

بررسی آزمایشگاهی زهرآگینی قارچ *Metarhizium anisopliae* روی *Thrips tabaci****Orius albidipennis* (Hem.: Anthocoridae) و شکارگر آن (Thys.: Thripidae)**

حمید رضا پوریان، رضا طلایی حسنلویی* و عزیز خرازی پاکدل

گروه گیاهپزشکی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج.

*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: rtalaei@ut.ac.ir

A laboratory investigation on virulence of *Metarhizium anisopliae* on *Thrips tabaci* (Thys.: Thripidae) and its predator, *Orius albidipennis* (Hem.: Anthocoridae)**H. R. Pourian, R. Talaei-Hassanloui* and A. Kharazi-Pakdel**

Department of Plant Protection, College of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran Karaj, Iran.

*Corresponding author, E-mail: rtalaei@ut.ac.ir

چکیده

در این پژوهش ابتدا زهرآگینی سه جدایه از قارچ *Metarhizium anisopliae* (Ascomycota, Clavicipitaceae) روی لارو سن دو تریپس پیاز، *Thrips tabaci* Lindman با روش زیست‌سنجی موسوم به Thrips Entomopathogenic Bioassay System (TEBS) و با استفاده از برج پاشش به صورت مستقیم در شش غلظت 10^3 تا 10^8 کنیدی در میلی‌لیتر ارزیابی شد. جدایه‌ی *M. anisopliae* EUT118 با ایجاد بالاترین مرگ و میر کل و نیز داشتن کمترین مقدار LC_{50} (2.3×10^4 کنیدی در میلی‌لیتر) به عنوان جدایه با زهرآگینی بالا انتخاب شد. در مرحله‌ی بعدی حساسیت حشره‌ی کامل ماده و پوره‌ی سن پنج سن شکارگر *Orius albidipennis* (Reuter) به جدایه‌ی *M. anisopliae* EUT118 بدون حضور میزبان بررسی شد. بنابر نتایج حاصله، حشره‌ی کامل ماده و پوره‌ی سن پنج شکارگر از نظر حساسیت به این جدایه اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشته و میزان مرگ و میر ناشی از قارچ روی هر دو مرحله‌ی زیستی تقریباً مشابه می‌باشد. نتایج این تحقیق نشان داد که به‌طورکلی سن شکارگر *O. albidipennis* کمتر تحت تأثیر این جدایه قرار می‌گیرد. در نتیجه این دو عامل کنترل‌کننده می‌تواند با هم برای برنامه‌های کنترل بیولوژیک تریپس پیاز در گلخانه‌ها مد نظر قرار گیرد.

واژگان کلیدی: *Metarhizium anisopliae*, *Orius albidipennis*, *Thrips tabaci* کنترل بیولوژیک

Abstract

In the present study, virulence of three isolates of *Metarhizium anisopliae* (Ascomycota, Clavicipitaceae) were evaluated on the second instar larvae of the onion thrips, *Thrips tabaci* Lindman by using spray potter tower at six conidial concentrations of isolates (10^3 - 10^8 conidia/ml) with Thrips Entomopathogenic Bioassay System (TEBS) method. Causing the highest total mortality rate on thrips larvae and having the lowest LC_{50} value (2.3×10^4 conidia/ml), *M. anisopliae* EUT118 was selected as the highest virulent isolate. Afterwards, the susceptibility of female adults and 5th nymphs of *Orius albidipennis* (Reuter) was tested against this isolate of *M. anisopliae* without attendance of host. Results indicated that two stages of predator; female adults and 5th instar nymphs had similarly low susceptibilities to fungal infection. In general, our results revealed that the anthocorid predator, *O. albidipennis* was less affected by this isolate of fungus. As a result, these two biocontrol agents could be used both together in control programs of *T. tabaci* in greenhouses.

Key words: *Thrips tabaci*, *Orius albidipennis*, *Metarhizium anisopliae*, biological control

مقدمه

تریپس پیاز *Thrips tabaci* Lindman با دارا بودن بیش از ۳۰۰ گیاه میزبان در حال حاضر یکی از مهم‌ترین آفات گیاهان زراعی و گلخانه‌ای در سراسر دنیا می‌باشد (Lewis, 1997; Capinera, 2001). سرعت تولیدمثل بالا، داشتن تعداد نسل زیاد، کوتاه بودن طول هر نسل، داشتن میزبان‌های متعدد، سازگاری با نواحی اقلیمی مختلف و تعدد کاربرد حشره‌کش‌های شیمیایی جهت کنترل آفت، به‌ویژه در شرایط گلخانه‌ای، باعث توسعه‌ی مقاومت این حشره به حشره‌کش‌های پیریتروئیدی، ارگانوفسفره و کارباماته شده است (Grossman, 1994; Jensen, 2000; Martin et al., 2003; Shelton et al., 2003; Herron & James, 2005; MacIntyre-Allen et al., 2005). در راستای مدیریت این آفت، نتایج اولیه‌ی استفاده از عوامل کنترل بیولوژیک، به‌ویژه بیماری‌گرها و شکارگرها، امیدبخش نشان داده است (Ugine et al., 2005). قارچ بیماری‌گر حشرات *Metarhizium anisopliae* (Ascomycota, Clavicipitaceae) که گونه‌ای است با پراکنش جهانی، یکی از مهم‌ترین عوامل میکروبی کنترل‌کننده‌ی تریپس‌ها محسوب می‌شود (Butt et al., 2001; Copping, 2004). بیماری‌گری جدایه‌های مختلف قارچ *M. anisopliae* علاوه بر تریپس پیاز، روی تریپس غربی گل (*Frankliniella occidentalis* Pergande)، تریپس پتانسیل بالای این قارچ برای کنترل تریپس‌ها در شرایط گلخانه و مزرعه‌ای بوده است (Ekesi & Maniania, 2000; Butt et al., 2001; Azaizeh et al., 2002; Maniania et al., 2003; Ansari et al., 2007). تاکنون مطالعات زیادی در جهت کنترل تریپس پیاز با استفاده از قارچ‌های بیماری‌گر صورت گرفته است. بیماری‌گری قارچ‌های مختلف از قبیل *Neozygites parvispora*، *Beauveria bassiana*، *Verticillium lecanii*، *Entomophthora thripidium* در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه‌ای روی این حشره مورد ارزیابی قرار گرفته است که در این میان جدایه‌های قارچ *M. anisopliae* پتانسیل بیشتری نسبت به سایر گونه‌ها در جهت کنترل تریپس پیاز نشان داده است (Carl, 1975; Gillespie, 1986; Sengonca et al., 2006; Thungrabeab et al., 2006).

