Iranian Journal of Forest and Poplar Research Vol. 32 No. 4, 2025
Vol. 32, No. 4, Page 355-372 (2025) DOI: 10.22092/ijfpr.2024.365471.2158

Efficacy of indigenous entomopathogenic fungi isolates in controlling the oak moth (*Porthesia melania* Stgr. (Lepidoptera: Lymantriidae))

M. Alinejad [1], S.M. Zamani [2*], S. Farahani [3] and R. Gholami Ghavamabad [1]

1- Researcher, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
2*- Corresponding author, Assistant Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran. Email: mzamani@rifr-ac.ir
3- Assistant Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Received: 15.04.2024 Accepted: 01.07.2024

Abstract

Background and objectives: The oak moth, *Porthesia melania* Stgr. (Lepidoptera: Lymantriidae), is a destructive pest of oak trees in Iran. The first and second instar larvae feed on the upper surface of leaves, while most damage is caused by the fourth and fifth instar larvae, which consume entire leaves. Chemical control methods have several disadvantages, including environmental harm. Biological control using entomopathogens offers an environmentally friendly alternative to chemical pesticides. *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin and *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin are two of the most important fungi used in pest control. This study investigates the efficacy of indigenous isolates of *B. bassiana* and *M. anisopliae* against *P. melania*.

Material and Methods: In May 2022, leaves of Iranian oak (*Quercus brantii* Lindl.) infected with *P. melania* eggs were collected from an oak forest in Markazi Province, Iran, and transferred to plastic containers (17×25×6 cm^3) with net-covered lids for aeration. They were kept in an incubator at 25±2°C and 60±5% relative humidity with a 16 h L:8 h D photoperiod. Before conducting bioassay tests, conidial viability was determined. The susceptibility of second instar P. melania larvae to three isolates of entomopathogenic fungi, *B. bassiana* (BG and B2) and *M. anisopliae* (M1), was assessed using five concentrations (10^4, 10^5, 10^6, 10^7, and 10^8 conidia/mL) and a control treatment via immersion and spraying methods under laboratory conditions. Three replicates were used for each treatment, and the entire experiment was repeated four times. Statistical analysis was performed using Analysis of Variance (SAS Institute, Version 9.4). LC_{50}, LC_{90}, LT_{50}, and LT_{90} values were compared using the LDR (Likelihood Difference Ratio) method.

Results: The mean viability of conidia for all *B. bassiana* and *M. anisopliae* isolates ranged from 95% to 99%. Mortality in the control group was very low, with no fungal growth observed. The three strains (BG and B2 of *B. bassiana* and M1 of *M. anisopliae*) differed significantly in virulence but caused high mortality (over 78%) at the highest dose in both bioassay methods. Applying 10^8 conidia/mL of BG resulted in the highest mortality (100%), while M1 caused the lowest (78%). Notably, BG's mortality was significantly higher than that of other isolates in both methods. The mean lethal concentration values (LC_{50}) for BG, B2, and M1 were 6.74×10^3, 7.37×10^3, and 2.62×10^4 conidia/mL (immersion method) and 1.33×10^4, 3.45×10^4, and 5.59×10^6 conidia/mL (spraying method) 96 hours post-treatment, respectively. The calculated LT_{50} values using 10^8 conidia/mL for each isolate (BG, B2, and M1) on second instar larvae were 24.94, 32.12, and 36.54 hours (immersion method) and 30.73, 31.67, and 45.57 hours (spraying method), respectively.

Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (https://ijfpr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Conclusion: This research demonstrates that indigenous isolates of *B. bassiana*, particularly BG, are effective in controlling the oak moth (*P. melania*). BG exhibited significant virulence, causing 100% mortality at the highest concentration in both immersion and spraying methods. The larval immersion method was the most effective treatment. The environmentally friendly nature of entomopathogenic fungi makes them a promising alternative to chemical pesticides for managing P. melania populations. Fungal activities play a crucial role in stabilizing insect population dynamics in natural ecosystems. This study provides valuable insights into sustainable pest control strategies, highlighting the potential of the BG isolate from *B. bassiana* in biological control programs against oak moth infestations.

Keywords: *Beauveria bassiana*, biological control, *Metarhizium anisopliae*, Zagros forests.

Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (https://ijfpr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

ارزیابی کارایی جدایه‌های بومی قارچ‌های بیمارگر حشرات در مهار پروانه برگ‌خوار گزنده بلوط (*Porthesia melania* Stgr. (Lepidoptera: Lymantriidae))

مرضیه علی‌نژاد [۱]، سیده معصومه زمانی [۲*]، سمیرا فراهانی [۳] و ریحانی غلامی قوام‌آباد [۱]

۱- محقق، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

۲*- نویسنده مسئول، استادیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

پست الکترونیک: mzamani@rifr-ac.ir

۳- استادیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۴/۱۱

چکیده

سابقه و هدف: پروانه گزنده بلوط (*Porthesia melania* Stgr. (Lepidoptera: Lymantriidae)) یکی از آفات مخرب درختان بلوط در ایران است. لاروهای سن‌های اول و دوم این آفت از پارانشیم سطح رویی برگ تغذیه می‌کنند. بیشترین خسارت توسط لاروهای سن‌های چهارم و پنجم ایجاد می‌شود که از کل پارانشیم برگ تغذیه می‌کنند. کاربرد روش‌های کنترل شیمیایی برای مدیریت جمعیت آفات مهاجم جنگل دارای معایب متعددی ازجمله ایجاد اختلالات محیط‌زیستی است. کنترل زیستی آفات با استفاده از بیمارگرهای حشرات به‌عنوان روشی سازگار با محیط‌زیست وجایگزین آفت‌کش‌های شیمیایی به‌کار برده می‌شود. دو گونه *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin و *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin از مهم‌ترین و پرکاربردترین قارچ‌های بیمارگر حشرات هستند. هدف از این پژوهش، ارزیابی پتانسیل جدایه‌های بومی این بیمارگرها در کنترل جمعیت پروانه *P. melania* بود.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش در خردادماه سال ۱۴۰۱، برگ‌های بلوط ایرانی (*Quercus brantii* Lindl.) حاوی دسته‌های تخم شب‌پره گزنده بلوط از ذخیره‌گاه جنگلی بلوط سرسختی واقع در استان مرکزی جمع‌آوری شد. آن‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه در اتاقک رشد داخل ظرف‌های سترون پلاستیکی به ابعاد ۶×۲۵×۱۷ سانتی‌متر مکعب مجهز به درپوش توری در دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۰ درصد و دوره نوری ۸:۱۶ ساعت (روشنایی:تاریکی) نگه‌داری شدند. از دو جدایهٔ بومی قارچ *B. bassiana* (BG و B2) و یک جدایه قارچ *M. anisopliae* (M1) برای انجام این پژوهش استفاده شد. پیش از انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی و به‌منظور اطمینان از کیفیت مطلوب کنیدیوم‌ها، زنده‌مانی آن‌ها با محاسبه درصد جوانه‌زنی اندازه‌گیری شد. سپس، جدایه‌های قارچی در پنج غلظت شامل 10^4، 10^5، 10^6، 10^7 و 10^8 کنیدیوم بر میلی‌لیتر تهیه شدند. به‌منظور انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی و ارزیابی بیماری‌زایی هریک از جدایه‌های قارچی، دو روش غوطه‌وری لارو و پاشش مستقیم به‌کاربرده شد. در هر آزمون زیست‌سنجی، سه تکرار برای هر تیمار در نظر گرفته شد و کل آزمایش چهار مرتبه تکرار شد. همچنین، تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS (نسخه ۹/۴) انجام شد. مقادیر LC_{50}، LC_{90}، LT_{50} و LT_{90} با استفاده از روش LDR (Likelihood Difference Ratio) مقایسه شدند.

Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (https://ijfpr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

نتایج: میانگین زنده‌مانی کنیدیوم‌ها در همه جدایه‌های م/ورد آزمایش از ۹۵ تا ۹۹ درصد متغیر بود. نتایج حاصل از تجزیه آماری آزمایش‌های زیست‌سنجی با استفاده از آزمون فاکتوریل در قالب طرح پایه کامل تصادفی نشان داد که در دو روش غوطه‌وری لارو و پاشش مستقیم، اختلاف معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۹ درصد بین تیمارهای قارچی مورد استفاده و غلظت‌های به‌کاررفته در هر آزمایش وجود دارد. اثرات متقابل آن‌ها نیز در سطح اطمینان ۹۹ درصد، معنی‌دار بودند. میزان بیماری‌زایی این سه جدایه به‌طور معنی‌داری با یکدیگر متفاوت بود، اما بیشترین غلظت ($۱۰^{۸}$ کنیدیوم در میلی‌لیتر) از هر سه جدایه سبب مرگ‌ومیر بیشتر از ۷۸ درصد از لاروها در هر دو روش زیست‌سنجی شد. غلظت $۱۰^{۸}$ کنیدیوم در میلی‌لیتر جدایه BG به بیشترین (صددرصد) و جدایه M1 به کمترین (۷۸ درصد) مرگ‌ومیر منجر شد. مرگ‌ومیر غلظت‌های مختلف جدایه BG به‌طور قابل توجهی بیشتر از جدایه‌های دیگر در هر دو روش زیست‌سنجی بود. مقادیر LC_{50} جدایه‌های BG، B2 و M1 به‌ترتیب $۶/۷۴\times۱۰^{۳}$، $۷/۳۷\times۱۰^{۳}$ و $۲/۶۳\times۱۰^{۴}$ کنیدیوم در میلی‌لیتر (روش غوطه‌وری لارو) و $۱/۳۳\times۱۰^{۴}$، $۳/۴۵\times۱۰^{۶}$ و $۵/۵۹\times۱۰^{۶}$ کنیدیوم در میلی‌لیتر (روش پاشش مستقیم) بودند. همچنین، LT_{50} جدایه‌های BG، B2 و M1 با استفاده از غلظت $۱۰^{۸}$ کنیدیوم روی سن دوم پروانه به‌ترتیب ۲۴/۹۴، ۳۲/۱۲ و ۳۶/۵۴ ساعت (روش غوطه‌وری لارو) و ۳۰/۷۳، ۳۱/۶۷ و ۴۵/۵۷ ساعت (روش پاشش مستقیم) بود.

