

تأثیر قارچ‌های بیماری‌گر حشرات و خاک دیاتومه بر بید سیب‌زمینی *Phthorimaea operculella*

Effects of Entomopathogenic Fungi and Diatomaceous Earth on the Potato Tuber Moth, *Phthorimaea operculella*

Research Article
Genetic Engineering and Biosafety
Journal 2025
Volume 14, Number 1, Pages: 77-88

<http://gebsj.ir/>

<https://ecc.isc.ac/showJournal/23064>



[10.61882/gebsj.14.1.6](https://doi.org/10.61882/gebsj.14.1.6)

شبنم صالحی^۱، داود محمدی^{۲*}، علی مهرور^۳

Salehi Shabnam¹, Mohammadi Davoud^{*2}, Mehrvar Ali³

۱- کارشناسی ارشد، ۲- دانشیار، ۳- استاد،

گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

1. MSc, 2. Associate professor, 3. Professor,

Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran.

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mohamadi@azaruniv.ac.ir

mohamadi@azaruniv.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۱/۲۱ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۸/۱ - تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۸/۶)

Received: 2025/04/10 | Accepted: 2025/10/23 | Published: 2025/10/28

Abstract

The potato tuber moth, *Phthorimaea operculella*, is a major pest of potato, particularly under storage conditions. Due to the adverse effects of chemical pesticides on human health and the environment, as well as the development of insecticide resistance, there is a growing need for safer control alternatives. This study evaluated the efficacy of several isolates of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*-collected from East Azarbaijan and Tehran provinces-along with a diatomaceous earth formulation (InsectoSec®) against the larvae of *P. operculella*. Bioassay results showed that the CS1 isolate of *B. bassiana* was the most effective, with an LC₅₀ of 6519 conidia/mL, while the DE isolate was the least effective, with an LC₅₀ of 89026 conidia/mL. The LC₅₀ for diatomaceous earth was 164 ppm. The time to symptom onset and mortality also varied among the isolates. The CS1 isolate demonstrated the lowest LT₅₀ values, at 1.68 days for the highest concentration and 20.16 days for the lowest concentration tested. The LT₅₀ for diatomaceous earth was 4.76 days at 500 ppm. Based on these findings, the SC1 isolate of *M. anisopliae* and the SA2 isolate of *B. bassiana* were identified as highly virulent. The diatomaceous earth formulation also exhibited acceptable control efficacy. In conclusion, both the identified fungal isolates and diatomaceous earth show promise as effective components in an integrated management program for the potato tuber moth.

Key words: *Beauveria bassiana*, Diatomaceous earth, Lethal time, *Metarhizium anisopliae*

چکیده

رفرانس دهی این مقاله Citation

Salehi S, Mohammadi D, Mehrvar A. (2025). Comparing toxicity of some entomopathogenic fungi isolates and Diatomaceous earth, on potato tuber moth, *Phthorimaea operculella*. Genetic Engineering and Biosafety Journal, 14 (1): 77-88. Doi: [10.61882/gebsj.14.1.6](https://doi.org/10.61882/gebsj.14.1.6)
URL: <http://gebsj.ir/article-1-511-en.html>

