نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۴، شماره ۴، زمستان ۱۳۸۹، ص ۴۷۰-۴۶۵

Journal of Plant Protection
Vol. 24, No. 4, Winter 2011, p. 465-470

قارچ‌های هیفومیست جدا شده ازحشرات و اثر بیماریزایی آنها روی سوسک کلرادو در استان همدان

مرضیه اسدا...پور[۱] - دوستمراد ظفری[۲*] - رسول زارع[۳]

تاریخ دریافت:۸۹/۲/۲۰
تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۰/۲۸

چکیده

بیوکنترل حشرات با بیمارگرهای قارچی میتواند به عنوان یک جایگزین مناسب یا حداقل مکمل سموم شیمیایی مورد استفاده قرار گیرد. در این مطالعه ۴۲ جدایه قارچ متعلق به ۱۲ گونه از حشرات مختلف جداسازی و شناسایی شدند و از بین آنها هفت جدایه برای بررسی اثر بیماریزایی آنها روی لاروهای سوسک کلرادو در استان همدان بکار رفت. این زیست سنجی بصورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. آزمون بیماریزایی ثابت کرد که همه این جدایه‌ها روی لاروهای سوسک کلرادو بیماریزا هستند. در همه جدایه‌ها با افزایش غلظت سوسپانسیون اسپور قارچها درصد مرگ و میر لاروها افزایش یافت. سوسپانسیون اسپور با غلظت 10^7 کنیدیوم در میلی‌لیتر از جدایه‌های *Beauveria bassiana* (دو جدایه)، *Paecilomyces* sp. (دو جدایه)، *Isaria farinosa*، *Trichoderma koningiopsis* و *Fusarium verticillioides* هر کدام یک جدایه به ترتیب باعث ۱۰۰، ۱۰۰، ۴۲/۲، ۴۲/۲، ۲۸/۳۷،۸/۵، ۱۷/۷ درصد مرگ و میر لاروها شدند. نتایج این زیست‌سنجی نشان داد که در بین جدایه‌های مزبور قارچ *B. bassiana* بیشترین بیماریزایی را روی لارو سوسک کلرادو دارند. همچنین طی آزمایشی اثر حشره‌کش‌های دسیس و دانیتول بر جوانه زنی اسپور و رشد میسلیومی *B. bassiana* *بررسی* و مشخص شد دانیتول با *B. bassiana* سازگار است و می‌توان مقادیر زیر حد کشندگی آن را همراه با جدایه‌های *B. bassiana* در کنترل تلفیقی سوسک کلرادو استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: کنترل بیولوژیکی، سیب‌زمینی، سوسک کلراد، هیفومیست‌ها، *Beauveria bassiana*

مقدمه

توسعه مقاومت در آفات نسبت به سموم شیمیایی و همچنین آلودگی‌های زیست محیطی ناشی از مصرف بی‌رویه سموم شیمیایی بشر را بر آن داشته تا برای کنترل آفات به دنبال راه‌حل‌های دیگری غیر از کنترل شیمیایی باشد. در این راستا قارچهای زیادی شناسایی شده‌اند، که باعث بیماری و حتی مرگ حشرات می‌شوند (۱۵). در گونه‌های راسته Entomophthorales قارچهای بیمارگر اجباری حشرات هستند که به واسطه داشتن میسلیوم و کنیدیوم‌های شکننده، تولید تجاری آن‌ها با مشکلاتی مواجه شده است، اما تولید تجاری قارچهای هیفومیست نسبتاً آسان است، زیرا آنها هم در محیط کشت و هم روی حشرات، مقدار بسیار زیادی کنیدیوم تولید می‌کنند (۸) کنیدیوم‌های هیفومیست‌های بیمارگر حشرات محکم به کوتیکول می‌چسبندو جوانه زده ساختارهای نفوذی (لوله تندشی و آپرسوریوم) را برای نفوذ به بدن حشره تولید می‌کنند. این قارچها برای نفوذ در کوتیکول حشره ترکیبی از مکانیزم‌های مکانیکی و آنزیمی (استراز، کوتیناز و لیپاز) را استفاده میکنند (۱۶). همچنین این عوامل سمیت کمی برای پستانداران دارند و تحقیقات متعدد نشان داده است که تولید و استفاده از حشره‌کش‌های قارچی، از نظر سلامت انسان، سایر پستانداران و محیط زیست بسیار بی‌خطر است (۹). در نتیجه در سال‌های اخیر توجه فراوانی به استفاده از هیفومیست‌ها به عنوان عوامل بیوکنترل نماتودها، علف‌های هرز، قارچهای بیمارگر گیاهان و حشرات شده است (۳) و هم اکنون بعضی از آن‌ها به صورت تجاری ثبت شده و تولید انبوه می‌شوند (۴). در اکثر حشره‌کش‌های بیولوژیک قارچی موجود در بازار، از دو قارچ *B. bassiana* یا *Metarhizium anisopliae* استفاده شده است. این دو گونه دامنه میزبانی وسیعی دارند، ولی جدایه‌هایی از آن‌ها وجود دارد که به گونه‌های محدودی از حشرات حمله می‌کنند (۳). گونه