نتیجه‌گیری کلی: براساس نتایج به‌دست‌آمده، اختلاف معنی‌داری بین جدایه‌های قارچی مورد آزمایش ازنظر بیماری‌زایی وجود داشت. پروانه برگ‌خوار گزنده بلوط به جدایه بومی BG از قارچ بیمارگر *B. bassiana* حساسیت بیشتری داشت و این جدایه، بیماری‌زایی و زهرآگینی زیادی نشان داد. همچنین، روش غوطه‌وری لاروی، بهترین روش تیمار لاروی بود. باتوجه‌به کاربرد موفقیت‌آمیز فرمولاسیون‌های مختلفِ قارچ *B. bassiana* روی آفات برگ‌خوار راسته Lepidoptera در جنگل‌های کشورهای مختلف، نتایج پژوهش پیش‌رو می‌تواند زمینه‌ساز توسعه فناوری مورد نیاز به‌منظور استفاده از جدایه BG از قارچ بیمارگر *B. bassiana* در کنترل این آفت مخرب درختان بلوط ایرانی باشد.

واژه‌های کلیدی: جنگل‌های زاگرس، کنترل بیولوژیک، *Beauveria bassiana*، *Metarhizium anisopliae*.

مقدمه

جنگل‌های زاگرس با وسعتی در حدود چهار میلیون و ۷۴۹ هزار هکتار، به‌عنوان گسترده‌ترین جنگل‌های ایران، دارای جایگاه ویژه‌ای در توسعه اقتصادی و تضمین‌کننده بقا و پایداری آب و خاک کشور هستند (Amini *et al.*, 2008; Beygi Heidarlou *et al.*, 2019). جنس بلوط (*Quercus* L. (Fagaceae)) یکی از متنوع‌ترین گروه‌های درختانِ مناطق معتدل با حدود ۶۰۰ گونه پراکنده در سراسر جهان است (Coombs, 1999). از میان گونه‌های این جنس، *Q. brantii* Lindl. به‌نام‌های بلوط ایرانی، بلوط غرب و بلوط زاگرس شهرت یافته است (Sabeti, 1994). بلوط ایرانی از مهم‌ترین گونه‌های بلوط ازنظر وسعت پراکندگی در ایران به‌شمار می‌آید (Samimi *et al.*, 2023; Khajei *et al.*, 2023) که علت آن به انعطاف‌پذیری و سازگاری زیاد این درخت به شرایط اقلیمی و خاکی برمی‌گردد (Molaee *et al.*, 2022).

آفات متعددی روی درختان بلوط ایرانی فعالیت می‌کنند. ازجمله مهم‌ترین آن‌ها می‌توان به شب‌پره برگ‌خوار گزنده بلوط (*Porthesia melania* Stgr. (Lepidoptera: Lymantriidae)) اشاره کرد (Hosseinia, 1993). شب‌پره برگ‌خوار گزنده بلوط در ایران برای اولین‌بار در سال ۱۳۵۲ توسط عبایی و میرزایانس گزارش شد (Behdad, 2002). لاروهای سن‌های اول و دوم این آفت از پارانشیم سطح رویی برگ

Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (https://ijfpr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

تغذیه می‌کنند. با افزایش سن لاروی، شدت تغذیه بیشتر می‌شود و خسارت وارده افزایش می‌یابد. بیشترین خسارت کمی توسط لاروهای سن‌های چهارم و پنجم ایجاد می‌شود که با آرواره‌های قوی‌تر از کل پارانشیم برگ تغذیه می‌کنند و فقط رگ‌برگ اصلی را باقی می‌گذارند (Mohammadi *et al.*, 2014). در حالت طغیانی، درختان عاری از برگ می‌شوند. با از بین رفتن منابع تأمین‌کننده انرژی، درختان به‌تدریج ضعیف می‌شوند و مستعد حمله آفات چوب‌خوار و پوست‌خوار می‌شوند. این آفت هر چند سال یک‌بار حالت طغیانی پیدا می‌کند و خسارت‌های جبران‌ناپذیری به درختان بلوط وارد می‌کند (Farahani *et al.*, 2023).

کاربرد روش‌های کنترل شیمیایی به‌منظور مدیریت جمعیت آفات مهاجم جنگل دارای معایب متعددی ازجمله ایجاد اثرات مخرب و اختلالات محیط‌زیستی است (Prospero *et al.*, 2021). استفاده از راهکارهای کنترل زیستی (Biological control) ازنظر محیط‌زیستی، کم‌خطر و پایدارتر است (Klapwijk *et al.*, 2016)، بنابراین کنترل زیستی آفات و عوامل بیماری‌زا به یک جزء ضروری از شیوه‌های مدیریت جنگل تبدیل شده است (Prospero *et al.*, 2021). یکی از روش‌های کنترل زیستی، استفاده از بیمارگرهای حشرات به‌عنوان عواملی میکروبی است که به‌طور طبیعی در محیط‌زیست حضور دارند. در پژوهش‌های متعددی، پتانسیل عوامل میکروبی حشرات در کنترل موفق گونه‌های مختلف آفات جنگل در شرایط آزمایشگاهی و صحرایی بررسی و گزارش شده است. باکتری بیمارگر *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (*Btk*) یکی از این عوامل میکروبی است که به‌طور گسترده در کنترل چندین گونه آفت مهاجم راسته Lepidoptera در جنگل ازجمله پروانه ابریشم‌باف ناجور (*Lymantria dispar* (L.) (Lep., Lymantridae)) استفاده شده است (Tobin & Blackburn, 2007). همچنین، براساس پژوهش Hajek و همکاران (۲۰۱۶) نوکلئوپلی‌هدروویروس (LdMNPV) عامل اصلی کنترل جمعیت شب‌پره ابریشم‌باف ناجور (*L. dispar*) در حالت طغیانی در آمریکای شمالی طی سال‌های متمادی بوده است.

در ایران، Gholami Ghavamabad و همکاران (۲۰۲۱) اثربخشی و پتانسیل جدایة بومی نماتد بیمارگر *Oscheius myriophilus* (Poinar, 1986) (Rhabditida: Rhabditidae) در کنترل دو آفت مهاجم جنگل *Cydalima perspectalis* (Walker, 1859) (Lep., Crambidae) و *Hyphantria cunea* (Drury, 1773) (Lep., Erebidae) را در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند. نتایج پژوهش آن‌ها، کارایی جدایة بومی نماتد *O. myriophilus* به‌منظور کنترل زیستی این دو آفت در شرایط آزمایشگاهی را نشان داد.

در بین عوامل کنترل میکروبی آفات، قارچ‌های بیمارگر حشرات (Entomopathogenic Fungi) به‌دلیل توانایی بیماری‌زایی در طیف وسیعی از آفات و نیز بهره‌گیری از سازوکارهای مختلف به‌منظور فرار از سیستم ایمنی میزبان، جایگزین طبیعی آفت‌کش‌های شیمیایی هستند (Imoulan *et al.*, 2017; Mc Namara *et al.*, 2018). این قارچ‌ها از طریق کوتیکول به میزبان حمله می‌کنند. کنیدیوم‌ها پس از اتصال به حشره حساس متورم می‌شوند. سپس، تندش کرده و لوله تندش و ساختار اپرسوریوم را تشکیل می‌دهند. درنهایت، قارچ با استفاده از فعالیت مکانیکی و آنزیمی به کوتیکول حشره رخنه می‌کند (Michalaki *et al.*, 2006).

ازجمله قارچ‌های بیمارگر حشرات که به‌طور گسترده بررسی شده‌اند و در مقیاس تجاری در بسیاری از کشورها استفاده می‌شوند، می‌توان به دو گونه *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin و *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin اشاره کرد (Khan *et al.*, 2012; Mc Namara *et al.*, 2018). براساس پژوهش‌های انجام‌شده، کاربرد قارچ‌های بیمارگر *B. bassiana* و *M. anisopliae* در مهار برخی آفات مهم و مخرب جنگل موفقیت‌آمیز بوده است (Liu & Bauer,

Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (https://ijfpr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

2006; Li, 2007; Zhang *et al*., 2011; Wang & Feng, 2014). در ایران، کاربرد جدایه‌های بومی قارچ‌های بیمارگر *B. bassiana* روی شب‌پره شمشاد *C. perspectalis* در شرایط آزمایشگاهی و صحرایی نشان‌دهنده حساسیت این حشره به جدایه‌های مورد آزمایش بود (Zamani *et al*., 2023).

