نشریه دانش گیاه‌پزشکی ایران
دوره ۴۴، شماره ۲، زمستان ۱۳۹۲ (ص۲۳۴-۲۲۵)

اثر محیط‌کشت‌های مختلف بر زهرآگینی کنیدی‌ها و بلاستوسپورهای قارچ *Metarhizium anisopliae* علیه مراحل مختلف نموی سن گندم، *Eurygaster integriceps*

سیامک روشندل[۱]، رضا طلایی حسنلویی[۲*]، حسن عسکری[۳]، حسین اللهیاری[۴] و رسول مرزبان[۵]
۱، ۲، ۴، دانشجوی دکتری و دانشیاران، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، ۳، ۵، دانشیار و استادیار، موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور- تهران
(تاریخ دریافت: ۹۲/۷/۹ - تاریخ تصویب: ۹۲/۱۱/۵)

چکیده

زهرآگینی کنیدی‌ها و بلاستوسپورهای تولیدی قارچ *Metarhizium anisopliae* در محیط‌کشت‌های مختلف علیه پوره‌ها و حشرات بالغ سن گندم، *Eurygaster integriceps* بررسی شد. آزمایش‌ها با آرایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. کلیه آزمون‌های تعیین زهرآگینی به روش زیست‌سنجی غوطه‌وری با غلظت‌های 10^3 تا 10^7 اسپور بر میلی‌لیتر انجام شد. نتایج نشان داد زهرآگینی بلاستوسپورها و کنیدی‌های حاصل از محیط کشت‌های مختلف با یکدیگر تفاوت معنی‌دار دارند. بیش‌ترین و کم‌ترین درصد مرگ کل با بلاستوسپورها برای پوره‌های سن دوم به ترتیب۱۰۰و۴۱/۶ درصد در محیط‌های عصاره سبوس‌برنج و عصاره سبوس‌گندم+عصاره سبوس‌برنج حاصل شد. بیش‌ترین درصد مرگ پوره‌های سن دوم به میزان۱۰۰ درصد با کنیدی‌های حاصل از محیط‌های سبوس‌گندم، تفاله جو بهنوش و آرد برنج و کم‌ترین درصد مرگ کل ۸۶/۱ درصد با کنیدی‌های حاصل از محیط ذرت به دست آمد. کم‌ترین LT_{50} ثبت شده ۲/۳روز در محیط عصاره سبوس‌گندم+مخمر روی پوره‌های سن دو بوده و بیش‌ترین LT_{50} ثبت شده ۱۰/۱روز مربوط به تیمار بلاستوسپورهای عصاره سبوس گندم+عصاره سبوس‌برنج روی پوره‌های سن پنج بوده است. کم‌ترین LT_{50} ثبت شده ۴/۷روز مربوط به کنیدی‌های محیط سبوس برنج روی پوره‌های سن دو بوده و بیش‌ترین LT_{50} ثبت شده ۱۳/۱روز از برنج کامل روی پوره‌های سن چهار بود.

واژه‌های کلیدی: زهرآگینی، بستر غذایی، *Metarhizium anisopliae*، سن گندم.

مقدمه

سن گندم *Eurygaster integriceps* Put. (Hemiptera: Scutelleridae) آفت مهمی است که در اکثر نقاط گندم‌خیز کشور باعث کاهش کمی و کیفی محصول می‌شود. استفاده غیراصولی و فراوان از حشره‌کش‌های شیمیایی علاوه بر کاهش جمعیت دشمنان طبیعی، حساسیت حشرات آفت را نیز در مقابل حشره‌کش‌ها کاهش می‌دهد و هزینه زیادی به کشاورزان تحمیل می‌نماید (Radjabi, 2000). همه ساله بالغ بر ۴۰ میلیون دلار آمریکا در کشورهای آلوده صرف کنترل شیمیایی سن گندم می‌گردد (Edgington *et al.*, 2007a). از گزینه‌های قابل تامل و بررسی برای تنظیم جمعیت این حشره، عوامل کنترل میکروبی به‌ویژه قارچ‌های بیمارگر حشرات می‌باشند. پیشرفت‌های قابل توجهی در تولید تجاری و کاربرد عوامل قارچی در دنیا حاصل شده است (Wraight *et al.*, 2001). قارچ *Metarhizium anisopliae* (Ascomycota: Clavicipitaceae) با بیش از ۲۰۰ گونه میزبان که بیشتر آن‌ها خاک‌زی هستند، امروزه در سطح وسیع برای کنترل آفات گیاهان زراعی و جنگلی استفاده می‌شود (Padmaja & Kaur, 2001; Gillott *et al.*, 2005; Khachatourians, 1986). این عوامل برای تولید انبوه و استفاده تجاری باید روی مواد در دسترس و باصرفه اقتصادی تولید شوند. در تولید انبوه قارچ‌های بیمارگر

* نویسنده مسئول: رضا طلایی حسنلویی تلفن: ۰۹۱۲۵۶۷۷۱۴۱ E-mail: rtalaei@ut.ac.ir

حشرات، نوع محیط رشد، مواد غذایی و حالت فیزیکی آن به میزان قابل توجهی بر تعداد، شکل ظاهری، پایداری، دوره بقا و زهرآگینی زادمایه‌ها تاثیر می‌گذارد (Hajek & St. Leger 1994; Wyss *et al.*, 2001; Ibrahim *et al.*, 2002; Shah *et al.*, 2005; Safavi *et al.*, 2007; Rangel *et al.*, 2008; Wu *et al.*, 2010). محیط‌کشت بایستی نه تنها اجازه رشد و تولید حداکثر اسپور را بدهد بلکه باید بر کیفیت اسپور نظیر بقا و پایداری و زهرآگینی نیز تاثیر سوء نگذارد (Bena-Molaei *et al.*, 2011b). تفاوت زهرآگینی قارچ‌های بیمارگر حشرات می‌تواند ناشی از عوامل تغذیه‌ای و شرایط محیطی غالب رشد در زمان تولید کنیدی باشد (Shah *et al.*, 2005). علیرغم این که نیازهای غذایی قارچ‌ها می‌تواند وابسته به جدایه باشد برخی محققان بیان نموده‌اند اثرات عمومی منابع کربن و نیتروژن بر شدت بیمارگری تاثیر می‌گذارد. در مواردی نادر حتی مشاهده شده است که کنیدی‌های قارچ *Beauveria bassiana* که روی اجساد حشره رشد کرده بود در مقایسه با کنیدی تولیدی روی برنج یا محیط‌کشت مصنوعی، زهرآگینی کمتری داشت (Santoro *et al.*, 2007). این موضوع در مورد قارچ *Metarhizium anisopliae* نیز گزارش شده است (Rangel *et al.*, 2004).