سن‌های شکارگر خانواده‌ی Anthocoridae از مهم‌ترین عوامل کنترل بیولوژیک آفات گلخانه‌ای می‌باشند (Van den Meiracker, 1999). گونه‌ی *Orius albidipennis* (Reuter) به عنوان

مهم‌ترین و فراوان‌ترین گونه‌ی جنس *Orius* Wolf در برخی کشورهای اروپایی، آفریقای جنوبی، خاورمیانه و آسیای مرکزی (Pericart, 1972; Fernandez & Stonedehl, 1999; Yano, 2003) و ایران (Ghadamyari, 2000; Madadi, 1999) به شمار می‌آید. این گونه در شرایط گلخانه‌ای در تمام فصول سال فعال بوده و از شکارگران مهم تریپس‌ها، کنه‌ها و شته‌ها می‌باشد.

بر اساس بررسی‌های صورت‌گرفته، قارچ *M. anisopliae* این پتانسیل را دارد که به‌عنوان حشره‌کش قارچی و یکی از اجزای اصلی در سامانه‌های مدیریت آفات (از جمله تریپس پیاز) به همراه سایر دشمنان طبیعی استفاده گردد (Pell & Vandenberg, 2002). اما بی‌خطر بودن قارچ‌های بیمارگر برای دشمنان طبیعی، موضوعی است که از نظر اکولوژیک و فیزیولوژیک باید مورد توجه قرار گیرد (Goettel *et al.*, 1995). عمده‌ی تحقیقات در رابطه با بیمارگری قارچ‌های بیمارگر روی *Heteroptera*، در مورد سن‌های گیاه‌خوار بوده (Sosa-Gomez *et al.*, 1997; Jaronski *et al.*, 1998; Reinter *et al.*, 1999; Noma & Strickler, 2000) و از نقطه‌نظر اثرات سوء این قارچ‌ها روی سن‌های شکارگر این زیراسته مطالعات محدودی انجام یافته است. از جمله‌ی این مطالعات می‌توان به بررسی اثر *B. bassiana* روی شکارگرهای مختلف، مثل *Anthocoris nemorum* (Linnaeus) (Dunkel & Jaronski, 2003) *Xylocoris flavipes* (Reuter) (Meyling & Pell, 2006) و گونه‌های جنس *Orius* Latreille و *Geocoris* Fallen (Jaronski *et al.*, 1998) و اثر *Paecilomyces fumosoroseus* روی شکارگرهای *Orius insidiosus* (Say) و *O. laevigatus* (Fieber) (Sterk *et al.*, 1995) و *Dicyphus hesperus* Knight (Alma *et al.*, 2007) اشاره نمود. پس از این که جدایه یا جدایه‌هایی از قارچ‌های بیمارگر حشرات، اثرات خوبی در کنترل حشره‌ی آفت نشان دادند، آزمایش بی‌خطر بودن این جدایه‌ها روی حشرات غیر هدف یا دشمنان طبیعی ضروری به نظر می‌رسد (Dunkel & Jaronski, 2003). با توجه به این که تاکنون مطالعات محدودی در رابطه با اثرات قارچ‌های بیمارگر حشرات روی شکارگرهای عمومی جنس *Orius* صورت گرفته و این شکارگرها نیز در کنترل بیولوژیک آفات بسیار حائز اهمیت می‌باشند، نیاز به دامنه‌ی مطالعاتی بیشتر در این زمینه وجود دارد تا در بهره‌گیری از این دشمنان طبیعی در کنترل آفات، همکنش این عوامل کنترل بیولوژیک (قارچ و شکارگر) مورد مطالعه قرارگیرد. موفقیت قارچ‌های بیمارگر حشرات در برنامه‌های کنترل آفات

تا حد زیادی بستگی به استفاده از جدایه با زهرآگینی بالا دارد و در این پژوهش، پتانسیل بیمارگری سه جدایه از قارچ *M. anisopliae* روی تریپس پیاز در شرایط آزمایشگاهی بررسی و سپس در راستای مطالعات برخورد دشمنان طبیعی با یکدیگر، به ویژه اثر قارچ روی شکارگر، حساسیت شکارگر *O. albidipennis* به جدایه‌ی منتخب ارزیابی شد تا اثرات منفی احتمالی قارچ روی شکارگر آشکار و با استفاده از نتایج حاصله بتوان به‌طور مؤثرتری از این دو عامل کنترل بیولوژیک تریپس در شرایط گلخانه بهره برد.

مواد و روش‌ها

پرورش حشرات

برای پرورش تریپس پیاز و سن *O. albidipennis*، به‌ترتیب از روش Sengonca et al. (2006) و Van den Meiracker (1999)، با اندکی تغییرات در هر دو روش، استفاده شد.

کشت قارچ و تهیه‌ی مایه‌ی تلقیح

در این آزمایش از سه جدایه‌ی EUT118، EUT119 و EUT120 از قارچ *M. anisopliae* موجود در آزمایشگاه بیوسنولوژی و بیوکنترل گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه تهران استفاده شد. قارچ، روی محیط کشت Sabouraud's Dextrose Agar با یک درصد عصاره‌ی مخمر (SDAY) در ظروف پتری پلاستیکی (۹۰ میلی‌متر) کشت و اطراف در آن‌ها با پارافیلیم بسته شد. سپس داخل انکوباتور با شرایط حرارتی 25 ± 1 درجه‌ی سلسیوس و رطوبت نسبی ۷۰-۶۰ درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار داده شد. بعد از اسپورزایی قارچ‌ها در محیط کشت (۱۸ تا ۲۱ روز بعد از کشت)، در شرایط استریل زیر هود، سطح کشت با اسکالپل خراش داده شد و داخل لوله‌ی فالكون ۵۰ میلی‌لیتری (حاوی ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل و ۰/۰۵ Tween 80 درصد) ریخته شد. مقدار ۴-۲ گرم مهره‌ی شیشه‌ای (glass bead) به لوله‌ی فالكون افزوده و به مدت پنج دقیقه روی ورتکس (vortex) قرار داده شد، و پس از رساندن حجم محلول فوق به ۵۰ میلی‌لیتر، مجدداً یک دقیقه ورتکس گردید. سوسپانسیون حاصل جهت خالص‌سازی و جدا شدن قطعات هیف و میسلیوم، از کاغذ صافی واتمن

(Whatman) شماره‌ی یک عبور داده شد. جهت تعیین غلظت کنیدی‌ها، از لام گلبول شمار (Hemocytometer (Neubauer Improved, Germany)) استفاده شد. بعد از تعیین غلظت سوسپانسیون حاصله، با رقیق کردن پی‌درپی، سایر غلظت‌های مورد نیاز تهیه گردید. در نهایت قبل از آزمون‌ها، آزمون قابلیت زیست کنیدی‌ها طبق روش (Goettel & Inglis 1997) انجام شد که در تمام موارد تقریباً بالای ۹۵ درصد بود.