پروانه *P. melania* به‌عنوان یکی از آفات مهاجم و مهم جنگل‌های بلوط زاگرس، هر چند سال یک‌بار حالت طغیانی پیدا می‌کند و قابلیت خسارت‌زایی زیادی دارد (Farahani *et al*., 2023). مدیریت کنترل این حشره با استفاده از عوامل کنترل زیستی ازجمله قارچ‌های بیمارگر حشرات به‌عنوان روشی کارآمد و پایدار می‌تواند سبب کاهش جمعیت این آفت و درنتیجه، کاهش خسارت‌های ناشی از آن شود. باتوجه‌به اینکه تاکنون پژوهشی در زمینهٔ راهبردهای زیستی کنترل جمعیت این حشره انجام نشده است، در پژوهش پیش‌رو، تأثیر برخی جدایه‌های بومی دو قارچ بیمارگر حشرات شامل *B. bassiana* و *M. anisopliae* در شرایط آزمایشگاهی روی پروانه برگ‌خوار گزنده بلوط ارزیابی شد. هدف از این پژوهش، ارزیابی پتانسیل این بیمارگرها در کنترل جمعیت پروانه *P. melania* به‌عنوان گام نخست در توسعه آفت‌کش‌های زیستی است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری حشره میزبان

ذخیره‌گاه جنگلی بلوط سرسختی به‌عنوان تنها منطقه واجد گونه جنگلی بلوط ایرانی روی تپه سرخ در جوار روستای سرسختی در مرکز کشور و در استان مرکزی قرار گرفته است. هم‌اکنون، این منطقه به‌عنوان تنها ذخیره‌گاه جنگلی بلوط استان مرکزی تحت حفاظت اداره کل منابع طبیعی و آبخیزداری این استان قرار دارد. مساحت این ذخیره‌گاه جنگلی ۲۱۰ هکتار است که ۲۰ هکتار آن دارای پوشش جنگلی بلوط است (Bayat *et al*., 2009). درختان بلوط در شیب شمالی و در بین سنگ‌ها روئیده‌اند. ذخیره‌گاه جنگلی سرسختی در مختصات جغرافیایی ′۲۰ °۴۹ طول شرقی و ′۵۰ °۳۳ عرض شمالی قرار دارد. بیشینه و کمینه ارتفاع از سطح دریای این منطقه به‌ترتیب ۲۱۴۰ و ۲۳۸۰ متر است. Farahani و همکاران (۲۰۲۳) با مشاهده علائم خسارت در ذخیره‌گاه سرسختی، لاروهای آفت را جمع‌آوری کردند و در شرایط آزمایشگاه پرورش دادند. پس از ظهور حشرات کامل، پروانه گزنده بلوط *P. melania* برای اولین‌بار از ذخیره‌گاه جنگلی سرسختی استان مرکزی گزارش شد.

در خردادماه سال ۱۴۰۱، برگ‌های بلوط ایرانی (*Q. brantii*) حاوی دسته‌های تخم شب‌پره برگ‌خوار گزنده بلوط (*P. melania*) از این منطقه جمع‌آوری شدند. آن‌ها در آزمایشگاه در اتاقک رشد داخل ظرف‌های سترون پلاستیکی به ابعاد ۶×۲۵×۱۷ سانتی‌متر مکعب مجهز به درپوش توری در دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۰ درصد و دوره نوری ۸:۱۶ ساعت (روشنایی:تاریکی) نگه‌داری شدند. روزانه، برگ‌های تازه بلوط، جایگزین برگ‌های مصرف‌شده می‌شد و فضولات لاروی نیز پاک‌سازی می‌شد.

جدایه‌های قارچ‌های بیمارگر

در آزمایش‌ها، دو جدایه بومی قارچ *B. bassiana* (شامل جدایهٔ B2 جداسازی‌شده از لاروهای شب‌پره شمشاد روی درختچه‌های شمشاد جنگلی (*Buxus sempervirens* L.) استان مازندران و جدایه BG جداسازی‌شده از لاروهای شب‌پره برگ‌خوار سفید بلوط روی درختان بلوط استان فارس) و نیز جدایهٔ بومی قارچ *M. anisopliae* (جدایهٔ M1 جداسازی‌شده از لاروهای شب‌پره برگ‌خوار سفید بلوط روی درختان بلوط استان فارس) استفاده شد (جدول ۱).

Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (https://ijfpr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

جدول ۱- مشخصات جدایه‌های قارچی مورد استفاده در مدیریت کنترل پروانه برگ‌خوار گزنده بلوط

Table 1. Information about the fungal isolates evaluated in the present study for the management of *Porthesia melania*

Fungal species	Isolates	Host or source of origin	Site of origin	Year of isolation
Beauveria bassiana	B2	*Cydalima perspectalis* (Lepidoptera: Crambidae)	Mazandaran, Iran	2019
	BG	*Leucoma wiltshirei* (Lepidoptera: Erebidae)	Fars, Iran	2021
Metarhizium anisopliae	M1	*Leucoma wiltshirei* (Lepidoptera: Erebidae)	Fars, Iran	2021

کشت جدایه‌های قارچ

پیش از انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی و به‌منظور اطمینان از کیفیت مطلوب کنیدیوم‌ها، زنده‌مانی آن‌ها با محاسبه درصد جوانه‌زنی اندازه‌گیری شد. ابتدا جدایه‌های قارچی مورد مطالعه روی محیط کشت SDA+Y (Sabouraud dextrose agar+yeast (2%)) در تشتک پتری کشت شدند. پس از گذشت ۱۴ روز، کنیدیوم‌های تشکیل‌شده روی سطح تشتک پتری برداشته شدند و به آب مقطر سترون حاوی ۰/۰۵ درصد توین ۸۰ اضافه شدند. سوسپانسیون حاصل پس از عبور از کاغذ صافی سترون، در لوله‌های فالکون سترون ۱۰ میلی‌لیتری ریخته شدند و با استفاده از دستگاه ورتکس به‌طور کامل یکنواخت شدند. شمارش کنیدیوم‌ها با استفاده از لام گلبول‌شمار (هماسیتومتر) (Neubauer, 25.4 x 76.2 x 1 mm, catalog number: 7102) و میکروسکوپ نوری (Olympus x40) انجام گرفت. با رقیق کردن سوسپانسیون، غلظت اولیه 10^7 کنیدیوم در میلی‌لیتر به‌دست آمد (Lacey *et al*., 2009). میزان جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها با مه‌پاشی دو میلی‌لیتر از سوسپانسیون حاوی 10^7 کنیدیوم در میلی‌لیتر قارچ‌های *B. bassiana* و *M. anisopliae* با استفاده از افشانه دستی روی تشتک پتری حاوی محیط کشت SDA+Y (Sabouraud dextrose agar+yeast (2%)) تعیین شد. سپس، تشتک‌های پتری در دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگه‌داری شدند. پس از ۱۶ ساعت، جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها با میکروسکوپ نوری (بزرگ‌نمایی ۱۰۰) مشاهده شد. به‌منظور محاسبه درصد جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها، هر تشتک پتری به چهار ناحیه تقسیم شد. تعداد کنیدیوم‌های جوانه‌زده و تعداد کل کنیدیوم‌ها در هر ناحیه شمارش و محاسبه شد. به‌دلیل سرعت کمتر جوانه‌زنی جدایه‌های قارچی *B. bassiana*، درصد جوانه‌زنی جدایه‌های BG و B2 به‌ترتیب ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از کشت نیز بررسی شد. باتوجه‌به زنده‌مانی زیاد (۹۵ تا ۹۹ درصد) همه جدایه‌های قارچی مورد استفاده در آزمایش، تعداد کنیدیوم‌ها در هر میلی‌لیتر سوسپانسیون و تعداد کنیدیوم‌های زنده در هر میلی‌لیتر با یکدیگر یکسان بودند. همچنین، به‌منظور انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی از کشت‌های ۱۰ روزه جدایه‌های قارچی روی محیط SDA+Y (Sabouraud dextrose agar+yeast (2%)) استفاده شد.

زیست‌سنجی

ابتدا آزمایش‌های مقدماتی با استفاده از طیف وسیعی از غلظت‌های (10^2، 10^3، 10^4، 10^5، 10^6، 10^7، 10^8 و 10^9 کنیدیوم بر میلی‌لیتر) هریک جدایه‌های قارچی روی لاروهای سن دوم پروانه گزنده بلوط انجام شد. سپس، غلظت‌هایی از قارچ‌های بیمارگر که به مرگ‌ومیر بین ۲۵ تا ۷۵ درصد لاروها منجر شدند، انتخاب شدند (10^4، 10^5، 10^6، 10^7 و 10^8 کنیدیوم بر میلی‌لیتر) و در آزمایش‌های زیست‌سنجی استفاده شدند. همچنین، به‌منظور انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی و ارزیابی بیماری‌زایی هریک از جدایه‌های قارچی از دو روش غوطه‌وری لارو (Abaajeh & Nchu, 2015) و پاشش مستقیم (Gholami Ghavamabad *et al*., 2023) استفاده شد.

۱) روش غوطه‌وری لارو

جدایه‌های قارچی در پنج غلظت شامل 10^4، 10^5، 10^6، 10^7 و 10^8 کنیدیوم بر میلی‌لیتر تهیه شدند. ۳۰ عدد از

Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (https://ijfpr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

لاروهای سن دوم پروانه گزنده بلوط به مدت ۱۰ ثانیه در دو میلی‌لیتر سوسپانسیون کنیدیوم غوطه‌ور شدند. در تیمار شاهد، لاروها در آب مقطر سترون به‌همراه ۰/۰۵ درصد توین ۸۰ غوطه‌ور شدند. لاروهای تیمارشده در تشتک پتری‌هایی به قطر نُه سانتی‌متر با دیواره‌های کناری سوراخ‌دار قرار داده شدند و در انکوباتور با دمای ۲± ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۰ درصد و دوره نوری ۸:۱۶ ساعت (روشنایی:تاریکی) به‌همراه برگ بلوط ایرانی نگه‌داری شدند. آزمایش چهار مرتبه تکرار شد. مرگ‌ومیر لاروها تا شش روز (۱۴۴ ساعت) پس از تیمار ثبت شد. به‌منظور تعیین علت مرگ‌ومیر، لاروهای مرده بلافاصله پس از جداسازی با اتانول ۷۰ درصد ضدعفونی سطحی شدند و روی کاغذ صافی سترون مرطوب در تشتک پتری قرار داده شدند. سپس، لاروها در دمای ۲± ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۹۰ درصد در تاریکی انکوبه شدند. پس از ۷۲ ساعت با مشاهده هیف‌های قارچی زیر استریومیکروسکوب، نمونه‌برداری روی لام و مشاهده‌های تکمیلی با میکروسکوپ نوری انجام شد (Abaajeha & Nchu, 2015).