گزارش‌هایی وجود دارد که کنیدی‌ها یا بلاستوسپورهای حاصل از منابع غذایی مختلف، زهرآگینی متفاوتی دارند. در سامانه‌ای با نام لوبیلوزا (LUBILOSA) و کارونی (CARONI) از برنج برای تولید زادمایه قارچ *M. anisopliae* استفاده می‌گردد که برای کنترل ملخ و نوعی زنجرک درختی کارآیی زیادی نشان داده است (Jenkins *et al.*, 2007). در برزیل تاثیر محیط غذایی بر شدت بیمارگری دو جدایه قارچ *B. bassiana* روی لاروها و حشرات کامل کرم آرد (*Tenebrio molitor*) بررسی شد. جدایه‌های تیپ وحشی و جهش‌یافته روی محیط‌های طبیعی شامل سبوس‌گندم، اسکلت خارجی زنجره، کیتین‌کلوئیدی و محیط‌کشت مصنوعی SDA تولید شدند. تندش کنیدی جدایه جهش‌یافته در همه محیط‌کشت‌ها سریع‌تر بود. مرگ لاروها با کنیدی‌های حاصل از محیط SDA به ۸۰ درصد رسید اما برای سایر محیط‌ها بین ۱۵ تا ۳۵ درصد به‌دست آمد. در محیط SDA عملکرد کنیدی برای جدایه جهش‌یافته در مقایسه با جدایه تیپ وحشی، تقریباً ده برابر بیشتر بود (Rodriguez-Gomez *et al.*, 2009). محققین متعددی به تفاوت جدایه‌های قارچی در زهرآگینی و اهمیت آن برای انتخاب در کنترل میکروبیولوژیک آفات اشاره نموده‌اند. در تحقیق بنامولایی و همکاران مشخص شد که زهرآگینی کنیدی‌های قارچ *B. bassiana* EUT105 از محیط‌کشت‌های مختلف طبیعی، علیه لاروهای شب‌پره دم‌قهوه‌ای تفاوت معنی‌داری دارند (Bena-Molaei *et al.*, 2011b). بیش‌ترین بررسی‌ها در زمینه کنترل میکروبی سن گندم نیز با استفاده از قارچ *B. bassiana* صورت گرفته است (Kilic, 1976a ; Talaei-Hassanloui & Kharazi-Pakdel , 2002 ; Parker *et al.*, 2003; Moore *et al.*, 2004; Al-Izzi *et al.*, 2007; Rastegar, 2007; Jenkins *et al.*, 2007; Kivan, 2007; Skinner *et al.*, 2007; Edgington *et al.*, 2007b ; Haji Allahverdi-Pour *et al.*, 2008; Ghamari Zare, 2011; Sedighi *et al.*, 2011; Trissi *et al.*, 2012).

از آن‌جا که در زمینه بیمارگری کنیدی‌های قارچ *M. anisopliae* تولید شده روی محیط‌های غذایی طبیعی اطلاعات اندکی وجود دارد، پژوهش حاضر با هدف تعیین اثر محیط‌کشت های مختلف بر زهرآگینی کنیدی‌ها و بلاستوسپورهای جدایه *M. anisopliae* M14 علیه پوره‌ها و حشرات بالغ سن گندم انجام شد.

مواد و روش‌ها

سن‌های مورد آزمایش از آبان تا زمستان ۱۳۹۱در چند نوبت از منطقه زمستان‌گذرانی واقع در کوه‌های قره آقاج ورامین جمع‌آوری شده و برای شکستن دیاپوز و شروع تخم‌ریزی، دو ماه در سردخانه با دمای ۴ درجه سلسیوس قرار گرفتند، سپس در آزمایشگاه درون ظروف پرورش پلاستیکی شفاف به ابعاد ۵۰×۳۰×۳۰ سانتی‌متر در دمای ۲۵±۲ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی حدود ۷۰ درصد نگهداری شدند. برای تغذیه آن‌ها دانه‌های تازه گندم کف ظرف ریخته و در لوله‌های آزمایش که سر آن‌ها با پنبه استریل پوشانده شده بود آب مورد نیازشان تامین شد. تخم‌ریزی سن‌ها روی نوارهای کاغذ-

ی سفید آویزان در ظروف پرورش انجام شد و پوره‌ها در ظروف پلاستیکی به ابعاد ۲۰×۱۰ ×۱۰ سانتی‌متری پرورش یافتند. جدایه‌ی قارچ مورد استفاده، M14 *Metarhizium anisopliae* موجود در موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور بود که به منظور کشت و تولید کنیدی قارچ، از محیط‌کشت جامد (SDA) Sabouraud's Dextrose Agar و تولید بلاستوسپورها از محیط کشت مایع (PDB) Potato Dextrose Broth استفاده شد (Telecuital-Beristain *et al*., 2010). بعد از اسپورزایی قارچ، سطح محیط‌کشت جمع‌آوری و داخل لوله فالکون حاوی آب مقطر استریل ریخته شد. سوسپانسیون حاصل از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده شد و با استفاده از لام گلبول شمار، غلظت کنیدی‌ها در سوسپانسیون تعیین گردید. برای تهیه بلاستوسپورها ۲۰۰ گرم سیب‌زمینی پوست کنده را پخته و با یک لیتر آب کاملاً مخلوط کرده سپس آن را از الک ۱۰۰مش گذرانیده و عصاره در ظروف ارلن مایر به مدت ۳۰ دقیقه در فشار یک اتمسفر اتوکلاو شد. پس از سرد شدن، در شرایط استریل با کنیدی قارچ *M. anisopliae* تلقیح شده و به مدت چهار روز در ۱۸۰ دور در دقیقه روی شیکر چرخان هم زده شدند. روز چهارم عصاره از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده شد و با استفاده از لام گلبول شمار، غلظت بلاستوسپورها در سوسپانسیون تعیین گردید. برای تعیین غلظت کشنده ۵۰٪ (LC_{50}) یک آزمایش مقدماتی با بلاستوسپورها و کنیدی‌های حاصله در پنج غلظت متوالی 10^{3} تا 10^{7} اسپور بر میلی‌لیتر روی سنین مختلف پورگی و حشرات کامل اجرا شد (Bena-Molaei *et al*., 2011a).

آزمایش ۱- بررسی زهرآگینی بلاستوسپورهای حاصل از محیط‌های مختلف روی پوره‌های سنین دو، سه، چهار و پنج و حشرات کامل.

برای تهیه محیط‌کشت‌های طبیعی از روش Bena-Molaei *et al*. (2011a) با تغییراتی استفاده شد. برای تهیه بلاستوسپورها در آزمایشگاه از سبوس برنج و سبوس‌گندم (از هر کدام ۵۰گرم) استفاده و پس از ۲۴ ساعت خیساندن در یک لیتر آب از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ عبور داده و از عصاره آن‌ها استفاده شد. تفاله جو از کارخانه تولید ماالشعیر (بهنوش©)، تحویل و مقدار ۵۰ گرم آن در یک‌لیتر آب خیسانده و پس از ۲۴ ساعت از الک ۱۰۰مش گذرانده و از عصاره آن استفاده شد. میزان مخمر آبجوی مصرفی در همه تیمارها ۰/۵گرم در لیتر بود (Jenkins & Prior, 1993). بلاستوسپورهای تولید شده در محیط‌های غذایی مایع شامل: ۱) عصاره سبوس‌گندم، ۲) عصاره سبوس برنج، ۳) مایع اضافی کارخانه تولید ماالشعیر ۴) سبوس گندم + مخمرآبجوی خشک، ۵) سبوس‌برنج+مخمرآبجوی خشک، ۶) مایع اضافی کارخانه + مخمر آبجوی خشک، ۷)سبوس‌گندم+سبوس‌برنج+مخمرآبجوی خشک به‌عنوان محیط‌کشت کامل، ۸) سبوس‌گندم+سبوس برنج و ۹) سیب‌زمینی + دکستروز به عنوان محیط‌کشت استاندارد (شاهد) از نظر زهرآگینی روی پوره‌های سنین دو، سه، چهار، پنج و حشرات کامل با غلظت مشخص از روی نتیجه آزمایش مقدماتی استفاده شد.

آزمایش ۲- بررسی زهرآگینی کنیدی‌های حاصل از محیط‌های مختلف روی پوره‌های سنین دو، سه، چهار و پنج و حشرات کامل.