اثر جدایه‌های قارچ روی تریپس پیاز و سن شکارگر

اثر قارچ‌های بیمارگر روی تریپس‌ها به روش‌های مختلفی انجام شده است؛ اما از آنجایی که مطالعاتی این چنین و نیز زیست‌سنجی حشرات ریز، به‌ویژه تریپس‌ها، به علت فرار، مرگ و میر ناشی از انتقال و ... بسیار دشوار می‌باشد، تاکنون یک روش جامع برای این نوع بررسی‌ها معرفی نشده و هر یک از روش‌ها، به عقیده‌ی محققین معایب و محاسن خاص خود را دارند (Ugin *et al.*, 2005). در این پژوهش ابتدا از سه روش Tashiro cage (Tashiro, 1967)، Microtube assay (Abe & Ikegami, 2005) و Sandwich assay (Ugin *et al.*, 2005) استفاده شد. در نهایت پس از کاربرد روش‌های فوق و مناسب نبودن آن‌ها، از جمله بالا بودن درصد فرار لاروهای تریپس از ظروف ارزیابی، روش Thrips Entomopathogenic Bioassay System (TEBS) در آزمایش طراحی و استفاده شد (Pourian *et al.*, 2008). به‌طور خلاصه، در این روش از قوطی‌های فیلم عکاسی (قطر ۳ و ارتفاع ۴ سانتی‌متر) با یک‌سری تغییرات شامل تغییر ارتفاع ظرف (حدود ۳ سانتی‌متر)، ایجاد سوراخ تهویه روی در به قطر ۱ سانتی‌متر، چسباندن توری پلی‌استر ۲۰۰ مش جهت تهویه و کشیدن یک لایه پارافیلیم روی دیواره‌ی خارجی استفاده شد. پس از آماده کردن ظروف مذکور (قطر ۳ و ارتفاع ۳ سانتی‌متر)، داخل ظروف آب آگار یک درصد ریخته و دیسک برگی خیار به قطر ۲/۵ سانتی‌متر از سطح پشتی روی آن قرار داده شد. پس از یک ساعت، یک گروه هم‌سن از لارو سن دوم (۱۵ عدد) داخل هر ظرف منتقل شد و قبل از پاشش آن‌ها، برای کاهش فعالیت در دمای یخچال (۵-۴ درجه‌ی سلسیوس) قرار داده شدند. بعد از آماده‌کردن غلظت‌ها و کالیبره کردن برج پاشش، ظروف به صورت جداگانه با غلظت‌های به‌ترتیب $۱۰^۳$ ، $۱۰^۴$ ، $۱۰^۵$ ، $۱۰^۶$ ، $۱۰^۷$ و $۱۰^۸$ اسپور در میلی‌لیتر با فشار ۰/۷ کیلوگرم

بر سانتی‌متر مربع و نازل با قطر ۰/۲۵ میلی‌متر از ارتفاع ۶۰ سانتی‌متری پاشیده شدند. پس از پاشش، اطراف در ظروف به وسیله‌ی پارافیلیم بسته شد و داخل انکوباتور در دمای 1 ± 25 درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی 5 ± 70 درصد و شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی گذاشته شدند. پس از ۲۴ ساعت، میزان مرگ و میر به صورت روزانه به مدت هفت روز ثبت شد. جمعیت شاهد با محلول Tween 80 ۰/۰۵ درصد تیمار گردید. شایان ذکر است که به علت تغذیه‌ی تریپس‌ها از دیسک‌های برگ، روز سوم پس از مایه‌کوبی، لاروهای تریپس به داخل ظروف با دیسک برگ تازه انتقال داده شدند تا منبع غذایی تازه در اختیار آن‌ها باشد. تجزیه‌ی کلیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SYSTAT 10 (SYSTAT, 2000) انجام شد. درصد مرگ و میر کل ایجاد شده برای هر یک از سه جدایی قارچ روی لارو سن دوم تریپس تا روز هفتم پس از آلودگی، محاسبه شد. به علت وجود تلفات در شاهد، درصد مرگ و میر در تیمارها به وسیله‌ی فرمول Schneider-Orelli اصلاح گردید (Püntener, 1981). به علاوه، LC_{50} نیز با نرم‌افزار آماری Polo-PC محاسبه شد (Leora Software, 1987).

در مورد سن شکارگر *O. albidipennis*، روش ارزیابی انفرادی حشرات کامل و پوره‌ی سن پنج، بر پایه‌ی روش Dunkel & Jaronski (2003) با تغییراتی در ظرف و روش ارزیابی انجام شد. حشرات کامل و پوره‌های سن پنج این شکارگر به‌عنوان مرحله‌ی هدف برای آزمون انتخاب شدند (Anonymous, 1989). برای جلوگیری از بروز رفتار هم‌خواری از روش مشابه زیست‌سنجی انفرادی یا مایه‌کوبی هر یک از افراد به‌طور جداگانه در غلظت‌های مربوطه استفاده گردید. واحد آزمون، ظروف پلاستیکی یک‌بارمصرف رایج در بازار به قطر تقریبی پنج و ارتفاع سه سانتی‌متر بود که جهت تهویه، روی درپوش سوراخی به قطر دو سانتی‌متر ایجاد و با توری پلی‌استر ۱۵۰ مش پوشانده شد. برای ایجاد بستر فعالیت شکارگر، دیسک برگ خیار به قطر ۳/۵ سانتی‌متر (روی آب آگار ۱/۵ درصد) در ظرف قرار داده شد. بعد از هم‌سن‌سازی شکارگر، آزمون در دو زمان مجزا برای هر یک از مراحل زیستی انجام گرفت. ابتدا از کلنی پرورشی، حشرات کامل دو روزه با اسپیراتور جمع‌آوری و به تعداد کافی داخل ظروف پتری ۹ سانتی‌متری به مدت یک تا دو دقیقه در دمای فریزر قرار داده شد تا بی‌حس شوند. سپس بلافاصله در زیر بینوکولر با مشاهده‌ی انتهای شکم، افراد نر از ماده جدا و به ظرف جدید