۲) روش پاشش مستقیم

۳۰ عدد لارو سن دوم متعلق به پروانه برگ‌خوار گزنده بلوط به ظرف‌های پلاستیکی مستطیلی به ابعاد ۲×۸×۵ سانتی‌متر مکعب با استفاده از قلم‌مو منتقل شدند. روی درب هریک از ظرف‌ها، سوراخ‌های ریزی ایجاد شد و با توری نازک پوشانده شدند. به‌منظور جذب رطوبت اضافی در هنگام پاشش، در کف هر ظرف یک لایه کاغذ صافی سترون قرار داده شد. ده میلی‌لیتر از هر غلظت (10^4، 10^5، 10^6، 10^7، 10^8 کنیدیوم بر میلی‌لیتر) با استفاده از یک افشانه دستی با فاصله ۱۵ سانتی‌متر روی ۳۰ عدد از لاروهای موجود در هریک از ظرف‌ها مه‌پاشی شد (Malarvannan *et al.*, 2010). لاروهای شاهد با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون به‌همراه ۰/۰۵ درصد توئین ۸۰ تیمار شدند. در هر آزمون زیست‌سنجی، سه تکرار برای هر تیمار در نظر گرفته شد و کل آزمایش، چهار مرتبه تکرار شد. لاروهای تیمارشده در دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۶۰ درصد نگه‌داری شدند و روزانه برگ‌های تازه بلوط در هریک از ظرف‌ها قرار داده شد. مرگ‌ومیر لاروها به‌صورت روزانه و تا شش روز (۱۴۴ ساعت) ثبت شد. به‌منظور تعیین علت مرگ‌ومیر، لاروهای مرده با اتانول ۷۰ درصد ضدعفونی سطحی شدند و در دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۹۰ درصد در تاریکی انکوبه شدند.

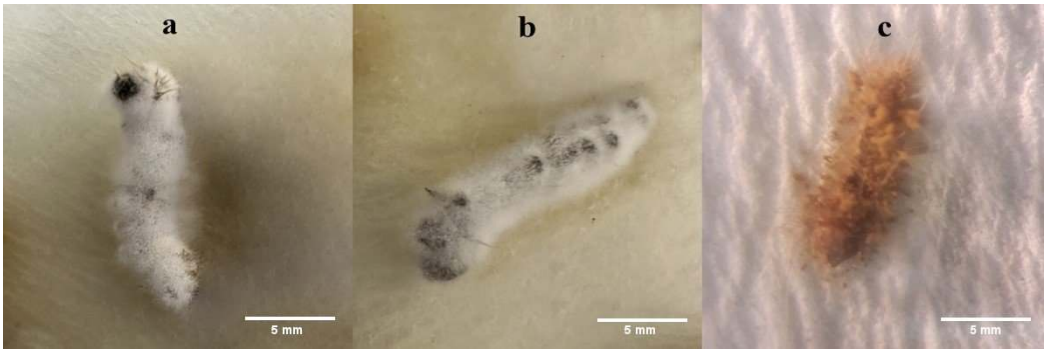
تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های مرگ‌ومیر با استفاده از فرمول Abbot تصحیح شدند (Abbot, 1925). همچنین، داده‌های مربوط به دو روش غوطه‌وری لارو و پاشش مستقیم به‌صورت مستقل و با استفاده از آزمون فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با نرم‌افزار SAS (Version 9.4) تجزیه و تحلیل شدند. مقادیر LC_{50}، LC_{90}، LT_{50} و LT_{90} توسط نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۴) محاسبه شدند (SAS, 2013). مقادیر آن‌ها با استفاده از روش LDR (Likelihood Difference Ratio) مقایسه شدند (SAS، نسخه ۹/۴).

نتایج

میانگین زنده‌مانی کنیدیوم‌ها در همه جدایه‌های مورد آزمایش از ۹۵ تا ۹۹ درصد متغیر بود. آزمایش‌های زیست‌سنجی آزمایشگاهیِ سه جدایه بومی قارچ‌های بیمارگر حشرات *B. bassiana* و *M. anisopliae* روی لاروهای سن دوم پروانه برگ‌خوار گزنده بلوط نشان داد که هر سه جدایه قارچ بیمارگر می‌توانند حشره مذکور را آلوده کنند و علائم بیماری‌زایی را نشان دهند (شکل ۱).

Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (https://ijfpr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



شکل ۱- لاروهای پروانه برگ‌خوار گزنده بلوط (***Porthesia melania***) آلوده‌شده با غلظت 10^8 جدایه‌های قارچ‌های ***Beauveria bassiana*** ((a) جدایه BG و (b) جدایه B2) و ***Metarhizium anisopliae*** ((c) جدایه M1)

Figure 1. Infected larvae of *Porthesia melania* with a 10^8 concentration of *Beauveria bassiana* ((a) BG isolate and (b) B2 isolate) and *Metarhizium anisopliae* ((c) M1 isolate)

نتایج حاصل از تجزیه آماری آزمایش‌های زیست‌سنجی در قالب آزمون فاکتوریل در طرح پایه کامل تصادفی نشان داد که در دو روشِ غوطه‌وری لارو و پاشش مستقیم، اختلاف معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۹ درصد بین تیمارهای قارچی مورد استفاده و غلظت‌های به‌کاررفته در هر آزمایش وجود دارد. اثرات متقابل آن‌ها نیز در سطح اطمینان ۹۹ درصد معنی‌دار بودند (جدول‌های ۲ و ۳).

جدول ۲- نتایج آزمون تجزیه واریانس تأثیر غلظت‌های کشندگی جدایه‌های قارچ‌های *Beauveria bassiana* و *Metarhizium anisopliae* روی لارو سن دوم پروانه برگ‌خوار گزنده بلوط (*Porthesia melania*) به‌روش غوطه‌وری لارو (۱۴۴ ساعت پس از آلودگی)

Table 2. Analysis of variance results for *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates on the second instar larvae of *Porthesia melania* using the immersion method (6 days after inoculation)

Source	Df	Sum of squares	Mean square	F value	Pr>F
Model	17	230.95	13.85	1579.53	<0.0001
Error	54	0.46	0.0086	-	-
Corrected total	71	231.42	-	-	-
Isolate	2	5.7	2.85	331.89	<0.0001
Concentration	5	223.96	44.79	5207.78	<0.0001
Isolate × Concentration	10	1.28	0.12	14.93	<0.0001

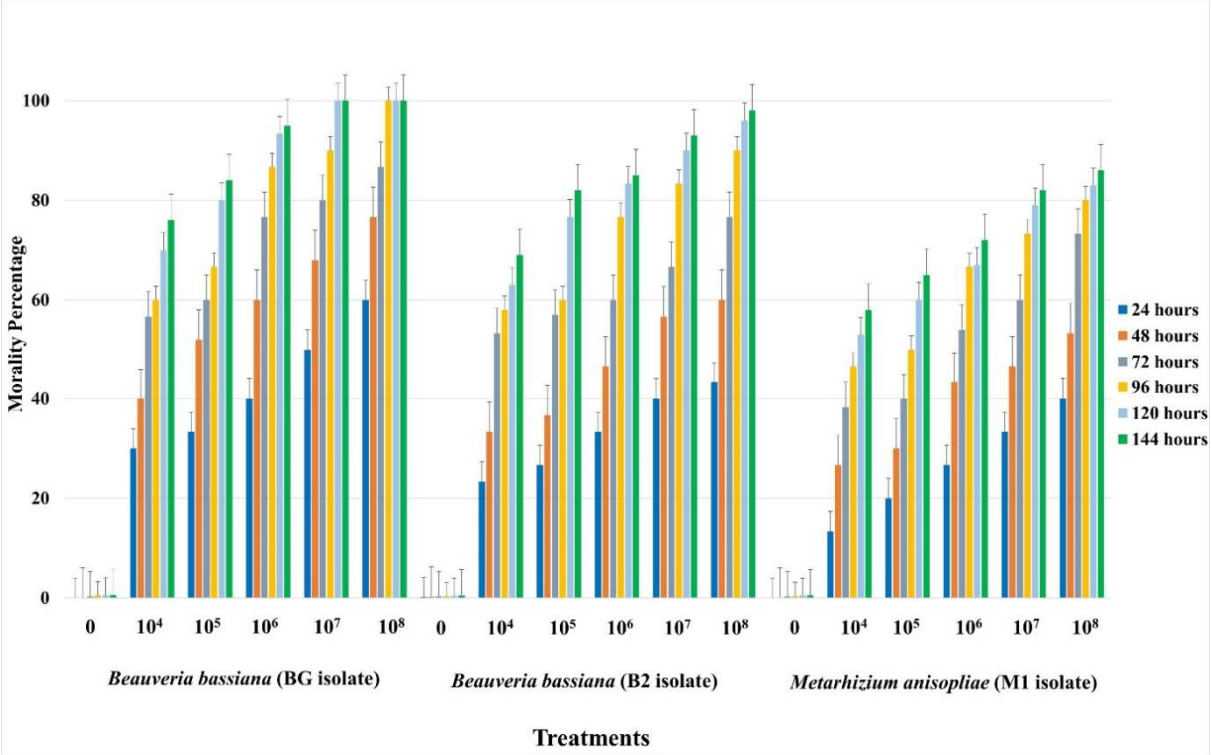
جدول ۳- نتایج آزمون تجزیه واریانس تأثیر غلظت‌های کشندگی جدایه‌های قارچ‌های *Beauveria bassiana* و *Metarhizium anisopliae* روی لارو سن دوم پروانه برگ‌خوار گزنده بلوط (*Porthesia melania*) به‌روش پاشش مستقیم (۱۴۴ ساعت پس از آلودگی)

Table 3. Analysis of variance results for *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates on the second instar larvae of *Porthesia melania* using the direct spraying method (6 days after inoculation)

Source	Df	Sum of squares	Mean square	F value	Pr>F
Model	17	253.25	14.89	2236.4	<0.0001
Error	54	0.35	0.0066	-	-
Corrected total	71	253.61	-	-	-
Isolate	2	2.5	1.25	188.12	<0.0001
Concentration	5	250.12	50.02	7508.65	<0.0001
Isolate × Concentration	10	0.619	0.06	9.3	<0.0001

Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (https://ijfpr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

نتایج نشان دادند درصد مرگ‌ومیر لاروها با افزایش غلظت کنیدیوم قارچ در جدایه‌های قارچی مورد آزمایش (BG، B2 و M1) افزایش یافت. مرگ‌ومیر در غلظت ۱×۱۰^{۸} در روش غوطه‌وری لارو به‌ترتیب ۱۰۰، ۹۸ و ۸۶ درصد و در روش پاشش مستقیم به‌ترتیب ۱۰۰، ۹۵ و ۷۸ درصد بود (شکل‌های ۲ و ۳). بیشترین درصد مرگ‌ومیر برای جدایه BG (*B. bassiana*) با صددرصد و کمترین مرگ‌ومیر برای جدایه M1 (*M. anisopliae*) با ۷۸ درصد به‌ثبت رسید. درصد مرگ‌ومیر در شاهد، بسیار کم بود و رشد قارچی روی حشرات شاهد مشاهده نشد. براساس نتایج به‌دست‌آمده در هر دو روش غوطه‌وری و پاشش مستقیم، غلظت $۱۰^{۵}$ کنیدیوم در میلی‌لیتر جدایه BG (*B. bassiana*) برای ایجاد تلفات بیشتر از ۸۰ درصد در لاروهای سن دوم *P. melania* کافی بود.

