DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijfrpr.2011.106188

دو فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات حمایت و حفاظت جنگلها و مراتع ایران
جلد ۹ شمارهٔ ۱، صفحهٔ ۱۳-۱، (۱۳۹۰)

بررسی بیمارگری جدایه‌های مختلف *Beauveria bassiana* و *Isaria farinosae* روی لارو سن چهار پروانه‌ی برگ‌خوار سفید اشجار *Hyphantria cunea* (Lep.: Arctiidae)

مریم عجم حسنی[1*]، جلال جلالی سندی[2]، محمدجعفر فارسی[3] و احمد محرابی[4]

۱*- نویسنده مسئول، دانشجوی دکتری حشره‌شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان، رشت، ص. پ. ۱۳۱٤-٤۱٦۳۵
پست الکترونیک: shahroodm@yahoo.com
۲- دانشیار، گروه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان، رشت، ص. پ. ۱۳۱٤-٤۱٦۳۵
۳- استادیار پژوهش، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران، ص. پ. ۱۱٦-۱۳۱۸۵
٤- کارشناس گیاهپزشکی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران، ص. پ. ۱۱٦-۱۳۱۸۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۲/۰۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰٦/۲۲

چکیده

کرم تارتن پاییزه یا پروانه‌ی برگ‌خوار سفید اشجار یکی از آفات مهم درختان جنگلی می‌باشد. خسارت ناشی از لاروهای این آفت که گاه منجر به بی‌برگی کامل درختان می‌شود، ضرورت اقدامی جدی را در زمینه کنترل آن ایجاب می‌کند. این تحقیق با هدف بررسی بیمارگری ٤ جدایه از قارچ *Beauveria bassiana* و یک جدایه از قارچ *Isaria farinosae* روی لاروهای سن ٤ پروانه سفید اشجار انجام‌شد. آزمایش زیست‌سنجی با ۵ تیمار قارچی (فاکتور اول) و ۵ غلظت (فاکتور دوم) به همراه شاهد (آب مقطر) با ٤ تکرار و در هر تکرار ۱۰ عدد لارو سن ٤ در طرح پایه کاملا تصادفی انجام‌شد. لاروها به روش Topical با قارچ آلوده‌شدند. لاروهای شاهد با آب مقطر حاوی ۰/۰۳ درصد Tween-۸۰، تیمارشدند. نتایج نشان‌داد که جدایه فشند از *B. bassiana* با ایجاد تلفات ۳۹ درصد بیشترین و جدایه 1872c از *I. farinosae* با ۳۰/۸۲ درصد مرگ و میر در رده بعدی قرارداشت. این دو ایزوله در غلظت 10^8 به‌ترتیب ۷۲/۵ و ٦۷/۵ درصد تلفات را ایجاد کردند. LD_{50s} محاسبه‌شده برای دو جدایه فوق به‌ترتیب $0/2\times10^3$ و $9/5\times10^5$ کنیدی در میلی‌لیتر بود. حساسیت لاروهای سنین دوم، سوم و پنجم به جدایه فشند به‌عنوان بیمارگرترین جدایه، در یک آزمایش جداگانه بررسی‌شد. حساسیت لاروهای سنین مختلف به جدایه فشند متفاوت بود.به‌طوری که لاروهای سنین دوم و سوم به ترتیب ۵۷ و ۵۱ درصد تلفات را نشان دادند در حالی‌که لاروهای سن پنجم ۲۹ درصد تلفات داشتند.

واژه‌های کلیدی: پروانه‌ی برگ‌خوار سفید اشجار، زیست‌سنجی، قارچ‌های بیمارگر

مقدمه

پروانه‌ی برگ‌خوار سفید اشجار *Hyphantria cunea* (Drury) یکی از مهمترین آفات درختان مثمر و غیر مثمر، بوته‌ها و علف‌های هرز است که در دنیا ٦۳٦ میزبان گیاهی برای آن شناخته شده‌است. پروانه‌ی سفید اشجار در گذشته آفت قرنطینه خارجی محسوب می‌شد، اما اولین

بار در سال ۱۳۸۱ از استان گیلان گزارش‌شد (رضایی، ۱۳۸۳). این آفت در دو منطقه‌ی استان گیلان: لشت‌نشاء (رشت) و پره‌سر (رضوانشهر)، طغیان کرد و تقریباً بیشتر درختان آلوده ازجمله توت، افرای سیاه، سیب، گلابی، لرگ، انجیر، انگور، زبان‌گنجشک، توسکا، بید، صنوبر، عرعر، نارون و گیلاس به‌طور کامل بی‌برگ شدند (رضایی، ۱۳۸۳). این حشره در استان گیلان دارای دو نسل در سال می‌باشد. پس از تخمگذاری پروانه‌ها در اواخر اردیبهشت ماه، لاروهای سن اول پس از ۵-۶ روز از تخم خارج شده و به طور دسته‌جمعی شروع به تغذیه می‌کنند. لاروها تقریبا همگی باهم پوست‌اندازی کرده و وارد مراحل بعدی لاروی می‌شوند. خسارت لاروهای سنین بالاتر بسیار بیشتر و لاروهای سنین چهارم و پنجم به شکل پراکنده از برگ‌ها تغذیه می‌کنند. به عبارتی این لاروها حالت تجمعی کمتری نسبت به لاروهای سنین پایین دارند. در سال‌های اخیر، علاوه بر استان گیلان، این آفت در مناطقی از استان‌های اردبیل و مازندران نیز مشاهده‌شده، اما گزارش مستندی مبنی بر آن، به ثبت نرسیده‌است (رضایی، ۱۳۸۳).

از زمان ظهور آفت و با توجه به اهمیت قرنطینه‌ای آن، تعیین سطح پراکنش آفت و تغییرات جمعیت آن با استفاده از تله‌های فرمونی، تله‌های نوری و ردیابی‌های منطقه‌ای در اولویت قرارگرفت، اما جمعیت بالای این آفت به‌ویژه در سال‌های اخیر، ضرورت عملکردی وسیع و کاربردی را طلب می‌کند. از آنجا که مصرف آفت‌کش‌ها اثرهای منفی بر سیستم‌های آب و خاک و زنجیره‌های غذایی را به‌دنبال دارد. بنابراین، استفاده از عوامل کنترل‌کننده‌ی طبیعی مانند پارازیتوئیدها، پرداتورها و عوامل بیماری‌زای حشرات در کنترل آفت قابل توجه می‌باشد.