کنیدی‌های تولید شده در محیط‌های غذایی شامل:۱) برنج‌کامل به عنوان محیط‌کشت استاندارد ۲) سبوس‌گندم، ۳) سبوس برنج، ۴) آرد برنج، ۵) تفاله جو بهنوش، ۶) ذرت خردشده، ۷) برنج خردشده و ۸) کنیدی‌های محیط SDA (شاهد) از نظر زهرآگینی روی پوره‌های سنین دو، سه، چهار، پنج و حشرات کامل با غلظت مشخص از روی نتیجه آزمایش مقدماتی استفاده شد. در هر دو آزمایش، مرگ پوره‌ها و حشرات کامل روزانه یادداشت شد. حشرات مرده خارج و در ظروف مناسب در شرایط مرطوب قرار گرفتند تا اطمینان حاصل گردد که به‌وسیله قارچ تلف شده‌اند. آزمایش‌ها با آرایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. از هر مرحله نموی ۱۲ عدد حشره برای هر تکرار انتخاب گردید. کلیه آزمایش‌ها به روش زیست‌سنجی غوطه‌وری انجام شد و حشرات به مدت سه ثانیه در مخلوط آب و کنیدی قرار گرفتند. مرگ پوره‌ها تا دو هفته و حشرات کامل تا ۲۱ روز پس از شروع آزمایش یادداشت گردید. داده‌های مرگ با نرم‌افزار SAS تجزیه و میانگین‌ها با آزمونF-LSD مقایسه شدند (SAS Institue Inc. 2009). تلفات احتمالی در شاهد نیز

یادداشت شد. محاسبه مقادیر LC_{50} و LT_{50} به ترتیب با استفاده از نرم افزارهای Polo-PC و LDP-Line انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج آزمایش اثر بلاستوسپورها و کنیدی‌های قارچ *M. anisopliae* حاصل از محیط‌های PDB و SDA در پنج غلظت متوالی $۱۰^{۳}$ تا $۱۰^{۷}$ اسپور در میلی‌لیتر روی سنین مختلف پورگی و حشرات کامل نشان داد که پوره‌های سن دو نسبت به سایر مراحل، حساسیت بیشتری دارند. مقادیر LC_{50} بلاستوسپورها برای پوره‌های سن دو، سه، چهار، پنج و حشرات کامل به ترتیب برابر $۸/۲\times۱۰^{۴}$، $۱/۱\times۱۰^{۵}$، $۱/۵\times۱۰^{۵}$، $۱/۴\times۱۰^{۵}$ و $۴/۲\times۱۰^{۶}$ بلاستوسپور بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. مقادیر LC_{50} کنیدی‌ها برای پوره‌های سن دو، سه، چهار، پنج و حشرات کامل به ترتیب برابر $۲/۷\times۱۰^{۴}$، $۴/۵\times۱۰^{۴}$، $۱/۴\times۱۰^{۵}$، $۲/۶\times۱۰^{۵}$ و $۱/۸\times۱۰^{۶}$ کنیدی بر میلی‌لیتر تعیین شد. برای آزمایش‌های زیست‌سنجی در هر مرحله رشدی از مقادیر LC_{50} بلاستوسپور و کنیدی‌های آزمایش مقدماتی استفاده شد. بلاستوسپورهای محیط‌های مختلف مورد استفاده از نظر زهرآگینی روی پوره سن دو ($F_{8,18}$=4.1, P<0.01)، پوره سن سه ($F_{8,18}$=5.34, P<0.01)، پوره سن‌چهار ($F_{8,18}$=8.84, P<0.01)، پوره سن‌پنج ($F_{8,18}$=3.38, P<0.01) ، حشرات کامل زمستان‌گذران ($F_{8,18}$=4.72, P<0.01) و حشرات کامل تابستان‌گذران ($F_{8,18}$=18.81, P<0.01) با هم اختلاف معنی‌دار داشتند (جدول۱). کنیدی‌های محیط‌های مختلف مورد استفاده از نظر زهرآگینی روی پوره سن‌دو ($F_{7,16}$=6.28, P<0.01)، پوره سن‌سه ($F_{7,16}$=13.32, P<0.01)، پوره سن‌چهار ($F_{7,16}$ =7.38, P<0.01)، پوره سن‌پنج ($F_{7,16}$=5.21, P<0.01)، حشرات کامل زمستان‌گذران ($F_{7,16}$=3.27, P<0.05) و حشرات کامل تابستان‌گذران ($F_{7,16}$=3.86, P<0.01) با هم اختلاف معنی‌دار داشتند (جدول۲). برای بلاستوسپورها، کم‌ترین LT_{50} ثبت شده ۲/۳روز مربوط به تیمار عصاره سبوس‌گندم+مخمر روی پوره‌های سن‌دو بوده و بیش‌ترین LT_{50} ثبت شده ۱۰/۲روز، مربوط به تیمار عصاره سبوس‌گندم+ سبوس‌برنج روی پوره‌های سن پنج بوده است (جدول ۳). در مورد کنیدی‌ها، کم‌ترین LT_{50} ثبت شده، ۴/۷روز مربوط به محیط سبوس‌برنج روی پوره‌های سن دو بوده و بیش‌ترین LT_{50} ثبت شده، ۱۳/۱روز از برنج کامل روی پوره‌های سن‌چهار بوده است (جدول۴).

جدول ۱. مقایسه‌ی میانگین درصد مرگ تجمعی(±SE) مراحل مختلف نموی سن گندم ۱۴ روز پس از آلوده‌سازی با بلاستوسپورهای تولیدی قارچ *M. anisopliae* در محیط‌های مختلف غذایی

محیط غذایی / مرحله رشدی	ع.سبوس‌گندم	ع.سبوس برنج	ع. سبوس گندم+مخمر	ع. سبوس برنج+مخمر	ع. تفاله جو	ع. تفاله جو +مخمر	ع. سبوس گندم+ع. سبوس برنج+مخمر	ع. سبوس گندم+ ع. سبوس برنج	PDB (شاهد)
پوره سن ۲	۸۶/۱۱±۰/۰۲ab	۱۰۰± ۰a	۸۸/۸۹± ۰/۰۵ab	۷۷/۷۸±۰/۱۵ab	۸۶/۱۱± ۰/۰۷ab	۷۵± ۰/۰۵ab	۹۱/۶۷±۰/۰۸a	۴۱/۶۶± ۰/۰۸c	۷۵± ۰/۰۵ab
پوره سن ۳	۸۳/۳۳±۰/۰۵ab	۹۱/۶۷± ۰a	۸۶/۱۱± ۰/۱ab	۸۰/۵۵±۰/۰۷ab	۶۶/۶۷± ۰/۰۵b	۷۸/۷۸± ۰/۰۵ab	۶۶/۶۷±۰/۰۸b	۳۶/۱۱± ۰/۱c	۶۳/۸۹± ۰/۰۲b
پوره سن ۴	۸۳/۳۳ ±۰a	۵۲/۷۷± ۰/۰۲bc	۶۶/۶۷±۰/۰۵bc	۷۷/۷۷± ۰/۰۳ab	۵۸/۳۳± ۰/۰۵c	۷۲/۲۲±۰/۰۵abc	۶۶/۶۷± ۰/۰۵bc	۷۷/۷۷± ۰/۰۵ab	۷۲/۲۲±۰/۰۷abc
پوره سن ۵	۷۵± ۰/۰۵ab	۸۰/۵۵±۰/۰۲b	۷۷/۷۷± ۰/۰۲ab	۷۲/۲۲±۰/۰۲ab	۷۲/۲۲± ۰/۰۷ab	۷۵± ۰/۰۵ab	۸۰/۵۵±۰/۱۲a	۴۷/۲۲±۰/۰۵c	۸۰/۵۵±۰/۰۲a
حشرات کامل ز*	۹۶/۶۶±۰/۰۳ab	۷۷/۷۷± ۰/۰۲c	۱۰۰±۰a	۹۶/۶۶±۰/۰۳ab	۸۶/۶۷± ۰/۰۳bc	۸۶/۶۷± ۰/۰۶bc	۱۰۰±۰a	۹۳/۳۳±۰/۰۳ab	۹۳/۳۳±۰/۰۳ab
حشرات کامل ت*	۱۳/۸۸± ۲/۷۷b	۲/۷۷±۲/۷۷c	۲۷/۷± ۲/۷۷a	۲۶/۶۷±۰b	۲۷/۷± ۲/۷۷a	۲۵±۰a	۲۵±۰a	۱۶/۶۷±۰b	۲۵±۰a

ز* حشرات کامل زمستان‌گذران، ت* حشرات کامل تابستان‌گذران، میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ردیف با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند (F-LSD, P<0.05).