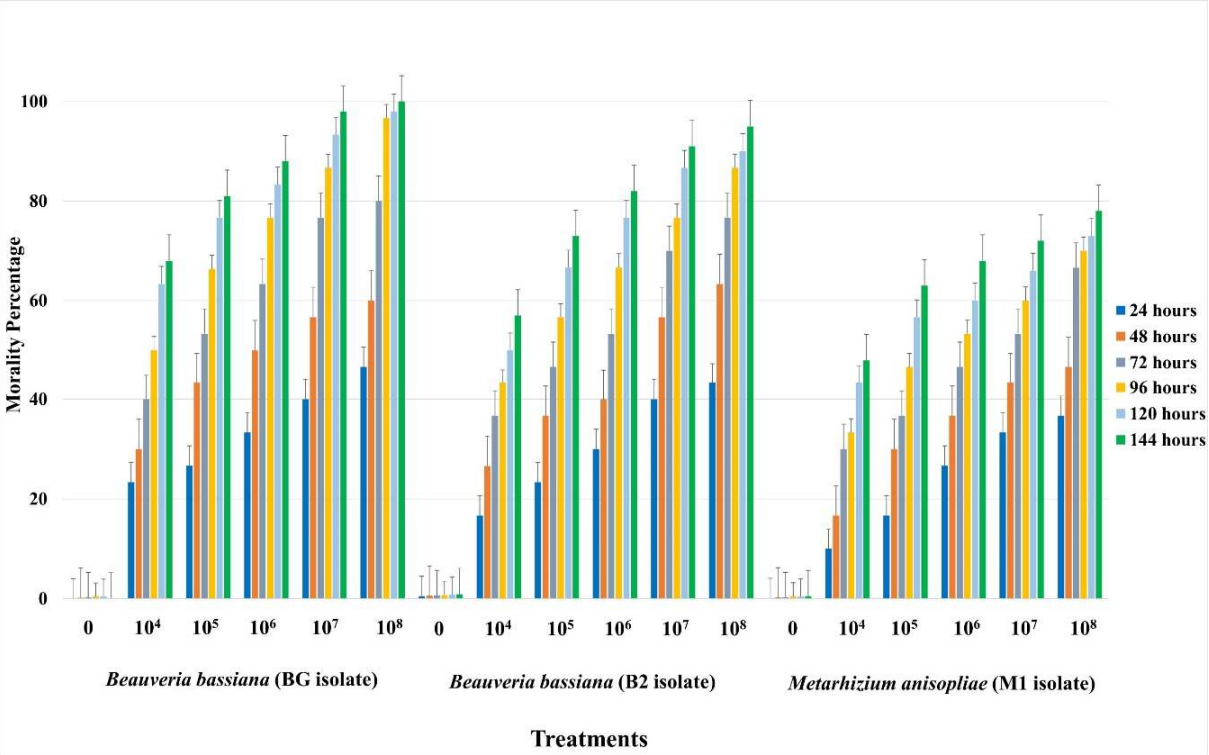


شکل ۲- درصد مرگ‌ومیر (میانگین±خطای معیار) غلظت‌های مختلف جدایه‌های قارچ‌های ***Beauveria bassiana*** و ***Metarhizium anisopliae*** بر لارو سن دوم ***Porthesia melania*** در روش غوطه‌وری لارو

غلظت‌ها: کنترل، $۱۰^{۴}$، $۱۰^{۵}$، $۱۰^{۶}$، $۱۰^{۷}$ و $۱۰^{۸}$ کنیدیوم بر میلی‌لیتر؛ زمان: ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶، ۱۲۰ و ۱۴۴ ساعت.

Figure 2. Mortality percentage (Mean ± SE) of different concentrations of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates on the second instar larvae of *Porthesia melania* using the immersion method
Concentrations: Control, 10^4, 10^5, 10^6, 10^7 and 10^8 conidia ml^{-1}; Time: 24, 48, 72, 96, 120 and 144 hours.

Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (https://ijfpr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



شکل ۳- درصد مرگ‌ومیر (میانگین±خطای معیار) غلظت های مختلف جدایه‌های قارچ‌های ***Beauveria bassiana*** و ***Metarhizium anisopliae*** بر لارو سن دوم ***Porthesia melania*** در روش پاشش مستقیم

غلظت‌ها: کنترل، 10^4، 10^5، 10^6، 10^7 و 10^8 کنیدیوم بر میلی‌لیتر؛ زمان: ۲۴، ۴۸، ۷۲، ۹۶، ۱۲۰ و ۱۴۴ ساعت.

Figure 3. Mortality percentage (Mean ± SE) of different concentrations of of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates on the second instar larvae of *Porthesia melania* using the direct spraying method

Concentrations: Control, 10^4, 10^5, 10^6, 10^7 and 10^8 conidia ml^{-1}; Time: 24, 48, 72, 96, 120 and 144 hours.

جدول ۴- غلظت‌های کشندگی محاسبه‌شده برای جدایه‌های قارچ‌های *Beauveria bassiana* و *Metarhizium anisopliae* روی لارو سن دوم *Porthesia melania* به دو روش غوطه‌وری لارو و پاشش مستقیم

Table 4. LC_{50} and LC_{90} values of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates on the second instar larvae of *Porthesia melania* using the immersion and the direct spraying methods

Fungi	Isolates Method of application	LC_{50} (Lower limit-Upper limit)	LC_{90} (Lower limit-Upper limit)	Slope ±SE	Chi-square	Pr
B. bassiana	BG-immersion	6.74×10^3 (4.31×10^2-2.59×10^4)	1.5×10^6 (4.53×10^5-1.39×10^7)	0.48±0.11	2.05	0.000
	BG-spraying	1.33×10^4 (6.53×10^2-5.98×10^4)	1.59×10^7 (3.2×10^6-4.56×10^8)	0.41±0.09	0.46	0.000
	B2-immersion	7.37×10^3 (6.67×10-4.97×10^4)	4.77×10^7 (6.23×10^6-8.61×10^9)	0.33±0.08	0.26	0.000
	B2-spraying	3.45×10^4 (8.36×10^2-1.9×10^5)	4.76×10^8 (3.56×10^7-1.09×10^9)	0.31±0.12	1.08	0.000
M. anisopliae	M1-immersion	2.62×10^4 (3.7×10-2.25×10^5)	5.81×10^9 (1.27×10^8-8.71×10^9)	0.24±0.11	2.04	0.000
	M1- spraying	5.59×10^6 (1.14×10^4-8.91×10^6)	1.06×10^9 (3.5×10^8-9.31×10^9)	0.23±0.07	0.11	0.000

مقدار محاسبه‌شده برای LC_{50} و LC_{90} جدایه‌های قارچی مورد مطالعه به دو روش پاشش مستقیم و غوطه‌وری لارو در جدول ۴ آمده است. کمترین مقدار LC_{50} محاسبه‌شده، ۹۶ ساعت پس از تیمار و به‌روش

Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (https://ijfpr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

غوطه‌وری لارو مربوط به جدایه BG (۶/۷۴ ×۱۰^{۳} کنیدیوم در میلی‌لیتر) بود. بیشترین مقدار در این روش نیز به جدایه M1 (۲/۶۲×۱۰^{۴} کنیدیوم در میلی‌لیتر) تعلق داشت. همچنین، در روش پاشش مستقیم، کمترین مقدار LC_{50} برای جدایه BG (۱/۳۳ ×۱۰^{۴} کنیدیوم در میلی‌لیتر) به‌دست آمد، درحالی‌که بیشترین مقدار در جدایه M1 (۵/۵۹ ×۱۰^{۶} کنیدیوم در میلی‌لیتر) مشاهده شد.

نتایج حاصل از محاسبه LT_{50} و LT_{90} در جدول‌های ۵ و ۶ ارائه شده است. براساس نتایج به‌دست‌آمده، با افزایش غلظت کنیدیوم قارچ‌های مورد آزمایش، زمان کشندگی کاهش یافت. در روش غوطه‌وری لارو، کمترین زمان تأثیر (LT_{50}) ۲۴/۹۸ ساعت (غلظت ۱۰^{۸} جدایه BG) و بیشترین زمان تأثیر، ۸۷ ساعت (غلظت ۱۰^{۴} جدایه M1) به‌دست آمد. همچنین، کمترین زمان تأثیر در روش پاشش مستقیم مربوط به غلظت ۱۰^{۸} جدایه BG (۳۰/۷۳ ساعت) است و بیشترین زمان در غلظت ۱۰^{۴} جدایه M1 (۱۰۲/۳ ساعت) به‌دست آمد.