تحقیقات زیادی در زمینه‌ی کنترل بیولوژیک این آفت انجام‌نشده‌است. کلنی‌های *Bacillus thuringiensis* به‌عنوان عامل کنترل‌کننده‌ی بیولوژیک مؤثر می‌تواند به صورت آفت‌کش استفاده‌شود. گزارش شده‌است که *B. thuringiensis* Var. *Kurstaki* در مجارستان و کره در کنترل این آفت نقش عمده دارد (Jasinka, 1984; Choi *et al.*, 1986). زنبور *Chouioia cunea* Yang (Hym.: Eulophidae) باعث مرگ و میر قابل توجه در شفیره‌ی *H. cunea* در نواحی گسترده‌ای از کشور چین شد (Yang wei and Wang, 2008). این پارازیتوئید در آن مناطق به همراه سایر پارازیتوئیدهای بومی نظیر *Coccygomimus disparis*, *Chouioia parnasae* (Ichneumonidae) و *Exorita japonica* (Tachinidae) بالغ بر ۹۰ درصد لارو حشره را انگلی می‌کند (Yang wei and Wang, 2008). در ایران نیز دو پارازیتوئید بومی در گیلان شناسایی و بیولوژی آنها مورد بررسی قرارگرفت که شامل گونه‌های *C. cunea* و *Psychophagus omnivorus* می‌باشد. یک پارازیتوئید تخم به‌نام *Trichogramma dendrolini* Matsumura (Hym.: Trichogrammatidae) و یک سن شکارگر با نام *Arma custos* F. (Heteroptera: Pentatomidae) نیز شناسایی شدند (رضایی، ۱۳۸۳).

باوجود تحقیقاتی که در زمینه‌ی کنترل (شیمیایی، مکانیکی و بیولوژیک) پروانه‌ی سفید اشجار انجام شده‌است، اما تاکنون گزارشی در خصوص تأثیر قارچ‌های بیماری‌زای حشرات بر آن به ثبت نرسیده‌است. قارچ‌های بیمارگر حشرات جایگاه چشمگیری در کنترل ملخ‌ها، شته‌ها و بال‌پولک‌داران دارند. *Beauveria bassiana* از مهمترین گونه‌های قارچی است که به طور موفقیت‌آمیزی در کنترل بیولوژیک حشرات مختلف نقش‌داشته و اثرهای سوئی روی دشمنان طبیعی ندارد (Goettel *et al.*, 1990).

این قارچ دارای دامنه‌ی میزبانی وسیعی بوده (Li, 1998) و به‌دلیل داشتن پراکنش وسیع، سهولت کشت و امکان ذخیره‌سازی کنیدی‌های آن مورد توجه زیادی قرارگرفته‌است (Rehner, 2005). حشراتی که توسط *B. bassiana* از پای درمی‌آیند، گرد سفیدرنگی روی بدن آنها را می‌پوشاند که به همین دلیل به آن موسکاردین سفید گفته می‌شود. به‌کارگیری قارچ *B.bassiana* در صنوبرکاریهای برزیل سبب تلفات لاروی و شفیرگی پروانه *Condylorrhiza vestigialis* Guen به میزان بیش از ٦٠٪ گردید (Pogetto *et al*., 2012). همچنین کاربرد این قارچ در مزارع و گلخانه‌های کلم، بقای مراحل مختلف لاروی را به طور معنی‌داری کاهش‌داد (Vandenberg *et al*., 1998). کاهش وزن شفیرگی پروانه *Spodoptera litura*، درصد پایین خروج پروانه از پیله شفیرگی و دفرمه‌بودن همگی پروانه‌ها در نتیجه تیمار با *B. bassiana* گزارش‌شده‌است (Basker *et al*., 2012). ازجمله قارچ‌های دیگری که بیمارگری آن‌ها روی طیف وسیعی از حشرات و بال‌پولک‌داران گزارش‌شده‌است *Isaria fariosae* می‌باشد (Agudelo and Falcon, 1983). این قارچ در دما و رطوبت مناسب به‌راحتی روی محیط کشت رشد می‌کند (Yang *et al*., 2005; Ayyasamy and Baskaran, 2005) و نیز امکان تولید انبوه آن فراهم شده‌است (Ze *et al*., 2006).

از آنجا که لاروهای پروانه‌ی برگ‌خوار سفید اشجار به‌ویژه در سنین پایین دارای رفتار تغذیه‌ای دسته‌جمعی می‌باشند، همواره در زمان آلودگی، جمعیت بسیار بالایی از لاروهای همسن در سطح برگ‌های میزبان مشاهده می‌شود. این موضوع می‌تواند کاربرد قارچ بیمارگر را تسهیل‌کرده و این عامل بیمارگر را به یک گزینه جدید در زمینه کنترل بیولوژیک آفت نامبرده تبدیل‌نماید. به‌علاوه، شرایط آب و هوایی استان‌های گیلان و مازندران که مناطق فعلی پراکنش پروانه‌ی برگ‌خوار سفید اشجار می‌باشند، به‌لحاظ دارابودن رطوبت بالا برای رشد و تکثیر قارچ، مناسب می‌باشند که خود، فاکتور قابل توجهی برای استفاده از قارچ‌های بیمارگر می‌باشد. در این تحقیق اثر بیمارگری ٤ جدایه قارچ *B. bassiana* و یک جدایه *I. farinosae* روی لاروهای سن ٤ پروانه‌ی سفید اشجار و نیز حساسیت لاروهای سنین ۲، ۳ و ۵ به زهراگین‌ترین جدایه در شرایط آزمایشگاه مورد بررسی قرارگرفت.

مواد و روشها

پرورش میزبان

در اواسط فصل بهار و هم‌زمان با تخم‌ریزی پروانه‌ی *H. cunea*، دسته‌های تخم (شکل ۱) از درختان آلوده شهر رشت و حومه جمع‌آوری شده و در اتاقک رشد در شرایط مناسب دمایی (۱±۲٤ درجه‌ی سلسیوس) و دوره روشنایی به تاریکی (۱٤:۱۰ ساعت) و رطوبت نسبی ۵±۷۵ درصد پرورش داده‌شدند. ظروف مورد استفاده برای پرورش حشرات ظروف طلقی شفاف و به ابعاد ۸×۱۰×۱۵ سانتیمترمکعب بود. برای تغذیه لاروها از برگ‌های توت استفاده‌شد. در نهایت، لاروهای پرورش‌یافته برای انجام آزمایش‌های مختلف مورد استفاده قرارگرفتند.

جدایه‌های قارچی مورد استفاده

چهار جدایه از قارچ *B. bassiana* از مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور و یک جدایه از قارچ *I. frinosae* با مشخصات زیر (جدول ۱) برای زیست‌سنجی‌ها تهیه و در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه‌ی سلسیوس نگهداری‌شدند.