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 14, Number 1, 2025

خلاصه

بید سیب‌زمینی *Phthorimaea operculella* از مهم‌ترین آفات انباری سیب‌زمینی است. روش‌های کنترل معمول اغلب بر اساس مواد شیمیایی تدخینی است که با وجود اینکه روش موثری در کاهش خسارت این آفت به‌شمار می‌آید، ولی باقیمانده آنها روی محصولات غذایی منجر به اثرات سوء زیست محیطی، مسمومیت‌های انسانی و مهمتر از همه بروز مقاومت در برابر آفت شده است. بنابراین روش‌های کنترل امن‌تر و استفاده از عوامل کنترل ترکیبی در بحث مدیریت این آفت در اولویت برنامه‌های تحقیقاتی است. در این بررسی تاثیر چند جدایه قارچ بیماری‌گر *Beauveria bassiana*، یک جدایه از قارچ *Metarhizium anisopliae* (جمع‌آوری شده از استان‌های آذربایجان شرقی و تهران) و فرمولاسیون InsectoSec® خاک دیاتومه علیه لاروهای بید سیب‌زمینی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج اثرات کشندگی جدایه‌های مختلف نشان داد که به‌ترتیب جدایه‌های CS1 و DE با مقدار LD₅₀ معادل ۶۵۱۹ و ۸۹۰۲۶ اسپور بر میلی‌لیتر بیشترین و کمترین تاثیر را بر لاروهای بید سیب‌زمینی داشتند. مقدار LC₅₀ خاک دیاتومه ۱۶۴ ppm بدست آمد. مدت زمان لازم برای تاثیر قارچ بر لاروهای بید سیب‌زمینی در جدایه-های بررسی شده یکسان نبود. جدایه CS1 سریعتر از سایر جدایه‌ها موجب مرگ و میر لاروها شده و کمترین مقدار LT₅₀ مربوط به غلظت اول و دوم آن (۱۰×۱۰^۶ و ۵×۱۰^۶ اسپور در میلی‌لیتر) با مقدار ۱/۶۸ و ۲/۱۶ روز بدست آمد. مقدار LT₅₀ خاک دیاتومه در غلظت ۵۰۰ ppm ۴/۷۶ روز بدست آمد. با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق جدایه CS1 از قارچ بیماری‌گر *M. anisopliae* و جدایه SA2 قارچ بیماری‌گر *B. bassiana* در مقایسه با سایر جدایه‌ها از نظر سرعت و میزان کشندگی در کنترل بید سیب‌زمینی بهتر عمل کردند. خاک دیاتومه نیز تاثیر کنترلی خوبی بر بید سیب‌زمینی داشته و می‌تواند در برنامه مدیریت بید سیب‌زمینی مورد استفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: دیاتومه، زمان کشندگی، *Metarhizium anisopliae*، *Beauveria bassiana*

مقدمه

Introduction

بید سیب‌زمین اولین بار در سال ۱۸۵۵ توسط برتون به نام کرم سیب‌زمینی نام‌گذاری شد. زلز در سال ۱۸۷۴ این آفت را برای توصیف بهتر *Gelechia operculella* نام‌گذاری نمود (Capinera, 2001; Trivedi & Rajagopal, 1992). طبق گزارشات ارائه شده بیش از ۶۰ گونه گیاهی اعم از زراعی و غیر زراعی قابلیت میزبانی بید سیب‌زمینی را دارند که در این بین ۵۲ گونه از تیره سولاناسه و جنس *Solanum* و از جنس‌های نزدیک آن هستند ولی به‌طور کلی می‌توان گفت که سیب‌زمینی میزبان ارجح و اصلی بید سیب‌زمینی است (Capinera, 2001). بیشترین میزان خسارت در مناطق گرم و انبارهای فاقد بهداشت وارد شده و گزارشات مختلف ۲۰ الی ۱۰۰ درصد خسارت به محصول سیب‌زمینی را تایید کرده است (Adhikari et al. 2022). این آفت قدرت سازگاری بسیار بالایی با شرایط مختلف داشته، قدرت زاد و ولد و از پتانسیل بالایی نیز در بروز مقاومت به آفت‌کش‌ها دارد. همچنین هم در شرایط انباری و هم شرایط مزرعه‌ای قادر به ایجاد خسارت است و به راحتی توسط گونی‌های حمل سیب‌زمینی و غده‌های آلوده جابجا می‌شود (Abdallah, 2017).

کنترل این آفت اغلب با تکیه بر استفاده از آفت‌کش‌های مختلف در شرایط انباری و مزرعه‌ای صورت می‌گیرد. تبعات زیست محیطی استفاده از این ترکیبات و مهمتر از همه افزایش احتمال بروز مقاومت آفت به آفت‌کش‌های مختلف و باقی‌مانده سموم شیمیایی در غده‌های سیب-زمینی نیاز به استفاده از روش‌های کنترلی امن‌تر را نشان می‌دهد. عوامل بیوکنترل و ترکیبات غیر شیمیایی جایگاه ویژه‌ای در برنامه مدیریت تلفیقی آفات دارد (Gautam et al. 2024). قارچ‌های بیماری‌گر حشرات از عوامل کنترل میکروبی می‌باشند که به دلیل اثرات سوء استفاده گسترده از سموم شیمیایی، جایگاه خوب و اثرات کنترلی قابل قبولی در برنامه‌های مدیریت آفات پیدا کرده‌اند. این عوامل سازگاری نسبتاً مناسبی با