انتقال داده شدند. داخل هر ظرف، یک عدد حشره‌ی کامل ماده قرار داده شد. پس از آماده کردن سوسپانسیون قارچی و ساختن غلظت‌های مورد نظر، ظروف در زیر برج پاشش قرار داده شد و مقدار یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون با شرایط مشابه تیمار تریپس پاشیده و جهت جلوگیری از فرار احتمالی حشرات، اطراف در ظرف به‌وسیله‌ی پارافیلیم بسته شد. برای پوره‌های سن پنج نیز مشابه روش بالا عمل شد. این آزمایش برای هر دو مرحله در شش غلظت با ۴۵ تکرار و شاهد (80 Tween ۰/۰۵ درصد در آب مقطر) انجام گرفت. بعد از مایه‌کوبی، ظروف در شرایط کنترل‌شده‌ی انکوباتور (دمای 25 ± 1 درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) قرار داده شد. بیست و چهار ساعت پس از مایه‌کوبی، بازدید روزانه‌ی ظروف به مدت ۱۰ روز انجام و مرگ و میر یادداشت شد. برای تغذیه‌ی سن شکارگر در این مدت از لاروهای سن دوم تریپس هر دو روز یک‌بار استفاده شد. در ثبت تلفات روزانه، با تحریک حشرات کاملاً بی‌حرکت که در زیر بینوکولر انجام می‌گرفت، از زنده‌بودن آن‌ها در صورت حرکت دادن شاخک‌ها اطمینان حاصل می‌شد؛ و در غیر این صورت، مرده محسوب می‌شدند. برای اثبات مرگ آن‌ها توسط قارچ، این حشرات به‌طور جداگانه به ظروف پتری پنج سانتی‌متری روی کاغذ صافی مرطوب منتقل و در شرایط رطوبتی بالا نگهداری شدند تا در صورت ظهور پوشش پنبه‌ای قارچ در سطح بدن این حشرات مرده، از این پوشش قارچی اسلاید تهیه شده و با میکروسکوپ بررسی شوند.

برای مقایسه‌ی حساسیت دو مرحله‌ی زیستی و تأثیر هر یک از غلظت‌های قارچ به صورت جداگانه روی این مراحل، از آزمون غیر پارامتری Two-Sample Kolmogorov-Smirnov استفاده شد. به دلیل پایین بودن مرگ و میر، LC_{50} قابل محاسبه نبود.

نتایج

تجزیه‌ی واریانس داده‌های مربوط به بررسی زهرآگینی سه جدایه‌ی EUT119، EUT120 و EUT118 قارچ *M. anisopliae* روی لارو سن دوم تریپس پیاز نشان داد که در بین جدایه‌ها، از نظر زهرآگینی تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($F_{2,79} = 7/9$; $P < 0/002$). مقایسه‌ی میانگین‌ها

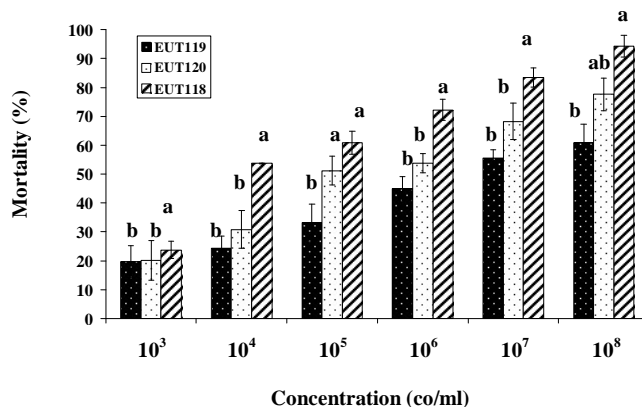
تفاوت معنی‌داری را بین جدایه‌ی EUT119 و EUT118، و جدایه‌ی EUT120 و EUT118 نشان داد (Tukey HSD؛ $P < 0/001$). جدایه‌ی EUT118 از نظر بیمارگری در سطح a و دو جدایه‌ی دیگر در سطح b گروه‌بندی توکی قرار گرفتند. مقادیر LC_{50} حاصل از تجزیه‌ی پروبیت به‌دست آمده برای این جدایه‌ها با استفاده از برنامه‌ی Polo-PC، $10^6 \times 4/1$ ، $10^5 \times 2/2$ و $10^4 \times 2/3$ کنیدی در میلی‌لیتر به ترتیب برای EUT119، EUT120 و EUT118 بود (جدول ۱). به عبارت دیگر در کاربرد غلظت مشابه از هر سه جدایه‌ی مذکور، جدایه‌ی EUT118 درصد تلفات بالاتری روی لارو تریپس ایجاد نمود (شکل ۱) و از این رو این جدایه برای بررسی حساسیت سن شکارگر انتخاب شد.

جدول ۱. نتایج تجزیه‌ی پروبیت با استفاده از برنامه‌ی Polo-PC، جهت به دست‌آوردن LC_{50} سه جدایه‌ی قارچ *M. anisopliae* روی لارو سن دو تریپس پیاز.

Table 1. Results from probit analysis for LC_{50} estimation of *M. anisopliae* isolates against the second instar larvae of the onion thrips using Polo-PC.

<i>Metarhizium</i> isolates	No.	Slope \pm SE	χ^2	df	C.I. 95%		LC_{50}	C.I. 99%	
					Lower	Upper		Lower	Upper
EUT119	360	0.224 \pm 0.047	0.4188	4	6.3×10^5	4.7×10^7	4.1×10^6	3.2×10^5	1.6×10^8
EUT120	360	0.286 \pm 0.051	1.2003	4	3.4×10^4	1×10^6	2.2×10^5	1.4×10^4	1.6×10^6
EUT118	360	0.360 \pm 0.051	2.8644	4	4.3×10^2	8×10^4	2.3×10^4	2.1×10^2	1.1×10^5

نتایج آزمون غیرپارامتری نشان داد که از نظر حساسیت مراحل زیستی سن شکارگر به جدایه‌ی EUT118 *M. anisopliae*، بین حشره‌ی کامل و پوره‌ی سن پنجم تفاوت معنی‌داری وجود ندارد (Kolmogorov-Smirnov Two Sample؛ $P = 0/134$). بنابراین نتایج حاصل، حداقل و حداکثر درصد تلفات ایجاد شده توسط جدایه‌ی EUT118 به ترتیب برابر ۸ و ۳۷ درصد برای حشره‌ی کامل و ۶ و ۲۸ درصد برای پوره‌ی سن پنجم بود (شکل ۲) که نمودار پایش ۱۰ روزه‌ی مرگ و میر ایجاد شده روی این دو مرحله از سن شکارگر با غلظت 10^4 کنیدی در میلی‌لیتر در شکل ۳ آمده است.