شکل ۱- پروانه ماده برگ‌خوار سفید اشجار در حال تخم‌ریزی روی برگ توت (اصل)

جدول ۱- مشخصات جدایه‌های قارچی استفاده‌شده در آزمایش‌های زیست‌سنجی

قارچ بیمارگر	نام جدایه قارچ	محل جمع‌آوری
I. farinosae	1872 c	جداسازی‌شده از شفیره‌ی پروانه‌ی برگ‌خوار سفید اشجار در منطقه‌ی رضوانشهر استان گیلان توسط عجم‌حسنی
B. bassiana	Fashand	جداسازی شده از خاک منطقه‌ی فشند، توسط غزوی
B. bassiana	Spt-22	جداسازی شده از سن گندم در ترکیه توسط پارکر
B. bassiana	Ir-K-40	جداسازی شده از سن گندم در منطقه‌ی کنگاور کرمانشاه توسط حسنی
B. bassiana	566	جداسازی شده از سن گندم در اصفهان توسط پارکر

کشت و تکثیر قارچ‌های بیمارگر و تعیین غلظت‌های مورد آزمایش

جدایه‌های ذکر شده روی محیط PDA کشت شدند. پس از ۱۲ روز، کنیدی‌ها با یک اسکالپل سترون‌سازی‌شده از روی محیط کشت تراشیده شده و درون یک لوله آزمایش محتوی آب مقطر حاوی ۸۰- Tween ۰/۰۳ درصد قرارگرفتند. سوسپانسیون کنیدی‌ها و ۸۰ Tween ۰/۰۳-درصد به مدت ۵ دقیقه با مگنت همگن شده و بعد از فیلتر (پارچه توری سترون‌سازی‌شده با قطر منافذ ۱ میلی‌متر) عبور داده‌شدند تا هیف‌ها از کنیدی‌ها جدا شوند. برای شمارش کنیدی‌ها و تهیه غلظت‌های لازم از لام گلبول‌شمار [1] در بزرگنمایی ٤۰۰ × میکروسکوپ نوری استفاده‌گردید. لازم به ذکر است که در آزمایش‌های مقدماتی، غلظت 10^4 سبب حدود ۲۰٪ و غلظت 10^8 نزدیک به ۸۰٪ مرگ و میر در لاروهای سن ٤ شدند. بنابراین بین آنها سه غلظت دیگر با فاصله لگاریتمی انتخاب گردید. از آب مقطر حاوی ۸۰- Tween به میزان ۰/۳ درصد به‌عنوان شاهد استفاده شد.

آزمایش‌های زیست‌سنجی:

۱- بررسی بیمارگری جدایه‌های قارچی *B. bassiana* و *I. farinosae* روی لاروهای سن چهار

برای آلوده نمودن حشرات، مقدار ۲ میکرولیتر از سوسپانسیون غلظت‌های مختلف از جدایه‌ها، با استفاده از سرنگ هامیلتون در سطح شکمی لاروها (فاصله پاهای

1- Neubar

دروغین دوم و سوم) قرار داده‌شد. تیمار شاهد شامل آب‌مقطر حاوی Tween ۰/۰۳درصد بود. آزمایش در قالب فاکتوریل در طرح پایه کامل تصادفی شامل ۵ تیمار قارچی (فاکتور اول) و ٦ غلظت (فاکتور دوم) با ٤ تکرار انجام‌شد. در هر تکرار ۱۰ عدد لارو سن ٤ در نظر گرفته‌شد. لاروها پس از آلوده‌سازی در اتاق رشد با دمای۱ ± ۲۵ درجه‌ی سلسیوس و رطوبت نسبی ۸۰-۹۰ درصد و دوره نوری به تاریکی ۱٤:۱۰ ساعت قرارگرفتند. برای تغذیه‌ی لاروها از برگ‌های توت استفاده‌شد. مرگ و میر حشرات هر روز ثبت و این عمل تا ۱۲ روز ادامه‌یافت.

۲- بررسی حساسیت لاروهای سنین ۲، ۳ و ۵ به زهراگین‌ترین جدایه

با توجه به نتایج به‌دست آمده از آزمایش اول که در آن جدایه فشند پایین‌ترین LD_{50} را نسبت به سایر جدایه‌ها داشت و نیز میزان مرگ و میر لاروها تحت تأثیر این جدایه تفاوت معنی‌داری با سایر جدایه‌ها نشان داد، بنابراین جدایه فشند به‌عنوان بیمارگرترین جدایه در آزمایش انتخاب‌گردید. غلظت‌های به‌کاررفته در این آزمایش همان غلظت‌های استفاده شده در آزمایش قبل بود. این آزمایش در قالب طرح پایه کاملا تصادفی با ٦ تیمار غلظت و سه سن لاروی و ٤ تکرار در قالب فاکتوریل در طرح پایه کامل تصادفی انجام شد. هر تکرار شامل ۱۰ عدد لارو بود. بعد از قطره‌گذاری لاروها با غلظت‌های جدایه فشند، لاروها در اتاق رشد با شرایط ذکر شده در آزمایش قبل قرار داده‌شدند و به‌منظور تغذیه، برگ توت در اختیار آنها قرار داده شد. مرگ و میر روزانه لاروها تا ۱۲ روز ثبت شد. این آزمایش برای لاروهای سنین ۲، ۳ و ۵ انجام شد. لاروهای سن اول در آزمایش مورد استفاده قرار نگرفتند زیرا کوچک بودن آنها مانع قطره‌گذاری موفق می‌شد.

۳- تجزیه آماری

داده‌های حاصل از آزمایش‌های اول و دوم در قالب فاکتوریل در طرح پایه کاملا تصادفی با نرم‌افزار SAS تجزیه واریانس گردید. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد. به‌منظور بررسی‌های زیست‌سنجی و محاسبه LD_{50} و حدود بالا و پایین، نرم افزار POLO -PC مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج

تمام جدایه‌های قارچ‌های استفاده شده سبب مرگ و میر لارو سن ٤ پروانه‌ی برگ‌خوار سفید اشجار گردید، اما میزان تلفات لاروها براساس غلظت قارچ‌ها متفاوت بود. آنالیز داده‌ها اختلاف معنی‌داری را بین جدایه‌ها ($F=٢٤/٠٦, df=٤, P<٠/٠٠٠١$) و غلظت‌های هر قارچ ($F=١١٧/٦, df=٥ , P<٠/٠٠٠١$) نشان‌داد. اثرهای متقابل این فاکتورها نیز معنی‌دار بود ($F=٢/١١, df=٢, P=٠/٠٠٩$) (جدول‌های ٤، ٥ و ٦). جدایه فشند و 1872c به‌ترتیب بالاترین میزان مرگ و میر را در لاروهای سن چهار سبب شدند. به‌طوری‌که جدایه‌های فوق در غلظت $١٠^{٨}$ بالاترین میزان تلفات لاروی را به‌ترتیب به میزان ۷۲/۵ و ٦۷/۵ درصد سبب شدند. در همه جدایه‌ها، افزایش میزان مرگ و میر با افزایش غلظت قارچ ارتباط مستقیم نشان‌داد (جدول‌های ٤، ٥ و ٦).