جدول ۲. مقایسه‌ی میانگین درصد مرگ تجمعی(±SE) مراحل مختلف نموی سن گندم ۱۴روز پس از آلوده‌سازی با کنیدی‌های تولیدی قارچ *M. anisopliae* در محیط‌های مختلف غذایی

محیط غذایی مرحله رشدی	سبوس برنج	سبوس گندم	برنج کامل	تفاله جو بهنوش	ذرت	برنج خردشده	آرد برنج	SDA (شاهد)
پوره سن ۲	ab ۹۴/۴۴± ۰/۰۳	a۱۰۰± ۰	۹۷/۲۲± ۰/۰۲ ab	a۱۰۰± ۰	c۸۶/۱۱±۰/۰۳	۹۷/۲۲± ۰/۰۲ ab	a۱۰۰± ۰	bc۹۱/۶۶± ۰
پوره سن ۳	bc۸۳/۳۳±۰/۰۵	ab۹۱/۶۷± ۰	d۶۶/۶۷±۰/۰۵	a ۹۷/۲۲± ۰/۰۳	c ۷۷/۷۷± ۰/۰۲	bc ۸۳/۳۳± ۰	bc۸۶/۱۱±۰/۰۲	a۱۰۰± ۰
پوره سن ۴	bc ۶۱/۱± ۰/۰۲	۵۲/۷۷± ۰/۰۲ bc	۵۸/۳۲± ۰/۰۸ bc	b ۷۲/۲۲± ۰/۱۱	b۶۶/۶۷±۰/۰۵	c ۴۱/۶۶± ۰/۰۹	c ۴۱/۶۶± ۰/۰۵	۹۷/۲۲± ۰/۰۳ a
پوره سن ۵	ab۸۶/۱۱±۰/۰۳	b۸۰/۵۵±۰/۰۲	c۶۶/۶۷±۰/۰۵	ab۸۶/۱۱±۰/۰۲	ab ۸۸/۸۸± ۰/۰۵	b۸۰/۵۵±۰/۰۵	bc ۷۷/۷۷± ۰/۰۲	۹۷/۲۲± ۰/۰۳ a
حشرات کامل ز*	ab۸۳/۳۳±۰/۰۵	۷۷/۷۷± ۰/۰۲ bc	c ۷۲/۲۲± ۰/۰۳	a ۸۸/۸۸± ۰/۰۲	ab۸۳/۳۳±۰	۷۷/۷۷± ۰/۰۲ bc	b۸۰/۵۵±۰/۰۳	ab۸۳/۳۳±۰
حشرات کامل ت*	c۰±۰	bc ۲/۷۷± ۲/۷۷	c۰±۰	a ۱۳/۸۸± ۲/۷۷	ab۸/۳۳±۴/۸۱	bc ۵/۵۶± ۲/۷۷	bc۲/۷۷±۲/۷۷	c۰±۰

ز* حشرات کامل زمستان‌گذران، ت* حشرات کامل تابستان‌گذران، میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ردیف با یکدیگر اختلاف معنی‌دارداند (F-LSD, P<0.05).

جدول۳. مقادیر LT_{50} بلاستوسپورهای جدایه M14 قارچ *M. anisopliae* تولید شده در محیط های مختلف غذایی روی مراحل مختلف نموی سن گندم

محیط غذایی	مرحله رشدی	LT_{50} (روز)	حد اطمینان بالا۹۵٪	حد اطمینان پایین ۹۵٪	X^2	شیب خط ± خطای معیار
	پوره سن ۲	۲/۷۱	۳/۴۴	۱/۷۸	۱/۸۲۴	۱/۷۵±۰/۲۹
	پوره سن ۳	۳/۷۵	۴/۴۵	۲/۹۳	۳/۱۵	۱/۹۷±۰/۲۵۵
عصاره سبوس گندم	پوره سن ۴	۲/۸۷	۳/۴۱	۲/۲۱	۵/۳۲۳	۲/۰۷±۰/۳۷
	پوره سن ۵	۵/۲۲	۵/۸۴	۴/۵۲	۱/۲۷۶	۳/۳۲±۰/۳۸
	حشرات کامل	۸/۸۵	۹/۳۲	۸/۳۱	۲/۴۵	۸/۶۱±۱/۱۱
	پوره سن ۲	۴/۹	۱۱/۶۵	۸/۰۵	۲/۱۵۷	۱/۷۱±۰/۲۶
	پوره سن ۳	۷/۴۲	۹/۳۴	۵/۹۹	۰/۵۱۶	۱/۲۸±۰/۲۴
عصاره سبوس برنج	پوره سن ۴*	-	-	-	-	-
	پوره سن ۵	۸/۵۴	۱۰/۵۸	۷/۱۷	۶/۷۶۲	۱/۶۸±۰/۲۸
	حشرات کامل	۹/۱	۹/۶۲	۸/۴۷	۰/۷۵۳	۷/۲±۰/۹۷
	پوره سن ۲	۲/۳۳	۳/۰۵	۱/۴۵	۴/۶۹	۱/۷۹±۰/۲۹
	پوره سن ۳	۳/۹۴	۴/۷۵	۲/۹۹	۰/۹۸۳	۱/۷۳±۰/۲۵
عصاره سبوس گندم+ مخمر	پوره سن ۴	۵/۱۹	۶/۴۳	۳/۸۱	۲/۸۳	۱/۳۸±۰/۲۶
	پوره سن ۵	۲/۷۳	۳/۳۷	۱/۹۵	۵/۴۹۲	۲/۲۷±۰/۳۴
	حشرات کامل	۹/۷۴	۱۰/۱۹	۹/۲۷	۱/۰۷۳	۹/۲۳±۱/۰۷
	پوره سن ۲	۴/۸۱	۵/۶۳	۳/۹۱	۰/۵۵	۱/۸۵±۰/۲۵
	پوره سن ۳	۴/۹۳	۵/۷۴	۴/۰۸	۴/۵۳	۱/۹۸±۰/۲۵
عصاره سبوس برنج+ مخمر	پوره سن ۴	۲/۹۸	۳/۶۸	۲/۱۶	۱/۷۸۸	۲/۰۹±۰/۲۹
	پوره سن ۵	۴/۶۳	۵/۳۴	۳/۸۵	۳/۳۶۸	۲/۳۸±۰/۳
	حشرات کامل	۹/۲۱	۹/۶۹	۸/۶۷	۴/۰۰۷	۸/۳۲±۱/۰۷
	پوره سن ۲	۶/۰۳	۶/۶۵	۵/۳۶	۳/۵۷	۳/۱۶±۰/۳۴
	پوره سن ۳	۵/۶۹	۶/۴۷	۴/۹۱	۴/۳۹	۲/۴۸±۰/۲۷
عصاره تفاله جو بهنوش	پوره سن ۴	۶/۰۷	۷/۳	۵/۰۷	۱/۰۷	۱/۹۸±۰/۳۴
	پوره سن ۵	۴/۰۲	۴/۶۲	۳/۳۸	۳/۶۸۵	۲/۸۷±۰/۴۳
	حشرات کامل	۸/۷۳	۹/۲۵	۸/۰۹	۴/۳۵۳	۷/۳۸±۰/۹۴
	پوره سن ۲	۶/۹۵	۷/۴۳	۵/۷	۱/۵۱۱	۲/۴۸±۰/۳۵
	پوره سن ۳	۴/۱۸	۵/۱۲	۳/۰۶	۲/۲۳	۱/۵۱±۰/۲۴
عصاره تفاله جو بهنوش+ مخمر	پوره سن ۴	۳/۵۷	۴/۳	۲/۶۹	۱/۳۶۹	۲/۰۸±۰/۳۴
	پوره سن ۵	۴/۴۸	۵/۱۳	۳/۷۷	۲/۱	۲/۶۱±۰/۲۷
	حشرات کامل	۹/۲۸	۹/۷۷	۸/۷۱	۲/۷۶	۷/۶۹±۰/۸۸