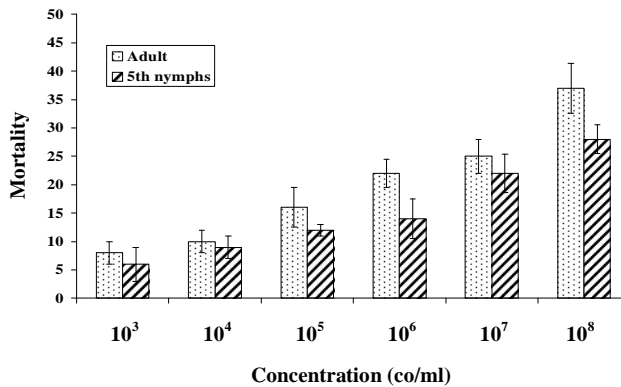


شکل ۱. میانگین درصد تلفات ایجاد شده (\pm SE) روی لارو سن دوم تریپس پیاز توسط سه جدایه‌ی EUT119، EUT120، EUT118 از فارچ *M. anisopliae* در ۶ غلظت مختلف در مدت ۷ روز. حروف غیرمشابه بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد (Tukey HSD); $(P < 0.05)$.

Fig. 1. Mean percentage mortality (\pm SE) caused by *M. anisopliae* isolates on second-instar larvae of the onion thrips at six conidial concentrations after seven days. Values with different letters are significantly different from each other (Tukey HSD, $P < 0.05$).

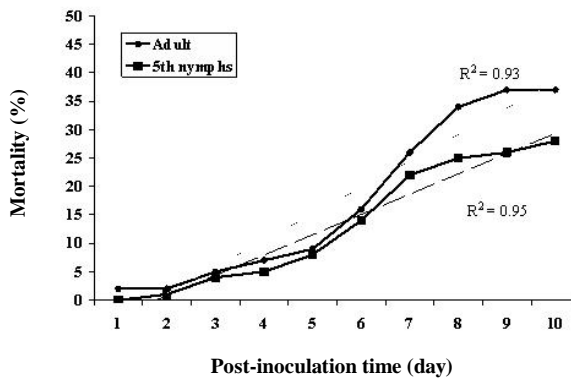
بحث

نتایج حاصل از ارزیابی سه جدایه از *M. anisopliae* نشان داد که دو جدایه تا حد مطلوبی قادر به آلوده کردن لاروهای سن دوم تریپس بوده و باعث ایجاد بیماری می‌شوند، و این تأییدی است بر مطالعات سایر محققین که اثبات کردند اکثر جدایه‌های *M. anisopliae* دارای قدرت بیمارگری بالایی روی تریپس هستند (Gillespie, 1986; Vestergaard et al., 1995; Maniania et al., 2003; Sengonca et al., 2006; Thungrabeab et al., 2006). در تحقیق حاضر مشاهده شد که در غلظت‌های مشابه از هر سه جدایه، حداقل و حداکثر درصد مرگ و میر ناشی از جدایه‌ها، به ترتیب برابر با ۲۳/۷۱ و ۹۴/۲۳ برای جدایه‌ی EUT118، ۲۰ و ۷۷/۶۰ برای جدایه‌ی EUT120، و ۱۹/۷۱ و ۶۰/۸۶ برای جدایه‌ی EUT119 بود. در بین سه جدایه، جدایه‌ی EUT118 نسبت به دو جدایه‌ی EUT120 و EUT119 بیمارگری بالاتری در جمعیت لارو تریپس



شکل ۲. میانگین درصد تلفات ایجاد شده (\pm SE) روی پورهی سن پنجم و حشرات کامل سن *O. albidipennis* توسط *M. anisopliae* EUT118 در ۶ غلظت مختلف پس از ۷ روز.

Fig. 2. Mean percentage mortality (\pm SE) caused by *M. anisopliae* EUT118 on 5th nymphs and adults of *O. albidipennis* at six conidial concentrations after seven days.



شکل ۳. نمودار نشان دهندهی مرگ و میر ایجاد شده روی حشرات کامل و پورهی سن پنجم سن شکارگر *O. albidipennis* توسط *M. anisopliae* EUT118 با غلظت ۱۰^۸ کنیدی در میلی لیتر در دورهی پایش ۱۰ روزه.

Fig. 3. Curves indicating caused mortality by *M. anisopliae* EUT118 at 10⁸ conidial concentration against 5th nymphs and adults of *O. albidipennis* during 10 days monitoring.

پیاز ایجاد کرد. جدایه‌ی V275 قارچ *M. anisopliae* که با کد EUT118 در کلکسیون قارچ‌های بیمارگر حشرات گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه تهران نگهداری می‌شود، برای اولین بار از پروانه‌ی کرم سیب، (*Cydia pomonella* (L.))، جداسازی شده و قدرت بیمارگری آن روی برخی آفات نیز مطالعه شده است (Ansari et al., 2007). نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر، که پتانسیل بالای این جدایه را در جهت کنترل تریپس پیاز نشان می‌دهد، با نتایج برخی محققین مطابقت می‌کند، به‌طوری‌که (Vestergaard et al., 1995) در مطالعه‌ی بیمارگری پنج جدایه‌ی قارچ *M. anisopliae* و پنج جدایه‌ی قارچ *V. lecanii* روی تریپس غربی گل، *F. occidentalis*، به این نتیجه رسیدند که در بین همه‌ی جدایه‌های مورد آزمایش، جدایه‌ی V275 قارچ *M. anisopliae* حداکثر زهرآگینی و تلفات را روی لارو تریپس غربی گل ایجاد کرده است. همچنین، (Ansari et al., 2007) طی مطالعات خود گزارش کردند که جدایه‌ی V275 قارچ *M. anisopliae* قادر است لارو و شفیره‌ی تریپس غربی گل را در حد بسیار مطلوبی آلوده و کنترل کند. طبق تحقیق (Skrobek et al., 2008)، جدایه‌ی V275 در شرایط *In vivo* قبل از مرگ میزبان و در اوایل فرآیند آلودگی قادر به تولید مقادیر زیادی از دستروکسین A و B می‌باشد که در افزایش زهرآگینی قارچ نقش بسزایی دارد. (Thungrabeab et al., 2006) در بررسی بیمارگری ۴۱ جدایه از چند گونه قارچ بیمارگر روی تریپس پیاز به این نتیجه رسیدند که چهار جدایه‌ی مربوط به قارچ *M. anisopliae*، مرگ و میر بالای ۶۵ درصد روی تریپس ایجاد کرده و از لحاظ بیمارگری، این جدایه‌ها را در سطح بیمارگری بالا (HPL) و سه جدایه با تلفات بین ۳۰/۹-۶۴/۵ درصد را در سطح بیمارگری متوسط (MPL) قرار دادند. در کل نتایج آن‌ها نشان‌دهنده‌ی پتانسیل بالای جدایه‌های *M. anisopliae* در ایجاد بیماری روی آفت هدف و موفقیت‌آمیز بودن کاربرد آن‌ها در جهت کنترل تریپس پیاز می‌باشد.