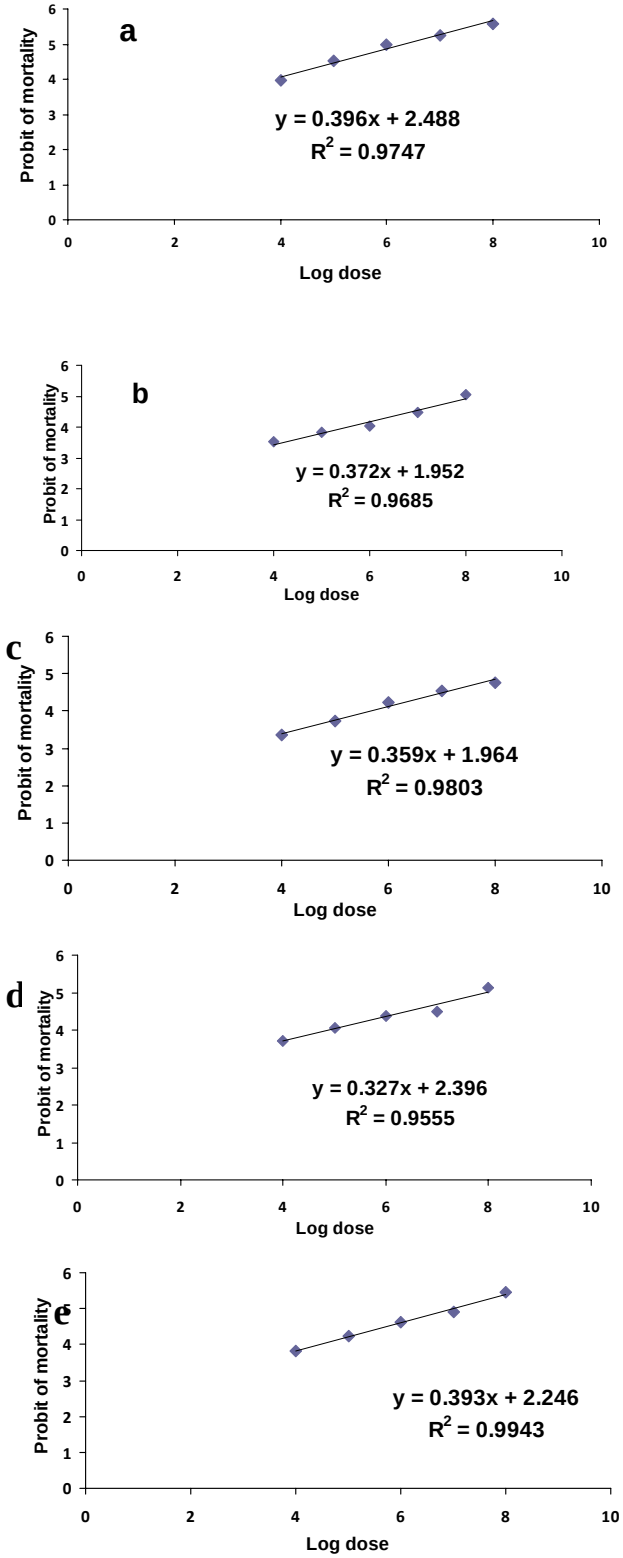
LD_{50} برای هر جدایه محاسبه‌شده و نتایج به‌دست آمده در جدول ۲ ارائه شده‌است. میزان LD_{50} و حدود بالا

و پایین آن برای جدایه فشند ($٦/٩\times١٠^{٤}$–$٦/٦\times١٠^{٣}$) $٠/٢\times١٠^{٣}$ کنیدی در میلی‌لیتر، پایین‌تر از سایر جدایه‌ها بود (جدول ۲). قارچ *I. farinosae* با LD_{50} معادل ($٤/٩\times١٠^{٦}$–$٠/٣\times١٠^{٥}$) $٩/٥\times١٠^{٥}$ کنیدی در میلی‌لیتر، از نظر بیمارگری در رتبه دوم و بعد از فشند قرارگرفت. سه جدایه دیگر دارای همپوشانی بین حدود بالا و پایین LD_{50} بود که حکایت از عدم تفاوت معنی‌دار بین آنهاست. اگرچه شیب خط رگرسیون (شکل ۲) برای تمام جدایه‌ها تقریبا یکسان بود اما فاصله از مبدأ برای جدایه‌های مختلف متفاوت دیده شد که نشان‌دهنده تفاوت در میزان حساسیت لاروها می‌باشد.

جدول ۲– LD_{25} و LD_{50}، با حدود اطمینان (۹۵٪) جدایه‌های *B. bassiana* و یک جدایه *I. farinosae* روی لاروهای سن چهار پروانه‌ی برگ‌خوار سفید اشجار

جدایه‌ها	LD_{50} (95% CL)	LD_{25} (95% CL)	Slope±se	X^2
Fashand	$٠/٢\times١٠^{٣}$ ($٦/٦\times١٠^{٣}$–$٦/٩\times١٠^{٤}$)	$٣/٨\times١٠^{٢}$ ($٠/٤\times١٠^{٢}$–$١/٤\times١٠^{٣}$)	٠/٣٩±٠/٤	٠/٨٤
Ir-k-40	$١/٣\times١٠^{٧}$ ($٢/٨\times١٠^{٦}$–$٢/٨\times١٠^{٨}$)	$٢/٢\times١٠^{٥}$ ($٥/٦\times١٠^{٤}$–$٨/٢\times١٠^{٥}$)	٠/٣٧±٠/٦	١/٠٣
566	$٣/١\times١٠^{٧}$ ($٤/٨\times١٠^{٦}$–$٢/١\times١٠^{٩}$)	$٣/٥\times١٠^{٥}$ ($٨/٣\times١٠^{٤}$–$١/٧\times١٠^{٦}$)	٠/٣٥±٠/٦	٠/٦٥
Spt-22	$٧/٨\times١٠^{٦}$ ($١/٥\times١٠^{٦}$–$٠/٢\times١٠^{٧}$)	$٧/٣\times١٠^{٤}$ ($١/٢\times١٠^{٤}$–$٢/٨\times١٠^{٥}$)	٠/٣٢±٠/٧	٠/٨١
1872c	$٩/٥\times١٠^{٥}$ ($٠/٣\times١٠^{٥}$–$٤/٩\times١٠^{٦}$)	$١/٧\times١٠^{٤}$ ($٢/٩\times١٠^{٣}$–$٥/٧\times١٠^{٤}$)	٠/٣٩±٠/٧	٠/٢