۱و۲- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیار گروه گیاهپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا همدان
(*- نویسنده مسئول: (Email: doustmoradzafari@gmail.com
۳- بخش تحقیقات رستنی‌ها ، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور

B. bassiana توسط چند کمپانی به صورت تجاری تولید شده و برای کنترل حشرات زیان آور از جمله سوسک کلرادو استفاده می‌شود (۴). کاربرد مزرعه‌ای *B. bassiana* برای کنترل سوسک کلرادو از سطح غیر قابل قبول (۱۱) تا کنترل مؤثر گزارش شده است (۱۳). هدف این تحقیق جمع آوری و شناسایی هیفومیست‌های بیمارگر حشرات در استان همدان به منظور یافتن جدایه‌های موثر علیه سوسک کلرادو بوده است. تا درصورت امکان از آنها در کنترل مزرعه‌ای این آفت بهره گرفته شود.

مواد و روش ها

جمع‌آوری حشرات بیمار یا مرده و جداسازی جدایه‌های قارچی از آنها: در بهار و تابستان سال‌های ۸۵ و ۸۶ از مزارع، باغات، مراتع، گلخانه‌ها و هم چنین تاسیسات ساختمانی روستایی و محل‌های دیگر فعالیت حشرات، اقدام به جمع آوری حشرات مشکوک (حشرات بیمار یا مرده) به آلودگی قارچی شد. در نمونه‌برداری‌ها سعی شد از آفات مهم و اقتصادی محصولات زراعی و باغی استان همدان از قبیل سن گندم در گندم، سوسک کلرادو در سیب‌زمینی، کرم سیر در سیر، سرخرطومی برگ یونجه در یونجه و لیسه سیب، شپشک نخودی، سپردار واوی سیب و شته‌ها در باغات میوه قارچهایی جدا شود تا در مراحل بعدی از آنها برای بیوکنترل این آفات استفاده شود. بدین منظور حشرات جمع‌آوری شده در پاکت کاغذی یا درون ظروف شیشه‌ای قرار داده شدند و برای جداسازی عوامل قارچی به آزمایشگاه منتقل شدند. برای کشت نمونه‌ها برحسب اندازه و اندام حشره به مدت ۳۰ ثانیه تا ۲ دقیقه با هیپوکلریت سدیم یک درصد ضدعفونی شدند و سپس با آب مقطر سترون شستشو داده شدند، در مرحله بعد روی کاغذ صافی سترون نمونه‌ها خشک شدند. در نهایت نمونه‌ها در تشتک پتری حاوی محیط سابوراد دکستروز آگار = SDA (۱۵ گرم آگار، ۲۰ گرم دکستروز و ۱۰ گرم باکتوپپتون در یک لیتر آب مقطر) کشت داده شدند و در انکوباتور قرار گرفتند. در مورد نمونه‌های دارای بار قارچی با حذف مراحل ضدعفونی و قراردادن آنها در محل مرطوب به روش بالا عمل شد.