بر اساس برخی مطالعات صورت گرفته، اکثر جدایه‌های قارچ *M. anisopliae* با دشمنان طبیعی تریپس، به‌ویژه شکارگرها که به عنوان موجودات غیر هدف می‌باشند، سازگار می‌باشند (Goettel et al., 1995; Ekesi et al., 1998; Maniania et al., 2003). این ویژگی نیز مطلوب بودن کاربرد این قارچ را در راستای برنامه‌ی مدیریت تلفیقی تریپس‌های آفت نشان می‌دهد. در راستای مطالعات مربوط به استفاده‌ی توأم از عوامل کنترل بیولوژیک و برخوردهای احتمالی

این عوامل روی همدیگر، اثر قارچ *M. anisopliae* روی سن شکارگر *O. albidipennis* بررسی گردید. در این آزمون، خاصیت هم‌خواری بالای سن‌های شکارگر Anthocoridae، به‌ویژه شکارگر *O. albidipennis* در مطالعه‌ی آزمایشگاهی باعث شد که روش خاصی اتخاذ گردد. بدین صورت که هم حشرات کامل و هم پوره‌های سن پنج به صورت انفرادی مایه‌کوبی شده و به مدت ۱۰ روز میزان آلودگی بررسی شد. نتایج مربوط به پاشش مستقیم با غلظت‌های 10^3 تا 10^6 کنیدی در میلی‌لیتر بیانگر این بود که هر دو مرحله‌ی زیستی شکارگر به یک میزان به قارچ حساسیت نشان می‌دهند و بین دو مرحله از این نظر تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. با مقایسه‌ی زهرآگینی جدایه‌ی مورد نظر روی شکارگر و لارو تریپس این نتیجه حاصل شد که شکارگر نسبت به این جدایه دارای یک مقاومت نسبی می‌باشد و تقریباً در غلظت‌های بالا، تحت تأثیر قرار می‌گیرد. سایر مطالعات انجام شده در زمینه‌ی بررسی اثر قارچ‌های بیمارگر حشرات روی سن‌های شکارگر نیز بیانگر آلودگی کم یا عدم آلودگی سن‌های Anthocoridae به قارچ‌های بیمارگر می‌باشد، به‌طوری‌که (Jaronski et al. 1998) در ارزیابی مزرعه‌ای جدایه‌ی GH A قارچ *B. bassiana* علیه حشرات غیر هدف در مزرعه‌ی پنبه با کاربرد غلظت $10^{13} \times 1/5$ اسپور در هکتار، مشاهده کردند که این قارچ اثر سوئی روی گونه‌های جنس *Orius*، *Nabis* و *Geocoris*، و نیز برخی موجودات غیر هدف دیگر نداشت و شکارگرها عاری از آلودگی قارچی بودند. (Dunkel & Jaronski 2003) در بررسی بیمارگری قارچ *B. bassiana* روی شکارگر *X. flavipes* به این نتیجه رسیدند که جدایه‌ی GH A قارچ مذکور در غلظت $10^{13} \times 2/5$ اسپور در هکتار (غلظت توصیه‌شده برای ملخ‌های بومی) اثرات بسیار کمی روی شکارگر ایجاد می‌کند. در این غلظت، جمعیت ملخ‌های *Melanoplus sanguinipes* (Fabricius) ۵۰ درصد کاهش پیدا کرد، در حالی که جهت ایجاد این نرخ مرگ و میر توسط قارچ در جمعیت شکارگر به نسبتی حدود ۱۵۵ برابر غلظت توصیه‌شده‌ی مزرعه‌ای از جدایه‌ی GH A نیاز بود. در نتیجه، این محققین بیان کردند که جدایه‌ی GH A قارچ *B. bassiana* در برنامه‌ی کنترل بیولوژیک ملخ‌های بومی در آمریکا، اثر منفی روی شکارگر *X. flavipes* ندارد و این دو دشمن طبیعی می‌توانند با اثر افزایشی در کنار هم جهت کنترل ملخ‌ها به کار برده شوند. در مطالعه‌ی برهم‌کنش بین شکارگر عمومی *D. hesperus* و قارچ بیمارگر *P. fumosoroseus* روی سفیدبالک

گلخانه، *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood)، در شرایط گلخانه‌ای، مشاهده شد که این قارچ حدود ۶۶-۵۵ درصد پوره‌های آفت را از بین می‌برد و تراکم جمعیت سفیدبالک گلخانه را با سه بار پاشش با غلظت توصیه‌شده (۲/۱ گرم در لیتر) به خوبی کاهش می‌دهد. این در حالی است که هیچ تأثیر سوئی روی شکارگر *D. hesperus* ایجاد نشد. به عبارت دیگر، می‌توان این دو عامل کنترل بیولوژیک را جهت کنترل سفیدبالک گلخانه با اثر سینرژیستی به کار برد (Alma et al., 2007).

بر اساس مطالعات مربوط به گونه‌های مختلف از زیرراسته‌ی Heteroptera، میزان آلودگی گونه‌های گیاه‌خوار و شکارگر به قارچ متفاوت بوده است. سن‌های گیاه‌خوار *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) و *L. hesperus* (Knight) از خانواده‌ی Miridae در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه‌ای نسبت به جدایه‌ی GHQ قارچ *B. bassiana* در غلظت $10^{13} \times 5$ اسپور در هکتار حساسیت بالایی نشان دادند (Steinkraus & Tugwell, 1997; Noma & Strickler, 2000)؛ ولی Sosa-Gomez et al. (1997) مشاهده کردند که سن *Nezara viridula* (L.) از خانواده‌ی Pentatomidae در برابر آلودگی جدایه‌های قارچ *B. bassiana* و *M. anisopliae* خیلی مقاوم می‌باشد و این مقاومت به نظر می‌رسد به وجود ترکیبات ضد قارچی موجود در بخش مومی یا لیپیدی کوتیکول این حشرات برگردد. چنین مکانیسمی ممکن است در سن‌های Anthocoridae نیز وجود داشته باشد که باعث کاهش اثر قارچ‌ها می‌شود.