بیمارگری جدایه فشند به‌عنوان زهراگین‌ترین جدایه روی لاروهای سنین ۲، ۳ و ۵ آفت بررسی‌شد. این قارچ با غلظت‌های متفاوت سبب مرگ و میر لاروهای سنین مختلف شد، اما میزان این مرگ و میرها تفاوت معنی‌داری باهم داشت. لاروهای سنین ۲ و ۳ مرگ و میر بالاتری نسبت به لاروهای سن ۵ نشان دادند (جدول‌های ۷، ۸ و ۹). این کاهش نسبی مرگ و میر لاروهای سن ۵ تا حدود زیادی نشان‌دهنده مقاومت بالاتر لاروهای سن ۵ در مقابل جدایه فشند بوده‌است. تأثیر غلظت‌های مختلف جدایه فشند نیز بر میزان مرگ و میر لاروها معنی‌دار بود. در همه سنین لاروی درصد تلفات با افزایش غلظت روند صعودی نشان‌داد. غلظت‌های $١٠^{٧}$ و $١٠^{٨}$ بالاترین تلفات را ایجاد کردند، هرچند تفاوت معنی‌داری از نظر آماری بین میزان تلفات ایجادشده توسط این دو غلظت مشاهده نشد (جدول‌های ۷، ۸ و ۹). جدول ۳ همپوشانی حدود بالا و پایین LD_{50} مربوط به لاروهای سن ۲ و ۳ را نشان می‌دهد که در واقع بازگوکننده مشابهت تأثیر زهرآگینی جدایه فشند برای این دو سن لاروی می‌باشد. همچنین LD_{50} قارچ برای لاروهای سن ۵ به طور معنی‌داری بالاتر از سنین لاروی پایین‌تر بود. این یافته‌ها نشان‌داد که حساسیت لاروهای سن ۲ و ۳ به جدایه فشند بیش از سایر سنین لاروی بوده‌است.



شکل ۲- رگرسیون پروبیت مرگ و میر لاروهای سن ٤ دو روزه تحت تأثیر جدایه‌های قارچ

a: جدایه فشند، b: جدایه Ir-k-40، c: جدایه 566، d: جدایه Spt-22 و e: جدایه 1872 c

جدول ۳- LD_{25} و LD_{50}، محاسبه شده برای جدایه فشند روی لاروهای سن ۲، ۳ و ۵ پروانه‌ی برگ‌خوار سفید اشجار

	LD_{50} (95% CL)	LD_{25} (95% CL)	Slope±se	X^2
لارو سن ۲	$۹/۹\times۱۰^{٤}$ ($۲/۲\times۱۰^{٤}$-$٤/٤\times۱۰^{٥}$)	$۰/۳\times۱۰^{٤}$ ($۰/۰٥\times۱۰^{۳}$-$۱/۳\times۱۰^{٤}$)	۰/٤٥±۰/۱	۰/٦۲
لارو سن ۳	$۲/٤\times۱۰^{٥}$	$۱/۷\times۱۰^{٤}$	۰/٥۸±۰/۱	٤/۲
لارو سن ۵	$۱/٥\times۱۰^{۷}$ ($۳/۲\times۱۰^{٦}$-$۲/۹\times۱۰^{۸}$)	$۲/٤\times۱۰^{٥}$ ($۱/٤\times۱۰^{٤}$-$۱/۸\times۱۰^{٦}$)	۰/۳۷±۰/۷	۳/٥

جدول ٤- تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای مختلف قارچی بر لاروهای سن چهار پروانه‌ی برگ‌خوار سفید اشجار

منبع	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	P-value
تیمار	۲۹	٥٥۳٥۷/٤	۱۹۰۸/۸	۲٥/۰٥	<۰/۰۰۰۱
خطا	۹۰	٦۸٥۸	۷٦/۲		
کل	۱۱۹	٦۲۲۱٥/٤			
جدایه	٤	۷۳۳٤/۱۳	۱۸۳۳/٥	۲٤/۰٦	<۰/۰۰۰۱
غلظت	٥	٤٤۸۰٥/٤٦	۸۹٦۱	۱۱۷/٦	<۰/۰۰۰۱
جدایه×غلظت	۲۰	۳۲۱۷/۸٦	۱٦۰/۸	۲/۱۱	۰/۰۰۹

جدول ٥- مقایسه میانگین‌های (آزمون دانکن) درصد تلفات لاروهای سن چهار تحت تأثیر جدایه‌های مختلف در سطح ۱٪

گروه‌بندی	میانگین تلفات (٪)	فاکتور ۱ (جدایه‌ها)
A	۳۹/۳۳	Fashand
B	۳۰/۸۳	1872c
C	۲۲/۸۳	Ir-k-40
C	۲۰	566
C	۱۸/۳۳	Spt-22

جدول ٦- مقایسه میانگین‌های (آزمون دانکن) درصد تلفات لاروهای سن چهار تحت تاثیر غلظت‌های مختلف در سطح ۱٪

گروه‌بندی	میانگین تلفات (٪)	فاکتور ۲ (غلظت‌ها)
F	۰	شاهد
E	۱۰	$۱۰^{٤}$
D	۱۹	$۱۰^{٥}$
C	۲۹	$۱۰^{٦}$
B	٤۰	$۱۰^{۷}$
A	٥۸	$۱۰^{۸}$

جدول ۷- تجزیه واریانس تأثیر غلظت‌های مختلف جدایه فشند روی لاروهای سنین مختلف پروانه‌ی برگ‌خوار سفید اشجار

منبع	درجه آزادی (df)	مجموع مربعات	میانگین مربعات	F	P-value
تیمار	۱۷	۷۸۹۰۰	٤٦٤١٨/١٧	۳۸/۸	<۰/۰۰۰۱
خطا	٥٤	٦٤٥٠	۱۱۹/٤		
کل	۷۱	۸٥۳٥۰			
سنین لاروی	۲	۱۰٤۰۸/۳	٥۲۰٤/۱٦	٤۳/٥	<۰/۰۰۰۱
غلظت	٥	٦٤۳۳۳/۳	۱۲۸٦٦/٦	۱۰۷/۷۲	<۰/۰۰۰۱
سنین لاروی × غلظت	۱۰	٤۱٥۸/۳	٤۱٥/۸	۳/٤۸	۰/۰۰۱٤