ادامه جدول ۳. مقادیر LT_{50} بلاستوسپورهای جدایه M14 قارچ *M. anisopliae* تولید شده در محیط های مختلف غذایی روی مراحل مختلف نموی سن گندم

	پوره سن ۲	۴/۲۴	۴/۸۴	۳/۵۷	۳/۳۶۲	۲/۴۶±۰/۲۶
	پوره سن ۳	۷/۷	۹/۶۶	۶/۲۸	۱/۶۴۵	۱/۳۴±۰/۲۴
عصاره سبوس گندم+ سبوس برنج+ مخمر	پوره سن ۴	۴/۰۹	۴/۸۸	۳/۱۸	۳/۹۲۱	۱/۹۹±۰/۲۹
	پوره سن ۵	۴/۴۹	۵/۱۴	۳/۷۸	۱۳/۰۶۸	۲/۵۸±۰/۲۹
	حشرات کامل	۸/۹۶	۹/۴۹	۸/۳۵	۵/۵۸۸	۷/۴۵±۱/۰۴
	پوره سن ۲*	-	-	-	-	-
	پوره سن ۳*	-	-	-	-	-
عصاره سبوس گندم+ سبوس برنج	پوره سن ۴	۳/۶۸	۴/۱۸	۳/۱۲	۳/۹۷۸	۳/±۰/۳۹
	پوره سن ۵	۱۰/۱۸	۱۳/۴۶	۸/۴۱	۲/۳۲۴	۱/۶±۰/۲۸
	حشرات کامل	۸/۷۲	۹/۲۶	۸/۰۷	۱/۲۶۷	۷/۲±۱/۰۱
شاهدPD	پوره سن ۲	۵/۴۳	۶/۴۶	۴/۲۷	۲/۳۳	۱/۵۱±۰/۲۴
	پوره سن ۳	۸/۹۱	۱۱/۳۹	۷/۴۵	۲/۳۴۸	۱/۵۸±۰/۲۷
	پوره سن ۴	۴/۴۴	۵/۱۹	۳/۶	۱/۴۶۹	۲/۱۷±۰/۲۸
	پوره سن ۵	۳/۷۵	۴/۳۶	۳/۰۶	۲/۷۴۶	۲/۶±۰/۳
	حشرات کامل	۹/۵۶	۱۰/۰۸	۸/۹۹	۳/۱۶۱	۷/۴۴±۰/۸۸

*میانگین مرگ با بلاستوسپورهای تولیدی محیط غذایی در این مرحله رشدی به ۵۰ درصد نرسیده است.

جدول۴. مقادیر LT_{50} کنیدی‌های جدایه M14 قارچ *M. anisopliae* تولید شده در محیط‌های مختلف غذایی روی مراحل مختلف نموی سن گندم

محیط غذایی	مرحله رشدی	LT_{50} (روز)	حد اطمینان بالا۹۵٪	حد اطمینان پایین ۹۵٪	X^2	شیب خط± خطای معیار
	پوره سن ۲	۴/۷	۵/۳۶	۳/۸۹	۲۵/۳۳	۳/۸۸ ±۰/۳۲
	پوره سن ۳	۶/۷	۷/۲۹	۶/۰۹	۴/۴۲۹	۳/۶ ±۰/۳۶
سبوس برنج	پوره سن ۴	۱۳/۲۵	۱۶/۰۳	۱۰/۳۷	۱/۱۴۵	۱/۹۶ ±۰/۳۶
	پوره سن ۵	۵/۱۹	۵/۷۸	۴/۵	۴/۷۵۱	۳/۴۵ ±۰/۳۹
	حشرات کامل	۹/۵۱	۱۰/۲۳	۸/۶۶	۷/۶۸۲	۴/۹۳ ±۰/۵۶
	پوره سن ۲	۵/۰۲	۵/۴۵	۴/۵۷	۴/۶۰۷	۴/۲ ±۰/۳۳
	پوره سن ۳	۵/۲۷	۵/۸۵	۴/۵۶	۳/۶۳۷	۳/۸۷ ±۰/۴۸
سبوس گندم	پوره سن ۴	۱۱/۹۱	۱۶/۲۴	۹/۹۲	۴/۵۱	۱/۷ ±۰/۳۲
	پوره سن ۵	۶/۲۱	۶/۸۷	۵/۵۱	۹/۸۲۱	۳/۳۵ ±۰/۳۸
	حشرات کامل	۱۰/۷	۱۱/۴۲	۹/۹۱	۴/۸۷۸	۴/۹۱ ±۰/۵۱
	پوره سن ۲	۶/۲۷	۶/۷	۵/۷۵	۲/۵۴۵	۶/۳۹ ±۰/۶۶
	پوره سن ۳	۸/۵۳	۹/۹۱	۷/۴۵	۱۰/۴۰۴	۲/۰۹ ±۰/۳۲
برنج کامل	پوره سن ۴	۱۳/۳۳	۱۷/۱	۱۱/۴۱	۱/۰۱۸	۲/۳۳ ±۰/۳۵
	پوره سن ۵	۵/۹۸	۶/۵۶	۵/۴۱	۵/۲۱	۳/۸۸ ±۰/۴
	حشرات کامل	۱۰/۳۸	۱۰/۹۵	۹/۷۵	۷/۷۲۲	۶/۴۶ ±۰/۶۲
	پوره سن ۲	۵/۲۶	۵/۶۷	۴/۸۲	۵/۶۵۸	۵/۰۲ ±۰/۴۴
	پوره سن ۳	۴/۷۸	۵/۰۹	۴/۴۵	۰/۹۱۴	۷/۴ ±۰/۶۶
تفاله جو بهنوش	پوره سن ۴	۱۱/۳۲	۱۴/۰۸	۹/۷۷	۴/۸۱۵	۲/۰۹ ±۰/۳۴
	پوره سن ۵	۵/۰۶	۵/۶۹	۴/۴۲	۴/۴۹۴	۳/۷ ±۰/۴
	حشرات کامل	۱۰/۳۱	۱۰/۸۷	۹/۷۱	۲/۹۹۱	۶/۸۷ ±۰/۷۲
	پوره سن ۲	۵/۹۹	۶/۷۹	۵/۰۹	۱۸/۵۶۴	۴/۰۹±۰/۴
	پوره سن ۳	۶/۵۹	۷/۱۷	۶/۰۱	۱۲/۸۹	۳/۷۶ ±۰/۳۹
ذرت	پوره سن ۴	۸/۱۶	۸/۸۱	۷/۵۴	۴/۲۴۲	۳/۹۷ ±۰/۳۹
	پوره سن ۵	۴/۹۵	۵/۵۴	۴/۳۲	۶/۱۱۷	۳/۰۸ ±۰/۳۱
	حشرات کامل	۱۱/۱۴	۱۱/۶۸	۱۰/۶۱	۷/۶۲	۸/۰۱ ±۰/۸۴
	پوره سن ۲	۶/۲۸	۶/۷۴	۵/۸	۱۰/۹۷	۴/۷۶ ±۰/۴
	پوره سن ۳	۵/۹۳	۶/۵	۵/۳	۱۳/۷۲	۳/۳۸ ±۰/۳۵
برنج خردشده	پوره سن ۴*	-	-	-	-	-
	پوره سن ۵	۶/۱۷	۶/۸۱	۵/۵۳	۹/۸۴۷	۳/۲۸ ±۰/۳۳
	حشرات کامل	۱۲/۱۵	۱۲/۹۱	۱۱/۳۹	۱/۸۱۵	۵/۱۱ ±۰/۵۶
	پوره سن ۲	۵/۹۲	۵/۶	۵/۹۸	۱۸/۸۸	۵/۴۶±۰/۵
	پوره سن ۳	۵/۸۹	۶/۴۳	۵/۳۴	۳/۴۰۶	۳/۴۹ ±۰/۳
آرد برنج	پوره سن ۴*	-	-	-	-	-
	پوره سن ۵	۵/۹۴	۶/۶	۵/۲۳	۳/۳۷۳	۳/۲۵ ±۰/۳۸
	حشرات کامل	۱۰/۳۴	۱۱/۱	۹/۴۶	۲/۲۲۶	۴/۵۵ ±۰/۵۴
	پوره سن ۲	۵/۱۷	۵/۶۹	۴/۵۹	۳/۲۱۵	۳/۷۱ ±۰/۳۹
	پوره سن ۳	۵/۹	۶/۴۲	۵/۳۵	۱/۵۸۷	۳/۸۸ ±۰/۳۷
شاهد SDA	پوره سن ۴	۶/۲۷	۶/۸۶	۵/۶۴	۷/۰۲۵	۳/۴۱ ±۰/۳۵
	پوره سن ۵	۴/۸۶	۵/۳۱	۴/۳۲	۷/۸۶۸	۳/۷۲ ±۰/۳۶
	حشرات کامل	۱۱/۸۶	۱۲/۴۹	۱۱/۱۹	۱۶/۳۲	۶/۰۵ ±۰/۵۴