به طور کلی، آزمون آزمایشگاهی حشرات کامل و پوره‌های *O. albidipennis* با جدایه‌ی *M. anisopliae* EUT118 بیانگر تحمل نسبی این شکارگر به قارچ می‌باشد. روش مورد استفاده در این آزمایش با مطالعات سایر محققین تفاوت داشت. در این مطالعه از روش پاشش مستقیم سوسپانسیون روی شکارگر استفاده شد، درحالی‌که آزمایش‌های قبلی به روش غیرمستقیم شکارگر را در معرض قارچ قرار می‌دادند. چون دریافت تعداد کینیدی قارچ توسط شکارگر فوق در پاشش مستقیم بیشتر از حالت غیرمستقیم می‌باشد، این موضوع منجر به ایجاد آلودگی بیشتر روی این شکارگر می‌شود. همچنین شرایط کاربرد قارچ در این پژوهش (آزمایشگاهی) با آزمایش‌های مزرعه‌ای علیه شکارگرهای Anthocoridae متفاوت می‌باشد. احتمالاً کاربرد قارچ در شرایط مزرعه‌ای به دلیل اثر شرایط محیطی روی اسپورها باعث کاهش زهرآگینی قارچ

روی شکارگرها و افزایش LC₅₀ شکارگر در مزرعه می‌گردد. لذا مطالعات بیشتر جهت بررسی فیزیولوژیک مقاومت به قارچ در شکارگرهای Anthocoridae در مقایسه با آفت هدف و بررسی اکولوژیک آن در مزرعه با کاربرد گونه‌های مختلف قارچ‌های بیمارگر حشرات ضروری به نظر می‌رسد تا در صورت تأیید شدن نتایج آزمایشگاهی حاضر و مثبت بودن مقاومت نسبی سن شکارگر، با اطمینان بیشتری از این شکارگر و قارچ در برنامه‌های کنترل تریپس پیاز در گلخانه و مزرعه استفاده نمود. همچنین تحقیقات در راستای توسعه‌ی کاربرد این جدایه و افزایش کارایی آن مثل تهیه‌ی فرآورده‌هایی از این جدایه ضروری است.

سپاس‌گزاری

بدین‌وسیله از حمایت‌های مالی دانشگاه تهران و قطب علمی کنترل بیولوژیک آفات و بیماری‌های گیاهی برای انجام این پژوهش که قسمتی از پایان‌نامه‌ی نویسنده‌ی اول می‌باشد، صمیمانه سپاس‌گزاری می‌شود. جدایه‌ی EUT118 از طریق دکتر سیدعلی صفوی از آزمایشگاه دکتر Tariq Butt و جدایه‌ی EUT119 توسط دکتر حسن عسکری فراهم شده است که بدین‌وسیله قدردانی می‌گردد.

منابع

- Abe, M. & Ikegami, T.** (2005) Susceptibility of five species of thrips to different strains of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*. *Applied Entomology and Zoology* 40, 667-674.
- Alma, R. C., Goettel, M. S., Roitberg, B. D. & Gillespie, D. R.** (2007) Combined affects of the entomopathogenic fungus, *Paecilomyces fumosoroseus* Apopka-97 and the generalist predator, *Dicyphus hesperus*, on whitefly populations. *Biocontrol* 25, 669-681.
- Anonymous** (1989) *Microbial pesticide testing guidelines*. 196 pp. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Pesticide and Toxic Substances.
- Ansari, M. A., Shah, F. A., Whittaker, M., Prasad, M. & Butt, T. M.** (2007) Control of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* pupae with *Metarhizium anisopliae* in peat and peat alternative growing media. *Biological Control* 40, 293-297.

- Azaizeh, H., Gindin, G., Said, O. & Barash, I.** (2002) Biological control of the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* in cucumber using the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Phytoparasitica* 30, 1-7.
- Butt, T. M., Jackson, C. & Magan, N.** (2001) Introduced-fungal biocontrol agent: progress, problems and potential. pp. 1-8 in Butt, T. M., Jackson, C. & Magan, N. (Eds) *Fungi as Biocontrol Agent*. 390 pp. CABI International, UK.
- Capinera, J. L.** (2001) *Hand book of vegetable pests*. 1st ed. 729 pp. Academic Press.
- Carl, K. P.** (1975) An *Entomophthora* sp. [Entomophthorales: Entomophthoraceae] pathogenic to *Thrips* spp. [Thysanoptera: Thripidae] and its potential as a biological control in glasshouse. *Entomophaga* 20, 381-388.
- Copping, L. G.** (2004) *The manual of biocontrol agents*. British Crop Protection Council, UK.
- Dunkel, F. V. & Jaronski, S. T.** (2003) Development of a bioassay system for the predator, *Xylocoris flavipes* (Hem.: Anthocoridae) and its use in subchronic toxicity/pathogenicity studies of *Beauveria bassiana* strain GHA. *Biological and Microbial Control* 96, 1049-1053.
- Ekesi, S. & Maniania, N. K.** (2000) Susceptibility of *Megalurothrips sjostedti* developmental stages to *Metarhizium anisopliae* and the effects of infection on feeding adult fecundity, egg fertility and longevity. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 94, 229-236.
- Ekesi, S., Maniania, N. K., Ampong-Nyako, K. & Onu, I.** (1998) Potential of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin for control of the legume flower thrips, *Megalurothrips sjostedti* (Trybom) on cowpea in Kenya. *Crop Protection* 17, 661-668.
- Fernandez, L. M. & Stonedehl, G. M.** (1999) A review of economically important species of genus *Orius* (Heteroptera: Anthocoridae) in East Africa. *Journal of Natural History* 33, 543-568.
- Ghadamyari, M.** (2000) Evaluation of several diets on rearing of *Orius albidipennis* Reut. and laboratory studies on side-effects of three pesticides on it. M. Sc. Thesis. College of Agriculture, University of Tehran, Iran. [In Persian with English Summary].
- Gillespie, A. T.** (1986) The potential of entomogenous fungi as control agents for onion thrips, *Thrips tabaci*. *Proceedings of Brighton Crop Protection Conference*, pp. 237-243.