جدول ۸- مقایسه میانگین‌های (آزمون دانکن) درصد تلفات لاروها در سنین مختلف در سطح ۱٪

گروه‌بندی	میانگین تلفات (٪)	فاکتور ۱ (سنین لاروی)
A	٥۷	لارو سن دوم
A	٥۱/۲	لارو سن سوم
B	۲۹/۱٦	لارو سن پنجم

جدول ۹- مقایسه میانگین‌های (آزمون دانکن) درصد تلفات لاروهای سنین مختلف تحت تأثیر غلظت‌های مختلف در سطح ۱٪

گروه‌بندی	میانگین تلفات (٪)	فاکتور ۲ (غلظت‌ها)
E	۰	شاهد
D	۲۱/٦	$۱۰^{٤}$
C	۳۷/٥	$۱۰^{٥}$
B	٥۳/۳	$۱۰^{٦}$
A	۷٦/٦	$۱۰^{۷}$
A	۸٥/۸	$۱۰^{۸}$

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان‌داد که جدایه‌های قارچ‌های *B. bassiana* و *I. farinosae* سبب مرگ و میر لاروهای سنین مختلف پروانه‌ی برگ‌خوار سفید اشجار شدند. هرچند که درصد آلودگی ایجاد شده و متعاقباً میزان تلفات تحت تأثیر جدایه‌های مختلف و برای لاروهای سنین مختلف، متفاوت‌بود. در این تحقیق، جدایه‌های فشند از قارچ *B. bassiana* و 1872c از قارچ *I. farinosae* بیشتر از سایر جدایه‌ها اثر بیمارگری داشتند. به‌طوری که اثر قارچ‌های بیمارگر *B. bassiana* و *I. farinosae* بر حشرات، توسط محققان دیگر نیز مورد مطالعه قرارگرفته‌است. به‌عنوان مثال، می‌توان به اثر قارچ *B. bassiana* روی سن (Boheman) *Aelia rostrata*

(Mustu *et al.*, 2011)، سفیدبالک (Gennadius) *Bemisia tabaci* (Cabanillas and Walker, 2009)، پروانه (Meyrick) *Atteva scidoxa* (Abood, *et al.*, 2010)، پروانه (Swinhoe) *Chilo partellus* (Tefera et al., 2004)، بید سیب‌زمینی (Sabbour *et al.*, 2002)، ساقه‌خوار نیشکر (Legaspi *et al.*, 2000) و بسیاری از حشرات دیگر اشاره نمود. در ایران نیز تحقیقاتی روی تأثیر قارچ *B. bassiana* بر ساقه‌خوار اروپایی ذرت (Safavi *et al.*, 2010) و ساقه‌خوار برنج (مجیدی و همکاران، ۱۳۹۰) انجام شده است.

بیمارگری قارچ *I. farinosae* نیز روی سرخرطومی *Pissodes punctatus* (Yang, *et al.*, 2009) و طیف وسیعی از بال‌پولک‌داران مانند ابریشم باف‌ناجور، کرم طوقه‌بر و کرم سیب (Humber and Hansen, 2005) و پروانه تخم انگشتری (Kleespies, *et al.*, 2008) مورد بررسی قرارگرفته‌است.

تفاوت قدرت زهراگینی در جدایه‌های مختلف *B. bassiana* به خصوصیات فیزیولوژیکی و آنزیمی هر جدایه مربوط می‌شود (Leland, *et al.* 2005). همچنین این اختلاف در زهرآگینی جدایه‌ها می‌تواند به منشأ جداسازی جدایه‌ها و گونه‌های میزبان مرتبط باشد. تأثیر منشأ جدایه‌ها روی بیمارگری قارچ *B. bassiana* قبلا گزارش شده‌است. جدایه‌هایی که زیستگاه آنها و یا گونه‌های میزبان آنها به هم نزدیکتر باشد قدرت بیمارگری مشابهی دارند (Vandenberg, Goettel .1996) و همکاران در سال ۱۹۹۰ گزارش کردند که جدایه‌هایی که برای یک میزبان بیمارگرتر می‌باشند از همان گونه و یا گونه‌های میزبان وابسته جداسازی شده‌اند. این یافته‌ها تا حدود زیادی در نتایج این تحقیق، به اثبات رسیده است.

در تحقیق حاضر، جدایه فشند از خاک و جدایه 1872c از شفیره‌های زمستانگذران پروانه‌ی برگ‌خوار سفید اشجار جداسازی شده‌بود. این جدایه‌ها در مقایسه با ۳ جدایه دیگر که همگی از روی سن گندم جداسازی شده بودند بیماری‌زایی بیشتری روی آفت نشان‌دادند. اگر منشأ جداسازی این جدایه‌ها را به‌عنوان عامل مؤثر در بیمارگری مورد توجه قراردهیم، می‌توان چنین احتمالی را درنظرگرفت که محل جداسازی جدایه فشند (خاک)، زیستگاه گونه‌هایی از بالپولکی‌هایی باشد که به لحاظ مرفولوژی، فیزیولوژی، فیلوژنی و یا رفتاری به آفت مورد آزمایش نزدیک و وابسته هستند. در همین راستا، صفوی و همکاران در سال ۲۰۱۰ اظهار داشتند که در میان جدایه‌های *B. bassiana*، جدایه‌ای که از خاک (زیستگاه گونه میزبان یا گونه‌های نزدیک) جدا شده‌بود برای ساقه‌خوار اروپایی ذرت، بیماری‌زایی بالاتری نسبت به جدایه‌هایی داشت که از سوسک‌ها و راست‌بالان جداسازی شده‌بودند.

قارچ بیمارگر دیگری که در این تحقیق بیماری‌زایی آن بر لاروهای سن ٤ آفت مورد بررسی قرارگرفت *I. farinosae* بود. جدایه 1872c توانست در غلظت‌های بالا بیش از ٦٠٪ مرگ و میر را سبب شود. با توجه به اینکه این جدایه از شفیره‌های زمستانگذران پروانه‌ی برگ‌خوار سفید اشجار جدا شده‌بود، بیماری‌زایی بالای آن بر همان حشره منطقی به‌نظر می‌رسد. از مزایای قارچ *I. farinosae* سازگاری بالای آن در دامنه‌های دمایی متفاوت و زنده‌مانی آن در دماهای پایین می‌باشد.