جدول ۵- LT_{50} و LT_{90} محاسبه‌شده برای جدایه‌های قارچ‌های *Beauveria bassiana* و *Metarhizium anisopliae* روی لارو سن دوم *Porthesia melania* در روش غوطه‌وری لارو

Table 5. LT_{50} and LT_{90} values of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates on the second instar larvae of *Porthesia melania* using immersion method

Fungi	Isolate	Concentrations (conidia/ml)	LT_{50} (hours)	LT_{90} (hours)	Slope ±SE	Chi-square	Pr
B. bassiana	BG	10^4	57.33 (40.16-61.76)	166.6 (130.82-246)	0.11±0.01	1.89	0.000
		10^5	51.44 (40.16-61.76)	166.6 (130.82-246)	0.27±0.01	2.34	0.000
		10^6	29.18 (19.25-37.35)	89.87 (72.01-126.63)	0.34±0.09	1.63	0.000
		10^7	26.94 (17.93-34.07)	72.26 (58.27-101.93)	0.21±0.09	2.01	0.000
		10^8	24.98 (16.7-31.16)	58.53 (47.49-83.56)	0.03±0.07	1.71	0.000
	B2	10^4	70.16 (57.1-82.56)	243.51 (195.25-337.31)	0.33±0.21	1.47	0.000
		10^5	65.03 (52.23-77.13)	228.91 (180.49-329.52)	0.41±0.11	1.73	0.000
		10^6	44.2 (32.92-54.11)	149.2 (117.41-219.44)	0.32±0.07	1.48	0.000
		10^7	35.62 (25.51-44.15)	109.3 (86.97-158.46)	0.47±0.01	1.67	0.000
		10^8	32.12 (22.59-39.89)	91.22 (72.44-135.31)	0.38±0.05	1.8	0.000
M. anisopliae	M1	10^4	87 (73.64-100.02)	270.91 (222.48-358.6)	0.34±0.23	1.25	0.000
		10^5	76.24 (62.89-89.12)	259.37 (207.54-360.98)	0.24±0.11	1.45	0.000
		10^6	52.25 (40.99-62.5)	167.52 (134.79-232.72)	0.4±0.08	1.3	0.000
		10^7	45.07 (34.79-54.27)	136.53 (109.94-190.53)	0.25±0.05	1.62	0.000
		10^8	36.54 (26.11-45.36)	115.77 (91.37-171.25)	0.36±0.03	1.27	0.000

Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (https://ijfpr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

جدول ۶- LT_{50} و LT_{90} محاسبه‌شده برای جدایه‌های قارچ‌های *Beauveria bassiana* و *Metarhizium anisopliae* روی لارو سن دوم *Porthesia melania* در روش پاشش مستقیم

Table 6. LT_{50} and LT_{90} values of two *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates on the second instar larvae of *Porthesia melania* using direct spraying method

Fungi	Isolate	Concentrations (conidia/ml)	LT_{50} (hours)	LT_{90} (hours)	Slope ±SE	Chi-square	Pr
B. bassiana	BG	10^4	71.96 (59.80-83.64)	224.88 (184.2-299.11)	0.33±0.09	1.3	0.000
		10^5	54.35 (43.01-64.78)	174.1 (139.68-243.37)	0.21±0.09	1.45	0.000
		10^6	45.32 (34.71-54.79)	141.9 (113.46-201.11)	0.34±0.1	1.72	0.000
		10^7	34.76 (24.97-43.04)	103.55 (83.04-146.91)	0.21±0.07	1.75	0.000
		10^8	30.73 (21.24-38.37)	87.1 (69.28-128.66)	0.43±0.08	1.62	0.000
	B2	10^4	74.61 (48.81-98.38)	265.42 (183.39-588.71)	0.25±0.12	1.47	0.000
		10^5	64.32 (52.27-75)	208.21 (167.79-286.94)	0.26±0.07	1.41	0.000
		10^6	52.27 (40.38-63.07)	181.03 (142.99-261.56)	0.41±0.09	1.3	0.000
		10^7	37 (26.04-46.37)	126.74 (100.47-183.07)	0.28±0.09	1.27	0.000
		10^8	31.67 (21.31-40.21)	101.63 (80.58-148.18)	0.38±0.08	1.58	0.000
M. anisopliae	M1	10^4	102.3 (79.46-125.38)	257.21 (197.23-415.35)	0.34±0.07	1.27	0.000
		10^5	80.21 (67.87-92.28)	237.78 (195.58-314.5)	0.45±0.01	1.54	0.000
		10^6	64.01 (41.21-84.63)	217.6 (152.53-461.73)	0.27±0.08	1.47	0.000
		10^7	52.31 (39.72-63.67)	196.17 (151.7-297.19)	0.21±0.01	1.35	0.000
		10^8	45.57 (32.87-56.63)	178.08 (134.3-290.84)	0.33±0.09	2.01	0.000

بحث

باتوجه‌به تغییر شرایط آب و هوایی و گرمایش زمین، جنگل‌ها با چالش‌های متعددی مواجه هستند. ازجمله این چالش‌ها می‌توان به طغیان گونه‌های حشرات مهاجم اشاره کرد. امروزه بر ضرورت تجدید نظر درمورد راهبردهای مدیریت کنترل آفات جنگل تأکید می‌شود (Klapwijk *et al.*, 2016). با گسترش برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات (IPM)، کاربرد آفت‌کش‌های میکروبی در سراسر جهان به‌دلیل ضرورت کاهش اثرات و زیان‌های استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی، افزایش یافته است (Mascarin & Jaronski, 2016). قارچ‌های بیمارگر حشرات ازجمله عوامل کنترل زیستی میکروبی هستند که علاوه‌بر ایفای نقش حیاتی در بوم‌سازگان‌های طبیعی، امروزه به‌عنوان جایگزین‌های سازگار با محیط‌زیست در کشاورزی و جنگل‌داری مورد توجه قرار گرفته‌اند. این عوامل کنترل زیستی می‌توانند به‌منظور مدیریت آفات جنگل و بهبود پایداری بوم‌سازگان‌های جنگلی استفاده شوند (Ahirwar *et al.*, 2019).

پژوهش‌های پیشین نشان داده‌اند که قارچ‌های بیمارگر حشرات، پتانسیل زیادی در کنترل جمعیت آفات برگ‌خوار جنگل دارند. کنترل موفقیت‌آمیز جمعیت پروانه *L. dispar* توسط قارچ بیمارگر *Entomophaga maimaiga* در جنگل‌های آمریکای شمالی، خسارت‌های ناشی از این آفت را به میزان زیادی کاهش داده است (Hajek, 2007; Tobin & Hajek, 2012). همچنین، Echeverri-Molina و Santolamazza-Carbone (۲۰۱۰) سه فرمولاسیون از قارچ *B. bassiana* و یک سوسپانسیون حاوی اسپور قارچ *Metarhizium acridum* را روی حشرات کامل سرخرطومی اکالیپتوس (*Gonipterus platensis* Marelli (Col., Curculionidae)) در شرایط آزمایشگاهی ارزیابی کردند. قارچ *B. bassiana* (سویه PPRI 5339) منجر به مرگ‌ومیر صددرصد حشرات کامل شد. این سویه به‌عنوان سویهٔ امیدبخش برای استفاده در برنامه‌های IPM در آفریقای جنوبی شناخته شده است.

کاربرد جدایه‌های قارچ‌های بیمارگر بومی در مقایسه با جدایه‌های غیربومی در بوم‌سازگان هر منطقه مطلوب‌تر

Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (https://ijfpr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

است. زیرا جدایه‌های بومی، سازگاری بیشتری با شرایط محیطی دارند. ازنظر ملاحظات قانونی و محیط‌زیستی نیز استفاده از این جدایه‌ها می‌تواند سبب حفظ تعادل بوم‌شناختی آن ناحیه شود (Bilgo *et al.*, 2018). براساس نتایج این پژوهش، درنتیجه تیمار لاروهای سن دوم پروانه *P. melania* با سه جدایه مختلف از قارچ‌های بیمارگر *B. bassiana* و *M. anisopliae*، بیشترین و کمترین درصد مرگ‌ومیر به‌ترتیب برای جدایه BG از قارچ بیمارگر *B. bassiana* و جدایه M1 از قارچ بیمارگر *M. anisopliae* ثبت شد. همچنین، با افزایش غلظت و زمان، اثربخشی همه جدایه‌های قارچ‌های بیمارگر (BG، B2 و M1) افزایش یافت. همسو با نتایج پژوهش پیش‌رو، قدرت زیاد بیمارگری جدایه‌های *B. bassiana* در پژوهش‌های دیگر نیز اثبات شده است. Sönmez و همکاران (۲۰۱۷) میزان مرگ‌ومیر لاروهای پروانه کاج *Thaumetopoea pityocampa* (Denis & Schiffermüller), Lep., Thaumetopoeidae که با غلظت 10^8 کنیدیوم در میلی‌لیتر جدایه *B. bassiana* (KTU-24) تیمار شده بودند، را صددرصد گزارش کردند. در پژوهشی دیگر، بیشترین مرگ‌ومیر (۷۶ درصد) در لاروهای سن چهارم پروانه *Hyphantria cunea* (Drury, 1773) زمانی مشاهده شد که آن‌ها با غلظت 10^7 کنیدیوم در میلی‌لیتر قارچ *B. bassiana* تیمار شده بودند (Zibaee *et al.*, 2013). درصد مرگ‌ومیر لاروهای سن سوم این حشره هنگامی که در معرض غلظت 10^8 کنیدیوم در میلی‌لیتر قارچ *M. anisopliae* قرار گرفت، ۶۸/۳۳ درصد گزارش شد (Aker & Tuncer, 2016). در پژوهش دیگری نیز غلظت 10^8 کنیدیوم در میلی‌لیتر جدایه *B. bassiana* -MB-103 سبب مرگ‌ومیر ۸۰ درصد لاروهای شب‌پره برگ‌خوار شمشاد (*C. perspectalis*) در شرایط آزمایشگاهی شد (Burjanadze *et al.*, 2019).