* میانگین مرگ با کنیدی‌های حاصل از محیط غذایی در این مرحله رشدی به ۵۰ درصد نرسیده است.

از نظر زهرآگینی، بلاستوسپورهای تولیدی در محیط‌های مختلف مورد استفاده با یکدیگر تفاوت معنی‌دار داشتند ($F_{8,18}$=13.92, P<0.001)، بدین صورت که بیش‌ترین میانگین درصد مرگ تجمعی بلاستوسپورها برای پوره سن دوم به میزان ۱۰۰درصد در محیط غذایی سبوس‌برنج و ۹۱/۷ درصد در محیط سبوس‌گندم+سبوس‌برنج+مخمر و کم‌ترین، ۴۱/۷ درصد در محیط سبوس گندم+سبوس‌برنج به‌دست آمد. بیش‌ترین و کم‌ترین میانگین درصد مرگ تجمعی بلاستوسپورها برای پوره سن‌سوم به ترتیب ۹۱/۷ و ۳۶/۱ درصد در محیط‌های غذایی سبوس‌برنج و سبوس-گندم+سبوس برنج حاصل شد. بیش‌ترین و کم‌ترین میانگین درصد مرگ تجمعی بلاستوسپورها برای پوره سن‌چهارم به ترتیب ۸۳/۳ و ۵۸/۳ در محیط‌های غذایی سبوس‌گندم و تفاله جو حاصل شد. بیش‌ترین میانگین درصد مرگ تجمعی بلاستوسپورها برای پوره سن‌پنجم به ترتیب ۸۰/۵ درصد در محیط‌های غذایی سبوس‌گندم+سبوس برنج+مخمر وPDB و کم‌ترین، ۴۷/۲ درصد در محیط سبوس‌گندم+سبوس‌برنج حاصل شد. بیش‌ترین میانگین درصد مرگ تجمعی بلاستوسپورها برای حشرات کامل زمستان‌گذران به میزان ۱۰۰ درصد در محیط‌های غذایی سبوس‌گندم+مخمر و محیط‌های غذایی سبوس‌گندم +سبوس‌برنج + مخمر و کم‌ترین به میزان ۷۷/۸ درصد در محیط سبوس‌برنج به‌دست آمد. بیش‌ترین میانگین درصد مرگ تجمعی بلاستوسپورها برای حشرات کامل تابستان‌گذران در محیط‌های غذایی سبوس‌گندم+مخمر و تفاله جو بهنوش۲۷/۷ درصد و کم‌ترین به‌میزان ۲/۸ درصد در محیط غذایی سبوس‌برنج به دست آمد. از نظر زهرآگینی، کنیدی‌های تولیدی در محیط‌های مختلف مورد استفاده با یکدیگر تفاوت معنی‌دار داشتند ($F_{7,16}$=24.1, P<0.001)، به این شکل که بیش‌ترین میانگین درصدمرگ تجمعی کنیدی‌ها برای پوره سن‌دوم به میزان ۱۰۰درصد در محیط‌های غذایی سبوس‌گندم، تفاله جو و آرد برنج و کم‌ترین، ۸۶/۱ درصد در محیط غذایی ذرت حاصل شد. بیش‌ترین میانگین درصد مرگ تجمعی کنیدی‌ها برای پوره سن‌سوم به میزان۱۰۰و ۹۷/۲ درصد در محیط‌های غذایی SDA و تفاله جو و کم‌ترین، ۷۷/۸ درصد در محیط غذایی ذرت حاصل شد. بیش‌ترین میانگین درصد مرگ‌تجمعی کنیدی‌ها برای پوره سن چهارم ۹۷/۲ درصد در محیط غذایی SDA و کم‌ترین،۴۱/۷ درصد در محیط‌های غذایی آردبرنج و برنج خردشده حاصل شد. بیش‌ترین و کم‌ترین میانگین درصد مرگ تجمعی کنیدی‌ها برای پوره سن‌پنجم به ترتیب ۹۷/۲ و ۶۶/۷ درصد در محیط‌های غذایی SDA و برنج کامل به دست آمد. بیش‌ترین و کم‌ترین میانگین درصد مرگ‌تجمعی کنیدی‌ها برای حشرات کامل زمستان‌گذران به میزان ۸۸/۹ و ۷۲/۲ درصد در محیط‌های غذایی تفاله جو و برنج‌کامل حاصل شد. بیش‌ترین میانگین درصد مرگ تجمعی کنیدی‌ها برای حشرات کامل تابستان‌گذران به میزان ۱۳/۹درصد از محیط تفاله جو بوده و برای کنیدی‌های محیط‌های غذایی سبوس‌برنج، برنج‌کامل و SDA، صفر درصد مرگ ثبت شد. در این پژوهش، مشخص شد کیفیت اسپور تولیدی در محیط‌های مختلف غذایی، با در نظرگرفتن زهرآگینی روی مراحل رشدی سن گندم، تفاوت دارد. همچنین زهرآگینی بلاستوسپورها برای همه مراحل پورگی و حشرات‌کامل زمستان‌گذران بیشتر از کنیدی‌ها بود که با نتایج Trissi *et al.* (2012) و Haji . (2008) Allahverdi Pour *et al* مطابقت دارد. در گزارشی برای جدایه‌های M14، Iran715C و Iran437C قارچ *M. anisopliae* مقادیر LT_{50} روی پوره سن دو به ترتیب ۲/۲، ۳/۵ و ۳/۵ روز به دست آمده و LT_{50} کنیدی‌ها برای پوره سن پنج در جدایه‌های Iran715C و Iran437C به ترتیب ۳/۱ و ۳/۴ روز تعیین شد (Sedighi, 2011). در این بررسی کم‌ترین LT_{50} کنیدی‌ها روی پوره‌های سن دو و پنج به ترتیب ۴/۶ و ۴/۷روز از محیط‌های غذایی سبوس برنج و SDA حاصل شد. بالاتر بودن مقادیر LT_{50} ممکن است به دلیل تفاوت در زمان، شرایط و نحوه آزمایش باشد. همچنین کم‌ترین LT_{50} کنیدی‌ها با غلظت $۱/۸\times۱۰^{۶}$ کنیدی بر میلی‌لیتر روی حشرات کامل زمستان‌گذران برابر ۹/۵۱ روز از محیط سبوس‌برنج حاصل شد، در حالی که صدیقی LT_{50}، ۵/۱ روز را برای جدایه M14 با غلظت