Dobersk و همکاران در سال ۱۹۸۱ گزارش‌کردند که یک جدایه از این قارچ در دمای ۲ درجه سلسیوس سبب ایجاد بیماری در سوسک پوستخوار نارون گردید. این قارچ در دمای صفر و یا ۵- درجه‌ی سلسیوس فعالیت بیماری‌زایی نشان‌نداد، اما توانست زنده بماند (Machowicz, 1988). هرچند که قدرت بیماری‌زایی آن تابع متغیر دما می‌باشد (Faragues and Bon, 2004). در این تحقیق، این قارچ داخل شفیره‌های زمستان‌گذران آفت مورد آزمایش توانسته بود شرایط سخت زمستان و دمای پایین را تحمل‌کرده، زنده بماند و قدرت بیماری‌زایی خود را حفظ کند.

علاوه بر خصوصیات فیزیولوژیکی قارچ و منشأ آن، عوامل دیگری نیز در پدیده بیماری‌زایی یک قارچ بیمارگر مهم هستند. به‌عنوان مثال، جوانه‌زنی کنیدی‌ها می‌تواند تحت تأثیر شرایط کلیمایی بخصوص دمای پیرامون کوتیکول حشره، رطوبت نسبی (Keller and Zimmermann, 1989)، در دسترس بودن غذا برای قارچ در سطح کوتیکول، درصد بازدارندگی ترکیبات سطح کوتیکول (Hajek and Leger, 1994) و سن حشره میزبان باشد (Cabanillas and Walker, 2009). در این مطالعه، اثر سن حشره در میزان آلوده شدن به قارچ معنی‌دار بود. لاروهای سنین پایین حساسیت بالاتری نسبت به قارچ بیمارگر نشان‌دادند، چنانکه اختلاف معنی‌داری بین LD_{50} در لاروهای سن ۲ و ۳ در مقایسه با لاروهای سن ۵ به‌دست آمد. بنابراین چنین به‌نظر می‌رسد که لاروهای سنین پایین به دلیل داشتن کوتیکول نرم‌تر و اگزوکوتیکول نازک‌تر نسبت به لاروهای درشت‌تر حساسیت بیشتری دارند. به‌علاوه تحرک لاروهای سنین پایین پروانه‌ی برگ‌خوار سفید اشجار بسیار کمتر از لاروهای سن ٤ می‌باشد. به عبارت دیگر، لاروهای سنین بالا و بخصوص سن ۵ دارای تحرک زیادی بوده و ممکن است کنیدی کمتری روی بدن آنها مستقر شده و جوانه‌زنی کند. بنابراین احتمال دارد که در سطح بدن لاروهای سنین پایین در غلظت مشابه کنیدی بیشتری نسبت به لاروهای درشت‌تر مستقر شده و در نتیجه این لاروها حساس‌تر باشند. نتایج ما با یافته‌های دیگر محققان در ارتباط با اثر سن حشره در بیماری‌زایی قارچ، همخوانی داشت. Cabanillas در سال ۲۰۰۹ نشان داد که پوره‌های سنین پایین *Bemisia tabaci*، مرگ و میر بالاتری در نتیجه تیمار با قارچ *Isaria* sp. در مقایسه با پوره‌های سنین بالاتر دارند. در تحقیقی دیگر، میزان تماس کنیدی‌های قارچ با بدن حشره هدف و نقش آن در کیفیت بیمارگری بررسی‌شد. هنگامی‌که سوسک‌های بالغ شاخک‌بلند درختان جنگلی (Motschulski) *Anoplophora glabripennis* با کنیدی‌های *B. bassiana* تیمار شدند تلفات سوسک‌ها بسیار بیشتر از لاروها بود. با توجه به اینکه لاروهای چوبخوار سوسک‌های شاخک‌بلند داخل دالان‌های ایجاد شده در تنه درختان میزبان مستقر بوده و تغذیه می‌کنند، بنابراین کاهش حساسیت آنها نسبت به قارچ بیمارگر تا حدود زیادی به محل استقرار آنها و متعاقبا عدم تماس لازم با قارچ و نیز عدم دریافت میزان کافی کنیدی توسط آنها مربوط می‌شد (Dubois *et al.*, 2008).

با درنظرگرفتن شرایط اقلیمی استان گیلان، استفاده از این قارچ‌های بیمارگر به‌ویژه *I. farinosae* که جدایه‌ای بومی محسوب می‌شود و با شرایط منطقه سازگاراست، می‌تواند در برنامه‌های مدیریت این آفت

مهم جایگاه ارزشمندی داشته‌باشد. بنابراین ضروریست آزمایش‌هایی در سطح عرصه برای تعیین بیمارگری این قارچ‌ها صورت پذیرد تا در کنار نتایج آزمایشگاهی این تحقیق و موارد مشابه، بتوان راهکاری مناسب برای کنترل این آفت ارائه نمود.

سپاسگزاری

نگارندگان از همکاری‌های مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور و مؤسسه‌ی تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور به دلیل در اختیار قرار دادن جدایه‌های قارچ و امکانات آزمایشگاهی قدردانی می‌نمایند.