کشت و تکثیر جدایه‌های قارچی به منظور بررسی اثر آنها روی سوسک کلرادو: بعد از خالص سازی و تک اسپور کردن جدایه‌های مختلف برای تهیه مایه تلقیح، تمام جدایه‌های قارچی مورد نظر در محیطهای SDA یا PDA کشت شدند و در انکوباتور با دمای ۲۵°C به مدت ۱۲ روز نگهداری شدند. بعد از اسپورزایی کامل سطح تشتک‌های پتری حاوی کنیدیوم‌های قارچ با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون و به کمک یک لام سترون شسته شد. به منظور پراکنده شدن یکنواخت اسپورها، محلول فوق به مدت ۵ دقیقه توسط شیکر (Shaker) به هم زده شد. به منظور جداسازی قطعات هیف، سوسپانسیون حاصله از یک لایه پارچه ململ سترون عبور داده شد. سپس بوسیله لام گلبول‌شمار رقت‌های $۱۰^{۷} \times ۱$، $۱۰^{۵} \times ۱$ و $۱۰^{۳} \times ۱$ کنیدیوم در میلی‌لیتر آب مقطر سترون تهیه شد (۶).

پرورش حشره: سوسک کلرادو زمستان را به صورت حشره کامل در اعماق خاک سپری می‌کند و با مساعد شدن شرایط محیطی پناهگاه‌های زمستانی را ترک کرده و پس از تغذیه وجفت‌گیری، در سطح زیرین برگ‌های سیب‌زمینی به صورت دسته‌ای تخم ریزی می‌کند. با بازدید از مزارع سیب‌زمینی اقدام به جمع آوری دستجات تخم شد. دستجات تخم جمع آوری شده از مزرعه، با استفاده از قلم موی ظریف که از قبل با آب مقطر مرطوب شده بود از سطح برگ برداشته شد و به یک ظرف مناسب که با حوله کاغذی مفروش شده بود، منتقل شدند. در طول دوره رشد جنینی تخم‌ها، حوله‌های کاغذی بستر تخم‌ها، به کمک آب مقطر مرطوب نگه داشته شدند. پس از طی دوره رشد جنینی و تفریخ تخم‌ها، لاروهای سن اول با احتیاط به کمک قلم موی ظریف از سطح حوله‌های کاغذی برداشته شد و به ظرف مناسب دیگری حاوی برگ‌های تازه سیب‌زمینی منتقل گردیدند (۱). برای این منظور ساقه‌های با برگ‌های جوان و شاداب از گیاهان سیب‌زمینی جدا و در آزمایشگاه مقطع آنها به صورت مورب برش داده شد و با چند لایه پنبه پوشانده شدند. برای حفظ شادابی برگ‌ها و در نتیجه تغذیه بهتر لاروها این پوشش‌های پنبه‌ای در طی دوره تغذیه لاروها، به طور مرتب مرطوب نگاه داشته شدند.

آزمون بیماریزایی: بعد از شناسایی مقدماتی جدایه‌های قارچی بدست آمده، ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون هفت جدایه انتخاب شده با غلظت‌های مختلف از هر جدایه درون تشتک پتری سترون ریخته شد و لاروهای سن سوم سوسک کلرادو سیب‌زمینی به مدت ۲۰ ثانیه به منظور آغشته کردن آن‌ها به قارچ، درون این سوسپانسیون‌ها فرو برده شدند و همزمان از مایه فوق بوسیله قیف دارای تور سیمی سترون خارج شدند. سپس لاروها به ظرف‌های پرورش مناسب و روی برگ‌های سیب‌زمینی منتقل شدند. در تیمارهای شاهد از آب مقطر استریل استفاده شد (۲).