طبق گزارش Zamani و همکاران (۲۰۲۳)، ۱۴۴ ساعت پس از تیمار لاروهای سن سوم شب‌پره برگ‌خوار شمشاد (*C. perspectalis*) (روش غوطه‌وری لاور) با غلظت 10^8 کنیدیوم در میلی‌لیتر از چهار جدایه قارچی *B. bassiana* (B2، F4، D2 و B1)، بیشترین مرگ‌ومیر (صددرصد) در جدایه B2 مشاهده شد. درصد مرگ‌ومیر در جدایه‌های دیگر به‌ترتیب ۸۷، ۸۵ و ۶۶/۴ درصد به‌ثبت رسید. جدایه بومی B2 در پژوهش Zamani و همکاران (۲۰۲۳) نیز یکی از جدایه‌های مورد آزمایش در پژوهش پیش‌رو است که ۱۴۴ ساعت پس از تیمار لاروهای سن دوم شب‌پره برگ‌خوار گزنده بلوط (هر دو روش غوطه‌وری لارو و پاشش مستقیم) با غلظت 10^8 کنیدیوم در میلی‌لیتر به مرگ‌ومیر بیشتر از ۹۰ درصد منجر شد. باتوجه‌به اینکه شب‌پره برگ‌خوار شمشاد و پروانه برگ‌خوار گزنده بلوط از آفات مهم جنگل‌های ایران و هر دو متعلق به راسته بال‌پولک‌داران هستند، با انجام پژوهش‌های بیشتر روی جدایه بومی B2 می‌توان از محصول زیستی حاوی آن برای کنترل جمعیت هر دو آفت استفاده کرد.

مراحل مختلف رشدی حشرات ازنظر حساسیت به بیماری‌زایی قارچ‌های بیمارگر هیفومیست با یکدیگر تفاوت دارند (Inglis *et al.*, 2001). مقاومت لارو پروانه‌ها در برابر بیمارگرها و پارازیت‌ها با مقدار ملانین موجود روی کوتیکول و روده میانی آن‌ها، ارتباط متقابل مثبت دارد (Wilson *et al.*, 2001). با افزایش ملانین در کوتیکول و روده میانی لارو پروانه‌ها، مقاومت آن‌ها در برابر بیمارگرها و پارازیت‌ها نیز افزایش می‌یابد. ملانین علاوه‌بر سمیت برای ریزاندامگان‌ها، سبب استحکام کوتیکول می‌شود و از نفوذ عوامل بیماگر و پارازیت‌ها به بدن حشره جلوگیری می‌کند (Wilson *et al.*, 2001). طبق نتایج Lee و Wilson (۲۰۰۶)، سطح ملانین در کوتیکول کرم برگ‌خوار پنبه (*Spodoptera littoralis* (Boisduval)) (Lep., Noctuidae) در مراحل مختلف لاروی با یکدیگر متفاوت بودند. لاروهای سن اول *Ostrinia nubilalis* (Hübner, 1796) (Lep., Crambidae) نسبت به سن چهارم، حساسیت بیشتری به

Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (https://ijfpr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

قارچ *B. bassiana* نشان دادند (Feng *et al.*, 1985). Hafez و همکاران (۱۹۹۷) گزارش دادند که سن‌های اولیه لاروی بید سیب‌زمینی (*Phthorimaea operculella* (Z.) (Lep., Gelechiidae) نسبت به مراحل لاروی بالاتر، حساسیت بیشتری به *B. bassiana* داشتند. در پژوهش پیش‌رو، با بررسی اثربخشی تیمارهای قارچی روی لارو سن دوم پروانه برگ‌خوار گزنده بلوط، میزان مرگ‌ومیر بیشتر از ۵۰ درصد در همه جدایه‌ها (۱۴۴ ساعت پس از تیمار) به‌دست آمد که نشان‌دهنده حساسیت لارو سن دو به قارچ‌های بیمارگر مورد آزمایش بود.

طبق یافته‌های این پژوهش، جدایه BG در غلظت 10^6 و جدایه B2 در غلظت 10^7، تلفات زیاد (۹۰ درصد) در لاروهای *P. melania* ایجاد کردند. ازنظر اقتصادی، ایجاد تلفات بیشتر از ۹۰ درصد با استفاده از غلظت‌های کمتر قارچ به‌ویژه در رابطه با تولید انبوه و توسعه احتمالی آفت‌کش‌های زیستی می‌تواند جالب توجه باشد. همچنین، براساس نتایج به‌دست‌آمده، اختلاف معنی‌داری بین جدایه‌های مورد آزمایش ازنظر بیماری‌زایی وجود داشت. مقایسه نتایج به‌دست‌آمده از LC_{50} نشان داد که لاروهای تیمارشده با جدایه M1 بیشترین مقدار و لاروهای تیمار شده با جدایه BG کمترین مقدار LC_{50} را ثبت کردند. مقادیر کمتر LC_{50} نشان می‌دهد که جدایه BG نسبت به جدایه M1 زهرآگین‌تر و درنتیجه، روی لارو پروانه گزنده بلوط مؤثرتر است. برخلاف نتایج این پژوهش و براساس یافته‌های Topkara و همکاران (۲۰۲۲)، لاروهای پروانه *Malacosoma neustria* Linnaeus, 1758 (Lep., Lasiocampidae) که با قارچ *B. bassiana* (جدایه GOPT-301-2) تیمار شدند، مقدار LC_{50} بیشتری نسبت به قارچ *M. brunneum* (جدایه ORP-13) ثبت کردند. علت این اختلاف را می‌توان به تفاوت در فیزیولوژی، سامانه ایمنی گونه حشرات، مراحل رشدی آن‌ها و نیز منشأ فیزیولوژیکی قارچ‌های استفاده‌شده نسبت داد. در بین سه جدایه قارچی مورد استفاده در پژوهش پیش‌رو، جدایه BG با کمترین غلظت LC_{50} و کمترین زمان تأثیر (LT_{50})، مؤثرترین جدایه در کنترل پروانه برگ‌خوار گزنده بلوط در شرایط آزمایشگاهی و روش غوطه‌وری لارو، بهترین روش است.

براساس نتایج این پژوهش، پروانه برگ‌خوار گزنده بلوط از آفات مهم جنگل‌های بلوط ناحیه رویشی زاگرس به جدایه بومی BG از قارچ بیمارگر *B. bassiana* حساسیت بیشتری دارد. به‌عبارتی دیگر، این جدایه، بیماری‌زایی و زهرآگینی زیادی نشان داده است. باتوجه‌به کاربرد موفقیت‌آمیز فرمولاسیون‌های مختلف قارچ *B. bassiana* روی آفات برگ‌خوار راسته Lepidoptera در جنگل‌های کشورهای مختلف (Feng *et al.*, 1994)، نتایج این پژوهش می‌تواند زمینه‌ساز توسعه فناوری مورد نیاز به‌منظور استفاده از جدایه BG از قارچ بیمارگر *B. bassiana* در کنترل این آفت مخرب درختان بلوط ایرانی باشد. بدیهی است به‌منظور دستیابی به این هدف، انجام آزمون‌های صحرایی به‌منظور ارزیابی اثر عوامل زنده و غیرزنده بر میزان بیمارگری قارچ و نیز پژوهش‌های بیشتر به‌منظور تعیین غلظت و فرمولاسیون مناسب در شرایط طبیعی ضروری است.

Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (https://ijfpr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