منابع مورد استفاده

- رضایی، و. ۱۳۸۳. زیست شناسی شب پره سفید آمریکایی درختان *Hyphantria cunea*، فون دشمنان طبیعی و کارایی زنبور پارازیتوئید آن *Chouioia cunea* در استان گیلان. پایان نامه دکتری حشره شناسی کشاورزی. دانشگاه تربیت مدرس. صفحه ۳۵-۱۲.
- مجیدی، ف.، پاداشت، ف. و نحوی، م. ۱۳۹۰. کنترل بیولوژیکی جمعیت زمستان‌گذران کرم ساقه خوارنواری برنج پس از برداشت برنج بوسیله قارچ *Beauveria bassiana* در شرایط مزرعه. نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی). ۲۵(۲): ۱۹۳-۱۸۶.
- Abood, F., Bajwa, G. A., Ibrahim, Y. B. and Sajap, A. S., 2010. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* against the Tiger moth, *Atteva sciodoxa* (Lepidoptera: Yponomeutidae). Journal of Entomology, 7(1): 19-32.
- Agudelo, F., and Falcon, L. A., 1983. Mass Production, Infectivity and Field Application Studies with the Entomogenous Fungus *Paecilomyces farinosus*, Journal of Invertebrate Pathology, 42: 124-132.
- Ayyasamy, R., Baskaran, P., 2005. Effect of temperature and relative humidity on radial growth and sporulation of *Paecilomyces farinosus*. Journal of Food Agricultural Environment, 3(1):137–138.
- Baskar, K., Raj, G., Mohan, P., Lingathurai, S., Ambrose, T., and Muthu, C., 2012. Larvicidal and growth inhibitory activities of entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* against Asian army worm, *Spodoptera litura* Fab. (Lepidoptera: Noctuidae). Journal of Entomology, 9(3): 155-162.
- Cabanillas, H., Walker, A., 2009. Pathogenicity of *Isaria* sp. (Hypocreales: Clavicipitaceae) against the sweet potato whitefly B biotype, *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). Crop Protection, 28: 333–337.
- Choi, Y. C., Lee, S. W., Shin, Y. H., Lee, K. H., 1986. Studies on the mass production of *Bacillus thuringiensis* as a microbial insecticide. Research Reports of the Rural Development Administration, Plant Environment, Mycology and Farm Products Utilization, 28: 56-59.
- Doberski, J. W., 1981. 'Comparative Laboratory Studies on Three Fungal Pathogens of the Elm Bark Beetle *Scolytus scolytus*: Effect of Temperature and Humidity on Infection by *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces farinosus*', Journal of Invertebrate Pathology, 37: 195-200.
- Dubois, T., Lund, J., Leah S., Bauer, L., Hajek, A., 2008. Virulence of entomopathogenic hypocrealean fungi infecting *Anoplophora glabripennis*. BioControl, 53: 517–528.
- Fargues, J. and Bon, M. C., 2004. 'Influence of Temperature Preferences of Two *Paecilomyces fumosoroseus* Lineages on their Co-infection Pattern', Journal of Invertebrate Pathology, 87: 94-104.
- Hajek, A. E. and Leger, R. J., 1994. Intractions between fungal pathogens and insect hosts. Annual Reviw Entomology, 39: 293-322.
- Humber, R. A. and Hansen, K. S., 2005. 'USDA-ARS Collection of entomopathogenic fungalcultures (ARSEF)', ARSEF-Catalog: Host by Fungus. Available on: http://arsef.fpsnl.cornell.edu.
- Jasinka, J., 1984. Farm studies on application techniques and pesticide efficiency against *Hyphantria cunea*. Növenyvedelem 20: 368-372.
- Keller, S and Zimmermann, G., 1989. My copathogens of soil insects: 239-290. In: Wilding, N., (Ed.) Insect-Fongus Intracctions. Academic Press, London, 912p.
- Kleespies, R. G., Huger, A. M., and Zimmermann, G., 2008. 'Diseases of Insects and Other Arthropods: Results of Diagnostic Research Over 55 years', Biocontrol Science and Technology, 18: 439-484.
- Legaspi, J., Poprawski, T. J., and Legaspi, B. C., 2000. Laboratory and field evaluation of

- Smith, P., 1993. Control of *Bemisia tabaci* and the Potential of *Paecilomyces fumosoroseus* as a Biopesticide, Biocontrol News and Information, 14: 71-78.
- Tefera, T., Pringle, K. L., 2004. Evaluation of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* for Controlling *Chilo partellus* (Lepidoptera: Crambidae) in Maize. Biocontrol Science and Technology, 14(8): 849-853.
- Vandenberg, J. D., 1996. Standardized bioassay and screening of *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* against the Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae). Journal of Economic Entomology, 89: 1418-1423.
- Vandenberg, J. D., Shelton, A. M., Wilsey, W. T. and Ramos, M., 1998. Assessment of *Beauveria bassiana* sprays for control of Diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) on Crucifers. Journal of Economic Entomology, 91(3): 624-630.
- Yang, B., Li, T. S., Liu, C. Y., Yao, J. P. and Wu, T. L., 2005. Studies on the impact of rotate speed of rocking bed, initial inoculums and initial pH value on mycelial biomass of *Paecilomyces farinosus*. Journal of Yunnan University, 27(3): 267–271 (in Chinese with English abstract).
- Yang, Z. Q., Wang, X. Y., Wei, J. R., Qu, H. R., Qiao, X. R., 2008. Survey of the native insect natural enemies of *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctiidae) in China. Bulletin of Entomological Research, 98(3): 293-302.
- Yang, S., Zhuang, H., Li, Y. and Kuang, R., 2009. Insecticidal efficacy of *Isaria farinosa* in different life stages of *Pissodes punctatus* (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Pest Science, 82: 321–325.
- Ze, S. Z., Zhou, N., Liu, H.P., Chen, P., and Li, H. R., 2006. Production process of *Paecilomyces farinosus*, an entomopathogenic fungus, Journal of west china forestry science, 35(1): 112-116.
- Zimmermann, G., 2012. The entomopathogenic fungi *Isaria farinosa* (formerly *Paecilomyces farinosus*) and the *Isaria fumosorose* species complex (formerly *Paecilomyces fumosoroseus*): biology, ecology and use in biological control. Biocontrol Science and Technology, 18(9): 865-901.

Beauveria bassiana against Sugarcane Stalkborers (Lepidoptera:Pyralidae) in the lower Rio Grande valley of Texas. Journal of Economic Entomology, 93(1): 54-59.
- Leland, E. J., Mcguire, M. R., Grace, G. A. Jaronski, S. T., Ulloa, M., Park, Y. H. and Plattner, R. D., 2005. Strain selection of fungal entomopatogen, *Beauveria bassiana*, for control of plant bugs (*Lygus* sp.) (Heteroptera: Miridae). Biologic Control, 35: 104-114.
- Li, Z., 1998. List of the insect hosts of Beauveria bassiana. 241-255. In: Li, Z., Z.(Ed.) Qstudy and application of entomogenous fungi in china. Acdemic peridical Peress, Bejing, 1072p.
- Machowicz-Stefaniak, Z., 1988. Studies on the Effect of Temperature on the Growth and Development of the Fungus *Paecilomyces farinosus*. 18: 121-130.
- Mustu, M., Demirci, F. Kocak, E., 2011. Mortality effects of *Isaria farinosae* (Holm.) and *Beauveria bassiana* (Balsamo) vuillemin (Sordariomycetes: Hypocreales) on *Aelia restrata* Boh. (Hemiptera: Pentatomidae). Turkish Entomology, 35: 559-568.
- Pogetto, M. and Wilcken, F., 2012. The effect of *Beauveria bassiana* on Brazilian Poplar moth *Condylirrhiza vestigialis* (Lepidoptera: Crambidae). Journal of Plant Protection, 52(1): 10-14.
- Rehner, S. A., Buckley, E., 2005. A Beauveria phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1-a sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps teleomorphs*. Mycologia, 97: 84–98
- Sabbour, M. M., 2002. The role of chemical additives in enhancing the efficacy of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against the Potato Tuber Moth *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). Pakistan Journal of Biological Sciences, 5(11): 1155-1159.
- Safavi, S. A., Kharrazi, A., Rasoulian, G. h., and Bandani, A., 2010. Virulence of Some Isolates of Entomopathogenic Fungus, *Beauveria bassiana* on *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae) Larvae. Journal of Agricultural Science Technollogy, 12: 13-21.