سایر روش‌های کنترلی به‌ویژه کنترل شیمیایی دارند (Faraji et al. 2013 & 2016). این عوامل برای تولید انبوه نیاز به میزبان زنده ندارند و در محیط‌های کشت معمولی نیز قابل تکثیر هستند. هم‌چنین در فرم اسپور نسبت به شرایط محیطی مقاوم بوده و خاصیت انبارداری خوبی دارند (Butt et al. 2001). قارچ‌های بیماری‌گر حشرات گونه‌های مختلفی داشته و در سطح وسیعی برای کنترل آفات مختلف مورد استفاده قرار گرفته‌اند. این عوامل در طیف وسیعی در شرایط محیطی (از قبیل مناطق خشک تا گرمسیری، زیستگاه‌های خاکی تا آبی و آب‌وهوای سرد تا معتدل) پیدا می‌شوند و گروه‌های وسیعی از حشرات را مورد حمله قرار می‌دهند (Meyling et al. 2012). در بین بیشتر از ۷۵۰ گونه مختلف قارچ بیماری‌گر حشرات، بیشتر توجه‌ها به استفاده از گونه‌های متعلق به راسته Hypocreales، به‌دلیل دامنه میزبانی زیاد و پتانسیل تولید انبوه، متمرکز شده است (Butt et al. 2001). این گروه از قارچ‌ها به‌طور خاص حشرات را آلوده می‌کنند، و برای گیاهان یا جانوران دیگر بیماریزا نیستند. از جمله جنس‌های مهم قارچ‌های بیماری‌گر که به‌عنوان بیماری‌گر حشرات شناخته می‌شوند می‌توان به *Metarhizium*، *Beauveria*، *Hirsutella*، *Lecanicillium*، *Isaria* و *Entomophthorales* اشاره نمود. حدود ۸۰ درصد محصولات تجاری شده از قارچ‌های بیماری‌گر حشرات جنس‌های *Metarhizium* و *Beauveria* می‌باشند (de Faria & Wraight, 2007).

قارچ *B. bassiana* اولین بار بیشتر از ۱۸۰ سال قبل به‌عنوان عامل بیماری‌گر کرم ابریشم معرفی شد. در مطالعات بیشتر مشخص شد که این قارچ می‌تواند گونه‌های دیگری از حشرات را نیز بیمار کند. *Beauveria* شایع‌ترین عامل بیماری‌گر در حشرات بوده و روی بیش از ۷۰۰ گونه از حشرات موثر است و می‌تواند در محیط‌های اکولوژیکی متنوعی از جمله خاک، گیاه و حشره وجود داشته باشد. بعدها استفاده بیش از حد از حشره‌کش‌های شیمیایی و مشکلات پیش آمده در اکوسیستم‌های کشاورزی و جنگل‌ها نیروی محرکه برای توسعه *Beauveria* به‌عنوان عاملی جایگزین برای کنترل حشرات آفت ایجاد کرد. دو گونه از بین گونه‌های مختلف این قارچ *B. bassiana* و *B. brongniartii* به‌عنوان قارچ بیماری‌گر حشرات در سراسر جهان توسعه یافته و فرموله شده‌اند و برای کنترل حشرات آفت و حافظت از محصولات زراعی استفاده می‌شوند (De Faria & Wraight, 2007; Zimmerman 2007). جنس *Metarhizium* نیز یکی از مهم‌ترین قارچ‌های بیماری‌گر حشرات است که به‌عنوان عامل کنترل بیولوژیکی در برابر طیف گسترده‌ای از حشرات آفت تولید و مورد استفاده قرار می‌گیرد. بیماری‌زایی این قارچ اولین بار توسط مچنیکوف در سال‌های ۱۸۷۹ و ۱۸۸۰ کشف شد. این قارچ به دلایل مختلفی از جمله طیف میزبانی محدود، ایمنی، سازگاری با محیط زیست و سهولت در تولید انبوه مورد مطالعه گسترده قرار گرفته است (Greenfield et al. 2015). Bischoff et al. (2009) جنس *Metarhizium* را در ۹ گونه دسته‌بندی کرده‌اند که عبارتند از: *M. acridum*، *M. anisopliae*، *M. guizhouense*، *M. pingshaense*، *M. lepidiotae* و *M. majus*، *M. brunneum*، *M. robertsii*، *M. globosum*، که بعضی از این گونه‌ها عمومی و برخی اختصاصی می‌باشند. قارچ *M. anisopliae* عمومی بوده و بیش از هفت راسته از حشرات را بیمار می‌کند، در حالی که *M. acridum* به‌صورت اختصاصی عمل کرده و تنها حشرات خانواده Acrididae را مورد حمله قرار می‌دهد (Gao et al. 2011). علاوه بر گونه قارچ بیماری‌گر جدایه‌های مختلفی که از آنها از مناطق مختلف جمع‌آوری شده‌اند می‌توانند اثرات کنترلی مختلفی نشان دهند و برای بدست آوردن موثرترین جدایه، نیازمند غربالگری آنها بر روی موجودات هدف هستیم تا بتوان موثرترین جدایه را مشخص و در بحث تولید انبوه و فرمولاسیون علیه آفت هدف مورد استفاده قرار داد. در یک مطالعه که تاثیر قارچ بیماری‌گر *B. bassiana* را در شرایط مزرعه‌ای بر بید سیب‌زمینی بررسی کرده مشخص گردید این قارچ با LC_{50} معادل ۲۸/۵۶ اسپور در میلی‌لیتر کارایی بسیار بالایی در کنترل لاروهای این آفت داشت. همچنین در این بررسی مشخص گردید این بیماری‌گر پتانسیل کنترل سفیره و حتی تخم‌های بید سیب‌زمینی را هم دارد (Ibrahim et al. 2019). همچنین در بررسی مشابهی در شرایط مزرعه‌ای تاثیر چند عامل کنترلی از جمله غلظت 3×10^9 قارچ *B. bassiana* و *M. anisopliae* کاهش تا ۷۰ درصدی جمعیت بید سیب‌زمینی گزارش شد (Eltair et al. 2024). در یک بررسی دیگر مقدار LC_{50} دو قارچ بیماری‌گر *B. bassiana* و *M. anisopliae* علیه لاروهای بید سیب‌زمینی به ترتیب $3/4 \times 10^7$ و $8/61 \times 10^7$ اسپور در میلی‌لیتر گزارش گردید که نشان دهنده کارایی بیشتر قارچ بیماری‌گر *B. bassiana* علیه لاروهای بید سیب‌زمینی می‌باشد (Sabbour, 2002). مطالعات متعدد دیگری کارایی خوب دو قارچ بیماری‌گر ذکر شده بر بید سیب‌زمینی را تایید کرده است (Dadaşoğlu et al. 2023; Zeleke et al. 2014; Zhang et al. 2022). هر چند با منابع ذکر شده کارایی قارچ‌های بیماری‌گر