References

- Abaajeh, A.R. and Nchu, F., 2015. Isolation and pathogenicity of some South African entomopathogenic fungi (Ascomycota) against eggs and larvae of *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae). Biocontrol Science and Technology, 25: 828-842.
- Abbott, W.S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology, 18: 265-267.
- Ahirwar, N.K., Singh, R., Chaurasia, S., Chandra, R., Prajapati, S. and Ramana, S., 2019. Effective role of beneficial microbes in achieving the sustainable agriculture and eco-friendly environment development goals: A review. Frontiers in Environmental Microbiology, 5: 111-123.
- Aker, O. and Tuncer, C., 2016. Efficacy of *Metarhizium anisopliae* and some entomopathogenic fungi on larvae of fall webworm, *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctiidae). Journal of Entomology and Zoology Studies, 4: 171-176.
- Amini, M.R., Shataee, Sh., Ghazanfar, H.O. and Moaieri, M.H., 2008. Changes in Zagros's forests extention using aerial photos and satellite imagery (Case study, Armerdeh forests of Baneh). Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources, 15(2): 10-20 (In Persian with English summary).
- Bayat, M., Zobeiri, M., Marvie Mohadjer, M.R. and Yosefi, Y., 2009. Monitoring of Sarsakhti oak reserved forest by aerial photographs and full callipering. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 17(4): 637-649 (In Persian with English summary).
- Behdad, E., 2002. Introductory Entomology and Important Plant Pests in Iran. Yadbood Publications, Isfahan, Iran, 844p (In Persian).
- Beygi Heidarlou, H., Banj Shafiei, A., Erfanian, M., Tayyebi, A. and Alijanpour, A., 2019. Effects of preservation policy on land use changes in Iranian Northern Zagros forests. Land Use Policy, 81: 76-90.
- Bilgo, E., Lovett, B., St. Leger, R.J., Sanon, A., Dabiré, R.K. and Diabaté, A., 2018. Native entomopathogenic *Metarhizium* spp. from Burkina Faso and their virulence against the malaria vector *Anopheles coluzzii* and non-target insects. Parasites and Vectors, 11: 209.
- Burjanadze, M., Supatashvili, A. and Gorkturk, T., 2019. Control strategies against invasive pest box tree moth - *Cydalima perspectalis* in Georgia. SETSCI Conference Indexing System, 4(1): 1-4.
- Coombs, A.J., 1999. Trees. Dorling Kindersley, London, UK, 320p.
- Echeverri-Molina, D. and Santolamazza-Carbone, S., 2010. Toxicity of synthetic and biological insecticides against adults of the Eucalyptus snout-beetle *Gonipterus scutellatus* Gyllenhal (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Pest Science, 83: 297-305.
- Farahani, S., Farashiani, M.E., Hosseini, M.A., Asadi, A., Mirtalebi, A.S. and Nasiri Moghadam, M., 2023. Report of *Porthesia melania* Stgr. from Sarsakhti forest reserve of Markazi province, Iran. Iranian Journal of Forests and Rangelands Protection Research, 21(2): 225-239 (In Persian with English summary).
- Feng, M.G., Poprawski, T.J. and Khachatourians, G.G., 1994. Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status. Biocontrol Science and Technology, 4: 3-34.
- Feng, Z., Carruthers, R.I., Roberts, D.W. and Robson, D.S., 1985. Age-specific dose-mortality effects of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Invertebrate Pathology, 46: 259-264.
- Gholami Ghavamabad, R., Talebi, A.A., Mehrabadi, M., Farashiani, M.E. and Pedram, M., 2021. First record of *Oscheius myriophilus* (Poinar, 1986) (Rhabditida: Rhabditidae) from Iran; and its efficacy against two economic forest trees pests, *Cydalima perspectalis* (Walker, 1859) (Lepidoptera: Crambidae) and *Hyphantria cunea* (Drury, 1773) (Lepidoptera: Erebidae) in laboratory condition. Journal of Nematology, 53: e2021-35.
- Gholami Ghavamabad, R., Zamani, S.M., Ahangaran, Y., Kazerani, F. and Zarghani, E., 2023. Efficacy of indigenous isolates of *Beauveria bassiana* in controlling invasive planthopper, *Orosanga japonica*. Plant Protection, 45(4): 149-163 (In Persian with English summary).
- Hafez, M., Zaki, F.N., Moursy, A. and Sabbour, M., 1997. Biological effects of the entomopathogenic fungus,Beauveria bassiana on the potato tuber mothPhthorimaea operculella (Seller). Journal of Pest Science, 70: 158-159.
- Hajek, A.E., 2007. Introduction of a fungus into North America for control of gypsy moth: 53-62. In: Vincent, C., Goettel, M.S. and Lazarovits, G. (Eds.). Biological Control: A Global Perspective. CABI Publishing, Wallingford, UK, 427p.
- Hajek, A.E., Gardescu, S. and Delalibera J.I., 2016. Classical biological control of insects and mites: A worldwide catalogue of pathogen and nematode introductions. FHTET-2016-06, USDA Forest Service, USA, 55p.
- Hosseinia, M., 1993. Investigation on inundation reasons of *Porthesia melania* in Kermanshah forests. M.Sc. thesis, University of Tehran, Tehran, Iran, 101p (In Persian with English summary).
- Imoulan, A., Hussain, M., Kirk, P.M., El Meziane, A. and

Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (https://ijfpr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Yao, Y.J., 2017. Entomopathogenic fungus *Beauveria*: Host specificity, ecology and significance of morpho-molecular characterization in accurate taxonomic classification. Journal of Asia-Pacific Entomology, 20: 1204-1212.
- Inglis, G.D., Goettel, M.S., Butt, T.M. and Strasser, H., 2001. Use of hyphomycetous fungi for managing insect pests: 23-69. In: Butt, T.M., Jackson, C. and Magan, N. (Eds.). Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential. CABI Publishing, Wallingford, UK, 390p.
- Khajei, N., Etemad, V. and Bazrafshan, J., 2024. Predicting climate change impacts on distribution of Brant's oak trees (*Quercus brantii* Lindl.) in the Zagros forests, Fars Province. Iranian Journal of Forest, 15(4): 393-409 (In Persian with English summary).
- Khan, S., Guo, L., Maimaiti, Y., Mijit, M. and Qiu, D., 2012. Entomopathogenic fungi as microbial biocontrol agent. Molecular Plant Breeding, 3: 63-79.
- Klapwijk, M.J., Bylund, H., Schroeder, M. and Björkman, C., 2016. Forest management and natural biocontrol of insect pests. Forestry, 89: 253-262.
- Lacey, L.A., de la Roza, F. and Horton, D.R., 2009. Insecticidal activity of entomopathogenic fungi (Hypocreales) for potato psyllid, *Bactericera cockerelli* (Hemiptera: Triozidae): development of bioassay techniques, effect of fungal species and stage of the psyllid. Biocontrol Science and Technology, 19: 957-970.
- Lee, K.P. and Wilson, K., 2006. Melanism in a larval Lepidoptera: repeatability and heritability of a dynamic trait. Ecological Entomology, 31(2): 196-205.
- Li, Z.Z., 2007. *Beauveria bassiana* for pine caterpillar management in the People's Republic of China: 300-310. In: Vincent, C., Goettel, M.S. and Lazarovits, G. (Eds.). Biological Control: A Global Perspective. CABI Publishing, Wallingford, UK, 427p.
- Liu, H. and Bauer, L.S., 2006. Susceptibility of *Agrilus planipennis* (Coleoptera: Buprestidae) to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. Journal of Economic Entomology, 99: 1096-1103.
- Malarvannan, S., Murali, P., Shanthakumar, S., Prabavathy, V. and Nair, S., 2010. Laboratory evaluation of the entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* against the Tobacco caterpillar, *Spodoptera litura* Fabricius (Noctuidae: Lepidoptera). Journal of Biopesticides, 3: 126.
- Mascarin G.M. and Jaronski, S.T., 2016. The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 32: 177.
- Mc Namara, L., Griffin, C.T., Fitzpatrick, D., Kavanagh, K. and Carolan, J.C., 2018. The effect of entomopathogenic fungal culture filtrate on the immune response and haemolymph proteome of the large pine weevil, *Hylobius abietis*. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 101: 1-13.
- Michalaki, M.P., Athanassiou, C.G., Kavallieratos, N.G., Batta, Y.A. and Balotis, G.N., 2006. Effectiveness of *Metarhizium anisopliae* (Metschinkoff) Sorokin applied alone or in combination with diatomaceous earth against *Tribolium confusum* Du Val larvae: Influence of temperature, relative humidity and type of commodity. Crop Protection, 25: 418-425.
- Mohammadi, E., Zamani, A.A., Goldasteh, Sh. and Jalilian, F., 2014. Population fluctuation and biology of oak moth, *Porthesia melania* Stgr. (Lep., Lymantriidae). Journal of Entomological Research, 5(4): 375-384 (In Persian with English summary).
- Molaee, Sh., Zolfaghari, R., Alizadeh, Z. and Fayyaz, P., 2022. Evaluation of drought resistance in Brant`s oak (*Quercus brantii* Lindl.) seedlings from different seed provenances of southern Zagros, Iran. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 31(1): 27-40 (In Persian with English summary).
- Prospero, S., Botella, L., Santini, A. and Robin, C., 2021. Biological control of emerging forest diseases: How can we move from dreams to reality? Forest Ecology and Management, 496: 119377.
- Sabeti, H., 1994. Forests, Trees and Shrubs of Iran. Published by University of Yazd, Yazd, Iran, 884p (In Persian).
- Samimi, P., Fayyaz, P., Ghaderi, F. and Zolfaghari, R., 2023. Resistance induction to drought and charcoal disease in brant's oak seedling by seed priming. Iranian Journal of Forest, 15(1): 125-140 (In Persian with English summary).
- SAS, 2013. Statistical Analysis System. SAS Release 9.4 for Windows. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina, USA.
- Sönmez, E., Demir, I., Bull, J.C., Butt, T.M. and Demirbag, Z., 2017. Pine processionary moth (*Thaumetopoea pityocampa*, Lepidoptera: Thaumetopoeidae) larvae are highly susceptible to the entomopathogenic fungi *Metarhizium brunneum* and *Beauveria bassiana*. Biocontrol Science and Technology, 27: 1168-1179.
- Tobin, P.C. and Blackburn, L.M., 2007. Slow the spread: A national program to manage the gypsy moth. General Technical Report NRS-6, Forest Service, United States Department of Agriculture, Newtown Square, Pennsylvania, USA, 109p.
- Tobin, P.C. and Hajek, A.E., 2012. Release, establishment, and initial spread of the fungal pathogen *Entomophaga maimaiga* in island populations of *Lymantria dispar*. Biological Control, 63: 31-39.
- Topkara, E.F., Yanar, O., Sahin, F., Yanar, Y. and Yanar, D., 2022. Efficacy of *Metarhizium brunneum* and *Beauveria bassiana* isolates against the European tent caterpillar, *Malacosoma neustria* Linnaeus, 1758

Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (https://ijfpr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

(Lepidoptera: Lasiocampidae). Egyptian Journal of Biological Pest Control, 32: 89.
- Wang, C. and Feng, M.G., 2014. Advances in fundamental and applied studies in China of fungal biocontrol agents for use against arthropod pests. Biological Control, 68: 129-135.
- Wilson, K., Cotter, S.C., Reeson, A.F. and Pell, J.K., 2001. Melanism and disease resistance in insects. Ecology Letters, 4(6): 637-649.
- Zamani, S.M., Gholami Ghavamabad, R., and Kazerani, F., 2023. Efficacy of indigenous isolates of *Beauveria bassiana* against the box tree moth, *Cydalima perspectalis*, an invasive pest in Iranian forests. *Bulletin of Insectology*, 76(1): 117-125.
- Zhang, L.W., Liu, Y.J., Yao, J., Wang, B., Huang, B., Li, Z.Z., ... and Sun, J.H., 2011. Evaluation of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes) isolates as potential agents for control of *Dendroctonus valens*. Insect Science, 18: 209-216.
- Zibaee, I., Bandani, A.R. and Sendi, J.J., 2013. Pathogenicity of *Beauveria bassiana* to fall webworm (*Hyphantria cunea*) (Lepidoptera: Arctiidae) on different host plants. Plant Protection Science, 49: 169-177.

Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (https://ijfpr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.