مرگ و میر لاروها برای یک دوره ۲ هفته‌ای هر روز ثبت گردید. طی این مدت هر روز غذای تازه در اختیار لاروها قرار داده شد. لاروهای مرده از ظرف خارج و با استفاده از اتانول ۷۰٪ به مدت ۱۵ تا ۳۰ ثانیه و هیپوکلریت سدیم ۵٪ به مدت ۱۵ تا ۳۰ ثانیه ضدعفونی سطحی شدند و متعاقباً نمونه‌ها سه بار با آب مقطر سترون آبشویی شدند. نمونه‌های ضدعفونی شده به تشتک‌های حاوی محیط کشت سابوراد دکستروز آگار انتقال یافتند و به مدت یک هفته در انکوباتور نگهداری شدند تا مجدداً قارچ از آن‌ها جدا شود. زیست سنجی مورد نظر با ۳ تکرار با تعداد ۱۵ لارو سن سوم سوسک کلرادو سیب‌زمینی برای هر تیمار (غلظت سوسپانسیون جدایه قارچی) انجام شد. بررسی با آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت.

فاکتورها شامل جدایه قارچ (a) و غلظت سوسپانسیون اسپور (b) بـود. مقایسه میانگین داده‌ها بوسیله آزمون چند دامنه‌ای دانکن (DMRT) در سطح ۵٪ و استفاده از نرم افزار SAS انجام شد.

بررسی اثر حشره‌کش‌ها روی رشد پرگنه: به این منظـور بـه محیط کشت سابوراد دکستروز آگار بعد از سترون کردن هنگـامی کـه دمای آن به ۵۰°C کاهش یافته بود، حشره‌کش‌های دکامترین با نـام تجاری دسیس (فرمولاسیون سوسپانسیون) و سم فن پروپاترین با نام تجاری دانیتـول (فرمولاسـیون سوسپانسـیون) اضـافه شـد. بنـابراین محیط‌های کشت حاوی سم با غلظـت۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ (پـی پـی ام) از دانیتول و ۲۵۰، ۳۵۰ و ۵۰۰ (پی پی ام) از دسیس تهیه گردید و به عنوان تیمار بکار رفتند. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. بعـد از انعقـاد محـیط‌هـای کشـت تهیـه شـده از حاشـیه پرگنـه *B. bassiana* حلقه‌های ۵ میلی‌متری بریده شد و به وسط تشتک پتری حاوی غلظت‌های مختلف سم منتقل گردید. درب تشتک‌هـای پتـری بوسیله پارافیلم با دقت بسـته شـد و در دمـای ۱°C ± ۲۵ نگهـداری شدند. در این آزمایش در تشتک‌های پتری شاهد به جـای سـم از آب مقطر سترون استفاده گردید. در نهایـت بعـد از ۱۲ روز رشـد شـعاعی پرگنه‌ها در غلظت‌های مختلف سم اندازه‌گیری و نتایج نسبت به شاهد با استفاده از نرم افزار SAS آنالیز شد.

بررسی اثر حشره‌کش‌ها بر جوانه زنی اسپور: سوسپانسـیون اسپور ۱×۱۰^{۶} کنیدیوم در میلی‌لیتر *B. bassiana* بـا غلظـت‌هـای ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ (پی پی ام) از دانیتول و ۲۵۰، ۳۵۰ و ۵۰۰ (پـی پی ام) از دسیس تهیه شد. ۰/۲ میلی‌لیتر از سوسپانسـیون مـورد نظـر روی تشتک پتری حاوی سابوراد دکستروز آگار ریخته وکاملا"با لـوپ روی محیط پخش گردید و در دمای ۱°C ± ۲۵ نگهداری شـدند. ۲۴ ساعت بعد از تلقیح، درصد جوانه زنی اسپورها با شمارش ۱۰۰ اسپور از هر تشتک پتری با استفاده از میکروسکوپ لایکا بـا بزرگنمـایی ۲۰X محاسبه شد. هر تیمار ۳ تکرار داشت. در این آزمایش در تشتک‌هـای پتری شاهد به جای سم از آب مقطر سترون استفاده شد. نتایج نسـبت به شاهد با استفاده از نرم افزار SAS آنالیز شد.

