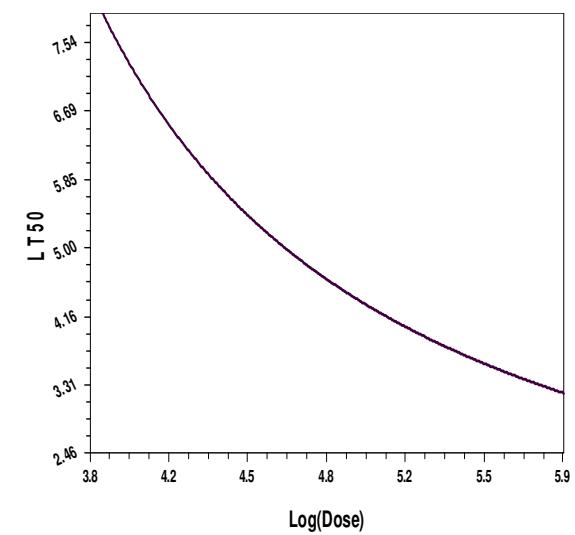
همچنین مقایسه روش تیمار خرما با استفاده از قارچ باواریا با سایر روش‌های تیمار نظیر تیمارهای تغییر اتمسفری و روش‌های حرارتی نشان داد که روش مذبور در حفظ خصوصیات کیفی خرمای تیمار شده مؤثر بوده و نتایج مشابهی داشته است. مطالعات انجام شده نشان داده است که استفاده از اتمسفر کنترل شده و تیمار بسته بندی سبب حفظ خصوصیات کیفی میوه خرمای 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).

سپاسگزاری

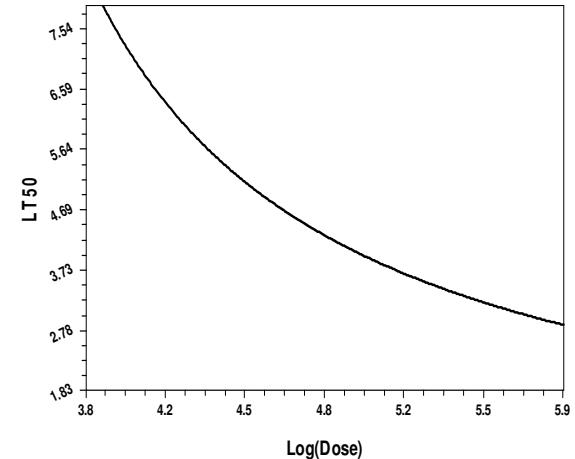
بدین وسیله از حمایت‌های مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران و موسسه تحقیقات خرما و میوه‌های گرم‌سیری تشکر می‌گردد.



الف



ب



ج

شکل ۵- زمان کشنده‌گی ۵۰ درصد در دزهای

متفاوت در مرحله رشدی حشره کامل ارقام

الف: سایر، ب: زاهدی و ج: دیری

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-passaged 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 Reviewes*, 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 Heviego, G. Langewald, Jcherry, A.J., and Lomer, C.J. 1998. Development of mass production technology for aerial conidia for use as mycotoxicides. *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: Bethylidae) 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.