- Goettel, M. S. & Inglis, G. D.** (1997) Fungi: Hyphomycetes. pp. 213-249 in Lacey, L. A. (Ed.) *Manual of techniques in insect pathology*. 409 pp. Academic Press, San Diego.
- Goettel, M. S., Johnson, D. L. & Inglis, G. D.** (1995) The role of fungi in the biological control of grasshoppers. *Canadian Journal of Botany* 73, 1-75.
- Grossman, J.** (1994) Onion thrips. *IPM Practitioner* 16, 12-13.
- Herron, G. A. & James, T. M.** (2005) Monitoring insecticide in Australian *Frankliniella occidentalis* Pergande (Thysanoptera: Thripidae) detects fipronil and spinosad resistance. *Australian Journal of Entomology* 44, 299-303.
- Jaronski, S., Lord, J., Rosinska, J., Bradley, C., Hoelmer, K., Simmons, G., Osterlind, R., Brown, C., Staten, R. & Antilla, L.** (1998) Effect of *Beauveria bassiana*-based mycoinsecticide on beneficial insects under field conditions. *Brighton Conference on Plant Pests and Diseases*, pp. 651-656.
- Jensen, S. E.** (2000) Insecticide resistance in the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Integrated Pest Management Reviews* 5, 131-146.
- Leora Software** (1987) *POLO-PC a user's guide to probit or logit analysis*. Leora Software, Berkeley, CA.
- Lewis, T.** (1997) *Thrips as crop pests*. 740 pp. CAB International, United Kingdom.
- MacIntyre-Allen, J. K., Scott-Dupree, C. D., Tolman, J. H. & Horris, C. R.** (2005) Resistance of *Thrips tabaci* to pyrethroid and organophosphorus insecticides in Ontario, Canada. *Pest Management Sciences* 61, 809-815.
- Madadi, H.** (1999) Investigation on identification the species of genus *Orius* Wolf (Het.: Anthocoridae) in cucumber fields in Karaj and possibility of mass rearing of predatory conditions. M. Sc. Thesis. College of Agriculture, University of Tehran, Iran. [In Persian with English Summary].
- Maniania, N. K., Ekesi, S., Lohr, B. & Mangi, F.** (2003). Prospects for biological control of the flower thrips, *Frankliniella occidentalis*, with the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae*, on chrysanthemum. *Mycopathologia* 155, 229-235
- Martin, N. A., Workman, P. J. & Butler, R. C.** (2003) Insecticide resistance in onion thrips (*Thrips tabaci*) (Thysanoptera: Thripidae). *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 31, 99-106.
- Meyling, N. V. & Pell, J. K.** (2006) Detection and avoidance an entomopathogenic fungus by a generalist insect predator. *Ecological Entomology* 31, 162-171.

- Noma, T. & Strickler, K.** (2000) Effects of *Beauveria bassiana* on *Lygus hesperus* (Hemiptera: Miridae) feeding and oviposition. *Biological Control* 29, 395-402.
- Pell, J. K. & Vandenberg, J. D.** (2002) Interaction among aphid *Diuraphis noxia*, the entomopathogenic fungus *Paecilomyces fumosoroseus* and the coccinellid *Hippodamia convergens*. *Biocontrol Science and Technology* 12, 217-224.
- Pericart, J.** (1972) *Hémiptères. Anthocoridae, Cimicidae et Microphysidae de l'Ouest-Paléarctique*. 402 pp. Masson et Cie., Paris.
- Pourian, H. R., Ezzati-Tabrizi, R. & Talaei-Hassanloui, R.** (2008) An improved cage system for the bioassay of *Metarhizium anisopliae* on *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae). *Biocontrol Science and Technology* 18, 745-752.
- Püntener, W.** (1981) *Manual for field trials in plant protection*. 2nd ed. 205 pp. Agricultural Division, Ciba-Geigy Limited.
- Reinter, J. A., Knauf, T. A., Maranz, S. J. & Bishr, M.** (1999) Effect of *Beauveria bassiana* fungus on the boxelder and red shouldered bugs (Hemiptera: Anthocoridae). *Flower Entomology* 82, 469-474.
- Sengonca, C., Thungrabeab, M. & Blaeser, P.** (2006) Potential of different isolates of entomopathogenic fungi from Thailand as biological control agents against western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae). *Journal of Plant Diseases and Protection* 113, 74-80.
- Shelton, A. M., Nault, B. A., Plate, J. & Zhao, J. Z.** (2003) Regional and temporal variation in susceptibility to λ -cyhalothrin in onion thrips, *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae) in onion field in New York. *Journal of Economic Entomology* 96, 1843-1848.
- Skrobek, A., Shan, F. A. & Butt, T. M.** (2008) Destruxin production by the entomogenous fungus *Metarhizium anisopliae* in insects and factors influencing their degradation. *Biocontrol* 53, 361-373
- Sosa-Gomez, D. R., Boucias, D. & Nation, J.** (1997) Attachment of *Metarhizium anisopliae* to southern green stink bug, *Nezara viridula*, cuticle and fungistatic effect of cuticular lipids aldehydes. *Journal of Invertebrate Pathology* 69, 31-39.
- Steinkraus, D. C. & Tugwell, N. P.** (1997) *Beauveria bassiana* effects on *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Anthocoridae). *Journal of Entomological Science* 32, 79-80.
- Sterk, G., Blockmans, K., Van de Veire, M., Seles, B. & Stepman, W.** (1995) Side-effects of the microbial insecticide *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown and Smith,

- strain Apopka 97 on different species of beneficial arthropods. *University of Gent Proceedings* 60, 719-723.
- SYSTAT** (2000) *SYSTAT Version 10*. Chicago, IL: SPSS Science Marketing Department SPSS Inc.
- Tashiro, H.** (1967) Self-watering acrylic cages for confusing insects and mites on detached leaves. *Journal of Economic Entomology* 60, 354-356.
- Thungrabeab, M., Blaeser, P. & Sengonca, C.** (2006) Effect of temperature and host plant on the efficacy of different entomopathogenic fungi from Thailand against *Frankliniella occidentalis* (Pergande) and *Thrips tabaci* Lindeman (Thysanoptera: Thripidae) in the laboratory. *Journal of Plant Disease and Protection* 113, 181-187.
- Ugine, T. A., Wraight, S. P., Brownbridge, M. & Sanderson, J. P.** (2005) Development of a novel bioassay for estimation of median lethal concentration (LC₅₀) and doses (LD50) of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* against western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Journal of Invertebrate Pathology* 89, 210-218.
- Van den Meiracker, R. A. F.** (1999) Biocontrol of western flower thrips by heteropteran bug. Ph. D. Thesis. University of Amsterdam, The Netherlands.
- Vestergaard, S., Gillespie, A. M., Butt, T. M., Schreiter, G. & Eilenberg, J.** (1995) Pathogenicity of the hyphomycetes fungi *Verticillium lecanii* and *Metarhizium anisopliae* to the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Biocontrol Science and Technology* 5, 185-192.
- Yano, E.** (2003) Augmentation of natural enemies for pest control in protected culture. *Pesticide Outlook* 14, 247-250.