نتایج و بحث

بعد از جداسازی و خـالص سـازی جدایـه‌هـای قـارچی، براسـاس ویژگـی‌هـای مورفولـوژیکی و بـا اسـتفاده از کلیـدهای قـارچ شناسی Dehoog (1972)، Samson (1974) و Samson et al. (1988) از بین ۴۲ جدایه به دست آمده در مجمـوع ۱۲ گونـه در ۸ جـنس شـامل *Beauveria bassiana*، *Paecillium lilacinum*، *Paecilomyces sp.1*، *Paecilomyces sp.2*، *Isaria farinosa*، *Lecanicillium psalliotae* (*Verticillium psalliotae*)، *Trichoderma koningiopsis*، *T. harzianum*، *Fusarium solani*، *F. subglutinans*، *Acremonium verticillioides*، *F. strictum* شناسایی شد. بـه منظـور شناسـایی بیمـاریزاترین جدایـه، فعالیت بیماریزایی هفت جدایه شامل دو جدایـه از *B. bassiana*، دو جدایـه از *Paecilomyces* sp. و از *T. koningiopsis*، *I. farinosa*، *F. verticillioides* هر کدام یک جدایه روی سوسـک کلرادو بررسی شد.

آزمون بیماریزایی: علایم آلـودگی ابتـدا بـه صـورت لکـه‌هـای سیاهی در سطح بدن لاروها ظاهر شد، این لکه‌هـا بتـدریج گسـترش یافت و گاهی تمام سطح بدن لارو را فرا گرفت. بعد از مرگ لاروهـا، تحت شرایط مرطوب میسلیوم‌های قارچ در سطح بدن آنها رشد کـرد. دو روز بعد از تلقیح، در تیمار غلظت ۱×۱۰^{۷} کنیـدیوم در میلـی‌لیتـر *I. farinosa*، *B. bassiana* 1 و *Paecilomyces* sp. 2 اولـین لاروهای مرده مشاهده گردید. آزمون بیماریزایی ثابـت کـرد کـه ایـن جدایه‌ها همگی براساس اصول کخ برای حشرات بیماریزا هستند و در همه جدایه‌ها در صد مرگ و میر بیشتر از شاهد بود.

Kim et al. (۱۲) سعی کردند غلظت مؤثر سوسپانسـیون اسـپور *Verticillium lecanii* (*Lecanicillium muscarium*) را برای کنترل شته پنبه و مگس سفید در شرایط گلخانه تعیـین نماینـد. پس از انجام آزمایشات زیست سـنجی دریافتنـد، غلظـت $۱۰^{۴}$ تـا $۱۰^{۷}$ کنیدیوم در میلی‌لیتر کنترل نسبتاً پایینی را ایجاد می‌کننـد، ولـی پـنج روز بعد از کاربرد غلظت $۱۰^{۸}$ کنیدیوم در میلی‌لیتر کنترل نزدیـک بـه ۱۰۰ درصد مشاهده شد. در بررسی بیماری‌زایی *B. bassiana* روی بید سیب‌زمینی، افزایش غلظت سوسپانسیون باعث کـاهش معنـی دار تعداد تبدیل شفیره‌ها به حشرات بالغ شـد، بطـوری‌کـه غلظـت $۱۰^{۸} \times$ ۱۶/۵ اسپور در میلی‌لیتر باعث ۱۰۰ درصد مرگ و میـر حشـرات شـد (۱۰).

نتایج این بررسـی بـا نتـایج سـایر محققـین (۱۰ و ۱۲) مطابقـت داشت، در همه جدایه‌ها با افزایش غلظت سوسپانسیون اسپور به طـور معنی داری مرگ و میر لاروها افزایش یافـت (نمـودار ۱). جدایـه *B. bassiana* 1 در هر دو غلظت $۱۰^{۵}$ و $۱۰^{۷}$ باعث مـرگ و میـر ۱۰۰ درصد شدند، البته غلظت $۱۰^{۷}$ با سرعت بیشتری باعـث مـرگ و میـر لاروها شد (در روز هشتم سوسپانسیون اسـپور $۱۰^{۵}$ و $۱۰^{۷}$ بـه ترتیـب باعث ۹۱/۱ و ۱۰۰ درصد مرگ و میر لاروها شدند).

هر دو جدایه *B. bassiana* قدرت بیماریزایی بالایی نشان دادند و از نظر آماری در سطح اول و دوم قـرار گرفتنـد. *B. bassiana* 1 هم از نظر سرعت مرگ و میر و هم از نظر قدرت بیماریزایی در گـروه اول قرار گرفت (نمودار ۱).