1×10^{8} تعیین کرده بود. حساس‌ترین مراحل رشد حشره نسبت به آلودگی قارچ به‌ترتیب مراحل پورگی (سنین دو و پنج)، سپس حشرات کامل زمستان‌گذران تعیین شد که با نتایج Talaei-Hassanloui & Kharazi-Pakdel (2002) و Sedighi (2011) مطابقت دارد. دلیل احتمالی این است که طول دوره پورگی در سنین دوم و پنجم طولانی‌تر و در حدود پنج تا هفت روز می‌باشد و کنیدی‌ها زمان کافی برای ایجاد آلودگی در اختیار دارند، در حالی که دوران پورگی سنین سوم و چهارم کوتاه‌تر است و احتمال حذف کنیدی‌ها در جریان تعویض جلد وجود دارد. حساسیت حشرات کامل زمستان‌گذران به کنیدی و بلاستوسپورهای قارچ *M. anisopliae* بیشتر از حشرات کامل تابستان‌گذران بود و می‌تواند به این دلیل باشد که در طول زمستان ذخایر غذایی بیشتری مصرف کرده‌اند و سیستم دفاعی آن‌ها در مقایسه با سن‌های تابستان‌گذران ضعیف‌تر شده و زندگی در شرایط نامساعد محیطی مانند دمای پایین هوا، حساسیت آن‌ها را به عوامل بیوکنترل افزایش داده است. نتایج آزمایش ما نشان داد کم‌ترین LT_{50} بلاستوسپورها برای پوره‌های سن دوم ۲/۳ روز در محیط عصاره سبوس‌گندم+مخمر بود که در مقایسه با ۴/۷روز برای کنیدی‌های محیط سبوس‌برنج بیانگر زهرآگینی بیشتر بلاستوسپورها نسبت به کنیدی‌ها است و با نتایج Riba (1986)، Vega (1999) و Avery (2004) مطابقت دارد. دلیل این موضوع می‌تواند به‌شرح زیر باشد: مشخص شده زمان بسیارکوتاهی پس از محلول‌پاشی سفیدبالک *Bemisia argentifolli* با قارچ *Paecilomyces fumosoroseus* درصد کمی (حدود سه درصد) از بلاستوسپورها قبلاً تندش کرده بودند که نشان می‌دهد در محیط کشت مایع شرایط برای تشکیل لوله تندش فراهم بوده است. درصد تندش بلاستوسپورها دو، چهار و هشت ساعت پس از محلول‌پاشی به طور معنی‌داری بیشتر از کنیدی‌ها بود ولی پس از ۲۴ ساعت، اختلاف در داده‌های تندش دو نوع اسپور معنی‌دار نبود. تندش سریع‌تر بلاستوسپورها می‌تواند در شرایط محیطی با مطلوبیت کم‌تر، نوعی مزیت اکولوژیک برای آن‌ها در ایجاد آلودگی بیماری در میزبان باشد. کنیدی‌هایی که سریع‌تر تندش کنند قادر به آلودگی بیشتر مراحل نابالغ حشرات هستند بنابراین در حین تعویض جلد حذف نمی‌شوند (Vega, 1999). در تحقیق حاضر نیز ممکن است شروع تندش درصدی از بلاستوسپورها در حین تولید در محیط کشت مایع باشد و زهرآگینی بیشتر آن-ها در مقایسه با کنیدی‌ها شاید به همین علت باشد. گزارش‌هایی نیز وجود دارد که زهرآگینی کنیدی‌ها بیشتر از بلاستوسپورهاست (Lane *et al.*, 1991; Bell, 1975).

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به این که دوره رشد پوره‌های سن دوم پنج تا هفت روز است و در آزمایش‌های زیست‌سنجی مشخص شد مرگ این پوره‌ها حتی۲۴ ساعت پس از اسپورپاشی نیز شروع می‌شود لذا فرصت کافی برای ایجاد خسارت ندارند و راهکار کنترل بایستی برای این مرحله رشدی استوار گردد و به محض اعلام دیدبان‌های پیش‌آگاهی سن‌گندم از ظهور پوره‌های سن دوم، اسپورپاشی قارچ انجام شود. به این شکل با حذف مرحله پورگی خسارت کم‌تری به دانه‌های گندم وارد می‌شود و کنترل میکروبیولوژیک موثری فراهم می‌گردد. در مجموع به نظر می‌رسد جدایه M14 قارچ *M. anisopliae* برای کنترل میکروبی سن‌گندم می‌تواند امیدبخش باشد. بر اساس نتایج آزمایشگاهی پژوهش حاضر، پیشنهاد می-شود برای کنترل میکروبی سن گندم با قارچ *M. anisopliae*، تولید کنیدی‌ها در محیط سبوس‌گندم انجام گیرد. در صورتی که استفاده از بلاستوسپورها برای کنترل مدنظر باشد، بلاستوسپورهای تولیدی درون عصاره سبوس برنج ترجیح دارد. البته به نظر نگارندگان، پیشنهاد حاضر و نیز تیمار قارچی سن‌های آماده مهاجرت به کوه، هنوز موضوعاتی هستند که به بررسی و بحث بیشتری نیاز دارند.

سپاسگزاری

از مساعدت دانشگاه تهران در قالب طرح پژوهشی به شماره ۷۳۱۳۲۸۰۰/۶/۰۸ سپاسگزاری می‌شود. از کارکنان بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور به ویژه خانم‌ها یوسفی و کلانتری برای کمک در انجام این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود. از دکتر شهریار عسکری و مهندس

علی‌اکبر حسنی برای کمک در جمع آوری سن گندم تشکر می‌گردد.