حشرات در کنترل جمعیت بید سیب‌زمینی قابل تایید است ولی موضوع بسیار مهم تاثیر متفاوت جدایه‌های مختلف قارچ‌های بیماری‌گر حشرات است. فاکتورهای بسیار متعددی از جمله وضعیت کليمایی منطقه، میزان بارش، شدت تابش نور خورشید، انواع و جمعیت حشرات میزبان، بافت خاک و تفاوت‌های ژنتیکی جدایه‌های مختلف قارچ‌های بیماری‌گر در کارایی این عوامل موثر است. عوامل نامبرده موجب ایجاد تفاوت‌های ژنتیکی و انتخاب جدایه‌های سازگار با شرایط محیطی موجود می‌شود (Qayyum et al. 2021). بررسی جدایه‌های مختلف قارچ‌های بیماری‌گر در معرفی موثرترین جدایه علیه هر آفتی مقدمه تولید صنعتی و کاربرد آن در شرایط مزرعه‌ای به‌صورت فرموله شده می‌باشد.

خاک دیاتومه یک ماده پودری است که از بقایای فسیلی جلبک‌های تک سلولی معروف به دیاتوم تشکیل شده است. خاک دیاتومه به لایه‌های مومی که در کوتیکول حشرات وجود دارند، آسیب می‌رساند و باعث می‌شوند آب بدن حشره تبخیر شود و به دلیل کمبود آب در بدن حشره، منجر به مرگ آن می‌شود (Subramanyam & Roesli, 2000). خاک دیاتومه برای پستانداران بی‌خطر بوده و روی گونه‌های بسیار زیادی که آفت محسوب می‌شوند، مؤثر است و چون به‌صورت پودر مورد استفاده قرار می‌گیرد و نحوه اثر آن به‌صورت فیزیکی است به ندرت باعث ایجاد مقاومت در حشرات می‌شود (Athanassiou et al. 2008). خاک دیاتومه چون خطراتی که سموم شیمیایی ایجاد می‌کند را ندارد می‌توان از آن به‌عنوان یکی از ایمن‌ترین حشره‌کش‌هایی که می‌توان در زمینه کشاورزی استفاده کرد، محسوب کرد. از این ماده می‌توان در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات (IPM) و در مواد غذایی به‌عنوان یک ماده محافظ و حشره‌کشی با دوام بالا برای کاهش خسارت ناشی از حشرات، بخصوص آفات انباری استفاده کرد (Korunic, 1998).