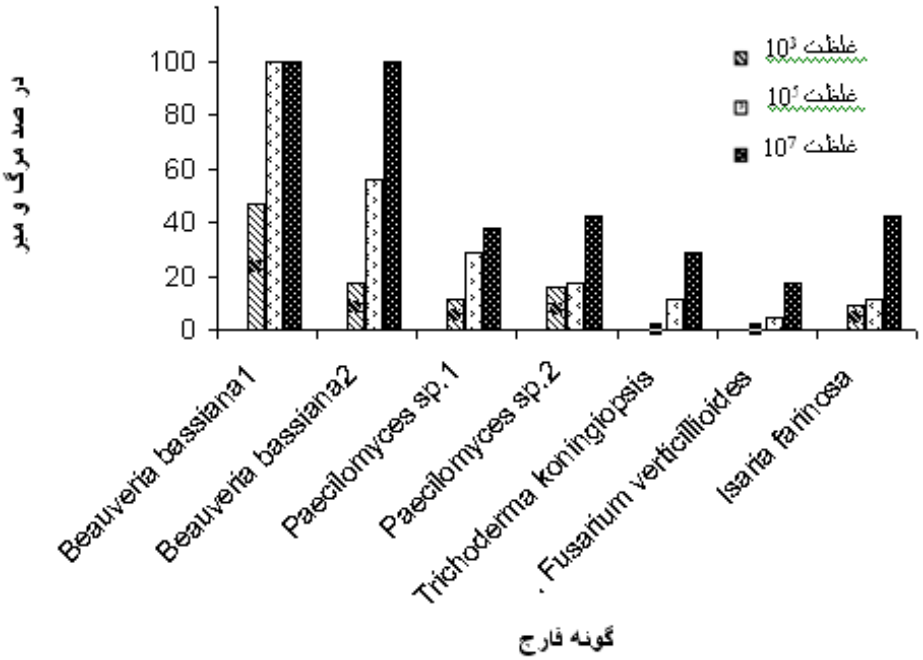
نتایج این آزمایش مشابه نتایج به دست آمده توسط (۷) بود. آنهـا اظهار داشتند چند گونه قـارچ از سوسـک کلـرادو جـدا شـد، کـه *B. bassiana* بیشترین بیماریزایی را روی این آفت نشان داد. از مزایای

این گونه این است که به راحتی روی محیط مصنوعی تکثیر شده و می‌تواند برای یک دوره نسبتاً طولانی (به خصوص زمانی که فرموله شود) در جای خنک نگهداری شود.

B. bassiana مشابه سایر هیفومیست‌های بیمارگر حشرات میزبان را از طریق کوتیکول آلوده کرده و بعد از نفوذ در سراسر بدن میزبان رشد می‌کند و باعث مرگ حشره میزبان می‌شود. میسلیوم‌های این قارچ (بعد از مرگ میزبان) تحت شرایط محیطی مناسب می‌تواند سطح بدن میزبان را پوشانده و کنیدیوم‌زایی کند. این کنیدیوم‌ها به عنوان اینوکولوم در جمعیت پخش می‌شوند، همچنین در خاک می‌توانند حشرات زمستانگذران را آلوده کنند (۷).

B. bassiana دامنه وسیعی از حشرات را آلوده می‌کند. در کاربردی بودن *B. bassiana* همین کافی است که این قارچ از گذشته تاکنون علیه دامنه وسیعی از آفات در نقاط مختلف جهان از جمله سرخرطومی سیب‌زمینی *Premnotrypes latithorax* در پرو، کرم ساقه خوار قهوه *Hypothenemus hampei* در کلمبیا، سوسک کلرادو *Leptinotarsa decemlineata* در اروپا، سرخرطومی غوزه پنبه *Anthonomus grandia* و مگس سفید *Bemisia tabaci* در ایالات متحده آمریکا، سن گندم *Eurygaster* spp. در خاورمیانه، لوپر کلم *Plutella xylostella* در مالزی، سوسک چوبخوار کاج *Monochamus alternatus* در ژاپن و کرم کاج *Dendrolimus punctatus* و کرم ساقه خوار اروپایی ذرت *Ostrinia nubilis* در چین استفاده شده است (۱۷).