REFERENCES

1. Al-Izzi, M. A. J., Amin, A. M. & Al-Assaid, H. S. (2007). Role of biocontrol agents in decreasing population of Sunn Pest in northern Iran. In: B. L. Parker, M. Skinner, M. EL- Bouhssini & S. G. Kumair (Eds.), *Sunn Pest management, a decade of progress*.. 1994-2004. p.265-272. ICARDA, Aleppo, Syria, Arab Society for plant protection.
2. Avery, P. B., Faull, J. & Simmonds, M. S. J. (2004). Effect of different photoperiods on the growth, infectivity and colonization of Trinidadian strains of *Paecilomyces fumosoroseus* on the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum*, using a glass slide bioassay. *Journal of Insect Science*, 4 (38), 1-10, Available online: insectscience.org/4.38.
3. Bell, J.V. (1975). Production and pathogenicity of the fungus *Spicaria rileyi* from solid and liquid media. *Journal of Invertebrate Pathology*, 26, 129-130.
4. Bena-Molaei, P., Talaei-Hassanloui, R. &, Askary, H. (2011b). Effect of culture substrates on virulence of *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Cordycipitaceae) conidia against the browntail moth, *Euproctis chrysorrhoea* (Lepidoptera: Lymantriidae), *Biocontrol Science and Technology*, 21 (5), 619-624.
5. Bena-Molaei, P., Talaei-Hassanloui, R., Askary, H. & Kharazi-Pakdel, A. (2011a). Study on potential of some solid natural substances in production of *Beauveria bassiana* (Ascomycota, Cordycipitaceae) conidia. *Journal of Entomological Society of Iran*, 30 (2), 1-15. (In Farsi).
6. Edgington, S., Moore, D., EL-Bouhssini, M. & Sayyadi, Z. (2007a). *Beauveria bassiana* for the control of Sunn Pest (*Eurygaster integriceps*) (Hemiptera: Scutelleridae) and aspects of the insect's daily activity relevant to mycoinsecticide. *Biocontrol Science and Technology*, 17 (1), 63-79.
7. Edgington, S., Moore, D., Kutuk, H., Sattar, H. & EL-Bouhssini, M. (2007b). Progress in the development of a mycoinsecticide for the biological control of Sunn Pest. In: Parker, B. L., Skinner, M., EL- Bouhssini, M. & Kumair, S. G. (Eds.), *Sunn Pest management, a decade of progress*. (pp.237-243). 1994-2004. ICARDA, Aleppo, Syria, Arab Society for plant protection.
8. Ghamari Zare, Z. (2011). *Evaluation of some media culture forBeauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin *production and their effect on the Sunn pest, Eurygaster integriceps* Put. M. Sc. dissertation. Tehran University, Iran. (In Farsi).
9. Gillot, C. (2005). *Entomology*. (3rd Ed), Saskatchewan University, Saskatoon, Canada, Springer Dordrecht, Netherlands. 834pp.
10. Hajek, A. E. & St. Leger, R. J. (1994). Interactions between fungal pathogens and insect hosts. *Annual Review of Entomology*, 39, 293–322. doi:10.1146/annurev.en.39.010194.001453.
11. Haji Allahverdi Pour, H., Ghazavi, M. & Kharazi-Pakdel, A. (2008). Comparison of the virulence of some Iranian isolates of *Beauveria bassiana* to *Eurygaster integriceps* (Hem. Scutelleridae) and production of the selected isolate. *Journal of Entomological Society of Iran*, 28 (1), 13-26.
12. Ibrahim, L., Butt, T. & Jenkinson, P. (2002). Effect of artificial culture media on germination, growth, virulence and surface properties of the enthomopathogenic Hyphomycete *Metarhizium anisopliae*. *Mycological Research*, 106, 705-715.
13. Jenkins, N. E., Ali, B. S. & Moore, D. (2007). Mass production of entomopathogenic fungi for biological control of insect pest. In: B. L. Parker, M. Skinner, M. EL- Bouhssini & S. G. Kumair (Eds.), *Sunn Pest management, a decade of progress*.1994-2004. pp.287-293 . ICARDA, Aleppo, Syria, Arab Society for plant protection.
14. Khachatourians, G. G. (1986). Production and use of biological pest control agents. *Trends in Biotechnology*, 4, 120-124.
15. Kilic, A. (1976a). *Sunn Pest (Eurygaster integriceps), in south eastern Turkey*. Wheat pest report. CENTO, Scientific programme. Pp. 15-20.
16. Kivan, M. (2007). Pathogenicity of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* var *anisopliae* (Deoteromycotina: Hyphomycetes) against Sunn Pest (*Eurygaster integriceps*) (Hemiptera: Scutelleridae). *Entomologia Generalis*, 39 (1), 36-69.
17. Lane, B. S., Trinci, A. P. J. & Gillespie, A. T. (1991). Influence of cultural conditions on the virulence of conidia and blastospores of *Beauveria bassiana* to the green leafhopper, *Nephotettix virescens*. *Mycological Research*, 95, 829-833.
18. Moore, D., Edgington, S., Kutuk, H., Sattar, H. & EL-Bouhssini, M. (2004). The development of a mycoinsecticide for the biological control of Sunn Pest. In: Proceedings of *the second international conference on Sunn Pest*, Aleppo, Syria.
19. Padmaja, V. & Kaur, G. (2001). Use of the fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill (Moniliales: Deuteromycetes) for controlling termites. *Current Science*, 81, 645-647.

20. Parker, B. L., Skinner, M., Costa, S. D., Gouli, S., Reid, W. & EL-Bouhssini, M. (2003). Entomopathogenic fungi of *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae): collection and characterization for development. *Biological Control*, 27, 260-272.
21. Radjabi, Gh. (2000). *Ecology of Cereal's Sunn Pests in Iran*, Agricultural Education Publications, Tehran, Iran. 343pp. (In Farsi).
22. Rangel, D. Braga, G. & Flint, S. D. (2004). Variations in UV-B tolerance and germination speed of *Metarhizium anisopliae* conidia produced on insects and artificial substrates. *Journal of Invertebrate Pathology*, 87, 77-83.
23. Rangel, D. E. N., Alston, D. G. & Roberts, D.W. (2008). Effects of physical and nutritional stress conditions during mycelial growth on conidial germination speed, adhesion to host cuticle, and virulence of *Metarhizium anisopliae*, an entomopathogenic fungus. *Mycological Research*, 112, 1355-1361.
24. Rastegar, Zh. (2007). *Pathogenicity study of some Beauveria bassiana isolates on Sunn Pest adults and formulation of the most effective isolate*. Ph. D. Dissertation. Islamic Azad University of Science and Research, Tehran, Iran. (In Farsi).
25. Riba, G., Keita, A., Soares, G. G. & Ferron, P. (1986). Comparative studies of *Metarhizium anisopliae* and *Tolypocladium cylindrosporum* as pathogens of mosquito larvae. *Journal of American Mosquito Control Assocciation*, 2 (4), 469-73.
26. Safavi, S. A., Shah, F. A., Pakdel, A. K., Rasoulian, G. R., Bandani, A. R. & Butt, T. M. (2007). Effect of nutrition on growth and virulence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *FEMS Microbiology Letters*, 270, 116-123.
27. Santoro, P. H., Oliveira, P. M., Moretto, T. & Alves, L. F. (2007). Interference of bioassay methods on the results of entomopathogenic fungi selection for insect control. *Pesq Agropec Bras*, 42(4), 483-489.
28. SAS Institue Inc. (2009). *User's manual*, version 9.2. SAS Institue, Cary, NC.
29. Sedighi, N. (2011). *Study on Pathogenicity of entomopathogenic fungus, Metarhizium anisopliae Sorokin on the Sunn Pest, Eurygaster integriceps* Put. (Hemiptera: Scutelleridae). M. Sc. Thesis. Shahed University, Tehran, Iran. (In Farsi).
30. Shah, F. A., Wang, C. S. & Butt, T. M. (2005). Nutrition influences growth and virulence of the insect-pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *FEMS Microbiology Letters*, 251, 259–266.
31. Skinner, M. Parker, B. L. Gouli, S. Reid, W. EL-BouhssiniM, Amir-Maafi, M. & Sayyadi, Z. (2007). Entomopathogenic fungi for Sunn Pest management, Efficacy trials in overwintering sites. In: B. L. Parker, M. Skinner, M. EL- Bouhssini & S. G. Kumair (Eds.), *Sunn Pest management, a decade of progress*.1994-2004. pp. 319-328. ICARDA, Aleppo, Syria, Arab Society for Plant Protection.
32. Talaei-Hassanloui, R. & Kharazi-Pakdel, A. (2002). Evaluation of Sunn Pest, *Eurygaster integriceps* Put. susceptibility in different developmental stages to *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. In: Proceedings of *the Second International Conference on Alternative Methods of Plant Pest and Diseases Control*. Lill, France, 4-7 Mars 2002, p. 588-591.
33. Telecuital-Beristain, S., Gonzalez, G. V., Diaz-Godinez, G. & Lovea, O. (2010). Medium selection and effect of higher oxygen concentration pulses on *Metarhizium anisopliae* var *Lepidiotum* conidial production and quality. *Mycopathologia*, 169, 367-394.
34. Trissi, A. N., El Bouhssini, M., Al Salti, M. N., Abdulhai, M. & Skinner, M. (2012). Virulence of *Beauveria bassiana* against Sunn Pest, *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae) at different time periods of application. *Journal of Entomology and Nematology*, 4 (5), 49-53.
35. Vega, F. E., Jackson, M. A. & McGuire, M. R. (1999). Germination of conidia and blastospores of *Paecilomyces fumosoroseus* on the cuticle of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Mycopathologia*, 147, 33-35.
36. Wraight, S. P., Jackson, M. A. & Kock, S. L. (2001). Production, stabilization and formulation of fungal biocontrol agents. In: T. M. Butt, C. W. Jackson & N. Magan (Eds.), *Fungi as biocontrol agents: Progress, problems and potential*, CABI publishing, Wallingford, pp. 253-287.
37. Wu, J. H., Ali, S., Huang, Z., Ren, S. X. & Cai, S. J. (2010). Media composition influences growth, Enzyme activity and virulence of the entomopathogen *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae). *Pakistan Journal of Zoology*, 42, 451-459.
38. Wyss, G. S., Charudattan, R. & DeValerio, J. T. (2001). Evaluation of agar and grain media for mass production of conidia of *Dactylaria higginsii*. *Plant Disease*, 85, 1165-1170. .