اثر حشره کش‌ها روی *B. bassiana*: در این زیست‌سنجی اثر دو حشره‌کش متداول (دانیتول و دسیس) در مزارع سیب‌زمینی استان همدان روی جوانه‌زنی کنیدیوم و رشد میسلیومی دو جدایه از قارچ *B. bassiana* بررسی شد. نتایج این بررسی در جداول ۱ و ۲ نشان داده شده است.



نمودار ۱- میانگین درصد مرگ و میر لاروهای تیمار شده با قارچ‌ها در روز چهاردهم

جدول ۱- اثر حشره کش دانیتول روی رشد میسلیومی و درصد جوانه زنی اسپور *Beauveria bassiana*

B. bassiana 2		*B. bassiana* 1		
Germination %	Colony diameter (mm)	Germination %	Colony diameter (mm)	danitol
ab 97/6	23/3 a	ab 96	23 a	500 ppm
95/3 bc	22 a	94/3 bc	22 a	1000 ppm
93/3 c	21/6 a	c 92	22/6 a	1500 ppm
99/3 a	23/6 a	98 a	24/3 a	Cotrol

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال P<%5 بر مبنای آزمون چند دامنه‌ای دانکن (DMRT) می‌باشد.

جدول ۲- اثر حشره کش دسیس روی رشد میسلیومی و درصد جوانه زنی اسپور *Beauveria bassiana*

B. bassiana 2		*B. bassiana* 1		
Germination %	Colony diameter (mm)	Germination %	Colony diameter (mm)	decis
b 89	22 b	87/6 b	23/4 a	250 ppm
86/6bc	21/6 b	85/6 bc	21/6 b	350ppm
c 84/6	21 b	84 c	20/3 b	500 ppm
99/3 a	23/6 a	98 a	24/3 a	Control

میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال P<%5 بر مبنای آزمون چند دامنه دانکن (DMRT) می‌باشد.

همان‌طور که در جدول (۱) ملاحظه می‌شود، دانیتول روی رشد میسلیومی هر دو جدایه *B. bassiana* تا حدود زیادی بی اثر بود، اگر چه دانیتول باعث کاهش معنی‌دار در صد جوانه زنی اسپور هر دو جدایه *B. bassiana* شد، ولی در هر سه غلظت جوانه زنی بالای ۹۰ درصد را نشان داد. پس می‌توان در کاربرد مزرعه‌ای *B. bassiana* را همراه مقدار زیرکشنده دانیتول استفاده کرد. البته باید زمان کاربرد را طوری تنظیم نمود که حداقل اثر سوء را روی قارچ عامل بیوکنترل داشته باشد.

آزمون بیماریزایی انجام شده روی لارو سوسک کلرادو ثابت کرد، این قارچها پتانسیل بالایی در کنترل آفات دارند. بنابراین برای بررسی و شناسایی دقیق تمامی گونه‌های هیفومیست بیمارگر حشرات در کشور و پراکنش آنها در هر منطقه و توان بیماریزایی آنها روی حشرات، به ویژه در مناطق شمالی کشور باید بررسی‌های بیشتری صورت گیرد.

با توجه به پتانسیل بالای هیفومیست‌های بیمارگر حشرات در کنترل آفات و همچنین سهولت تولید انبوه آنها، پیشنهاد می‌شود جدایه‌های مناطق مختلف کشور جمع‌آوری و مورد آزمایش قرار گیرد تا از این طریق بتوان جدایه یا جدایه‌هایی را معرفی نمود که در مناطق بیشتری کارایی داشته باشند. علاوه بر این باید شرایطی فراهم گردد تا عوامل برتر به صورت تجاری تولید و عرضه شوند.

با تمامی مزایای کنترل بیولوژیکی، ناگزیر از استفاده سایر روش‌ها در کنترل حشرات مضر هستیم. بنابراین به نظر می رسد که مدیریت تلفیقی آفات بهترین و کاراترین راهکار موجود باشد، در حقیقت اندیشه بیوکنترل بایستی اندیشه و آرمانی در موازات با سایر روش‌ها لحاظ گردد. بررسی اثر شرایط محیطی و سموم شیمیایی روی هیفومیست‌های بیمارگر حشرات در شرایط مزرعه از موضوعاتی است که در کشور باید به دقت مورد مطالعه و بررسی قرار گیرد.

منابع

۱- کریمزاده ر. ۱۳۸۲. بررسی اثر پنج حشره‌کش بازدارنده سنتز کیتین روی سوسک کلرادوی سیب‌زمینی. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز.

۲- مجیدی شیلسر ف.، کمالی ک.، علی نیا ف. و ارشاد ج. ۱۳۸۲. اثر دما روی جوانه‌زنی، رشد میسلیومی و بیماریزایی قارچ *Beauveria bassiana* روی کرم ساقه‌خوار نواری برنج. مجله آفات و بیماریهای گیاهی. صفحه ۱۲۳-۱۳۸.

3- Arora K. 2004. Fungal biotechnology in agricultural, food and environmental applications. Marcel Dekker P: 82–90.

4- Butt T.M., and Copping L. 2000. Fungal biological agents. Pesticide Outlook 11: 186–191.

5- Dehoog, G. S. (1972) The genera *Beauveria*, *Isaria*, *Tritirachium* and *Acrodontium*. Studies in mycology 1: 2-14.

6- Fagade O.E., Balogun S.A., and Lomer C.J. 2004. Microbial control of caged population of *Zonocerus variegates* using *Beauveria bassiana* and *Metarhizium* sp. African Journal of Biotechnology 4: 113–116.

7- Feng M.G., Poprawski T.J., and Khachatourians G.G. 1994. Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status. Biocontrol Science and Technology 4: 3–34.

8- Goettel M.S., and Inglis G.D. 1997. Fungi: *Hyphomycetes*. Pp 213-249 in: Lacey, L.A. (ed.) Manual of Techniques in Insect Pathology. Academic Press, London, UK.

9- Goettel M.S., Hajek A.E., Siegel J.P., and Evans H.C. 2001. Safety of fungal biocontrol agents. Pp: 347–375 in: Butt, T. M., Jackson, C.W. and Magan, N. (eds). Fungi as Biocontrol Agents. CABI Publishing.

10- Hafez M., Zaki F.N., Moursy A., and Sabbour M. 2005. Biological effects of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* on the potato tuber *Phythorimaea operculella*. Journal of Pest Science 70: 158–159.
11- Hajak A.E., Soper R.S., Roberts D.W., Anderson T.E., Biever K.D., Ferro D.N., Lebrun R.A., and Storch R.H. 1987. Foliar applications of *Beauveria bassiana* for control of the Colorado potato beetle. An overview of pilot test results from the Northern United States. Can. Entomology 119: 959–974.
12- Kim J.J., Lee M.H., and Yoon C.S. 2001. Control of cotton aphid and greenhouse whitefly with a fungal pathogen. Department Agrobiology, Chonnam National University, Gwangju, 500–757.
13- Poprawski T.J., Carruthers R.I., Speese J., Vacek D.C., and Wendel L.E. 1997. Early season applications of the fungus *Beauveria bassiana* and introduction of the hemipteran predator *Perillus bioculatus* for control of Colorado potato beetle. Biological Control 10: 48–57.
14- Samson R.A. 1974. Paecilomyces and some allied Hyphomycetes. Study in mycology 6: 1-47.
15- Samson, R.A., Evans, H.C. and Latge, J.P. (1988). Atlas of Entomopatogenic Fungi. Berlin: Springer-Verlage. 120 pp.
16- Wan H. 2003. Molecular biology of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. Ruperto – Carola University of Heidelberg, German. 147 pp.
17- White J.F., Bacton C.W., Hywel-Jones N.L., and Spatafora J.W. 2003. Clavicipitalean Fungi, Evolution Biology, Chemistry, Biocontrol and Cultural Impacts. Marcel Dekker.