بررسی‌های متعددی تاثیر خاک دیاتومه را در کنترل آفات مختلف بخصوص آفات انباری گزارش کرده است. در مطالعه تاثیر خاک دیاتومه بر *Sitophilus granarius* مشخص گردید، کاربرد این عامل موجب افزایش مرگ و میر و کاهش زاد و ولد حشرات کامل می‌شود (Abd El-Aziz & Abd El-Ghany, 2018). در بررسی دیگری تاثیر فرمولاسیون‌های مختلف خاک دیاتومه بر چند آفت انباری مطالعه شد. نتایج حاکی از وجود تفاوت در فرمولاسیون‌های مختلف در ایجاد مرگ و میر و زاد و ولد آفات انباری مورد بررسی بود همچنین مشخص گردید با افزایش زمان در معرض قرارگیری مرگ و میر افزایش یافت (Agrafioti et al. 2023). در مطالعه دیگری تاثیر دو فرمولاسیون خاک دیاتومه را بر دو آفت انباری شپشه برنج و سوسک آرد بررسی و مقادیر LC₅₀ در فرمولاسیون موثر برابر ۲۷۰ و ۴۷۰ ppm گزارش گردید که نشان دهنده تاثیر بسیار خوب این عامل در کنترل آفات انباری می‌باشد (Korunić, 2016). مطالعات متعدد دیگری کارایی خوب خاک دیاتومه را در کنترل آفات مختلف حتی در شرایط مزرعه‌ای و انباری و مخلوط با دانه غلات گزارش کرده است (Rigopoulou et al. 2023; Shafiqhi et al. 2022; Hasani et al. 2014).

با توجه به اهمیت بید سیب‌زمینی به‌عنوان مهم‌ترین آفت انباری سیب‌زمینی در کشور و اهمیت کنترل بیولوژیک با استفاده از قارچ‌های بیماری‌گر و خاک دیاتومه که از امنیت بسیار بالایی برخوردار هستند، در این مطالعه به مقایسه اثرات کشندگی جدایه‌های مختلف دو قارچ بیماری‌گر حشرات و خاک دیاتومه پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

Materials and Methods

پرورش بید سیب‌زمینی: دسته تخم‌های اولیه برای ایجاد کلنی از انسکتاریوم گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان تهیه شد. دسته تخم‌ها روی غده‌های سیب‌زمینی رقم آگریا در ظروف مستطیلی شکل به ابعاد ۳۰×۲۰ و با ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر قرار گرفتند. جهت تهیه بستر حاکی برای تشکیل شفیره‌ها در کف ظروف از خاک الک شده توسط الک ۴۰ مش استریل استفاده شد (شکل ۱). غده‌های سیب‌زمینی حاوی لارو بید سیب‌زمینی در شرایط کنترل شده با دمای ۲۵ ± ۳ درجه سلسیوس و در دوره نوری ۱۶:۸ ساعت (تاریکی: روشنایی) با رطوبت نسبی ۵۰ ± ۵ درصد قرار گرفتند. حشرات کامل ظاهر شده، جهت تخم‌گیری به ظروف استوانه‌ای شکل پلاستیکی به قطر ۱۵ و ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر

که دهانه آن با توری پارچه‌ای مسدود شده بود منتقل گردید. جهت تغذیه حشرات کامل، بالای ظروف روی توری پنبه آغشته به آب غسل ۱۰ درصد قرار گرفت. کاغذهای حاوی تخم بید سیب‌زمینی روزانه برداشت شده و برای انتقال روی غده‌های سیب‌زمینی برای تکثیر و یا مطالعات طراحی شده مورد استفاده قرار گرفت (Furong & Zhengue, 2003).



شکل ۱- ظروف پرورش بید سیب‌زمینی حاوی خاک استریل

Figure 1. Rearing containers of PTM, floor covered with sterill soil

تهیه جدایه‌های قارچی و خاک دیاتومه: سه جدایه از قارچ *B. bassiana* به نام‌های SA2، DE و OZ2 از آزمایشگاه پاتولوژی حشرات گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان و یک جدایه از قارچ *M. anisopliae* با نام CS1 از گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه تهران برای انجام آزمایشات مربوطه تهیه شد. برای کشت قارچ‌ها از محیط کشت PDA استفاده شد. در این پژوهش از خاک دیاتومه با نام تجاری InsectoSec® ساخت شرکت Biofa آلمان استفاده شد.

تهیه سوسپانسیون قارچ‌های بیمارگر حشرات جهت زیست‌سنجی: از کشت‌های قارچی با طول دوره رشدی ۲۰ - ۱۴ روزه برای تهیه سوسپانسیون قارچی و انجام آزمایش‌های مربوطه استفاده شد. مقدار ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل همراه با سه صدم درصد محلول Tween-80 درون ظروف پتری حاوی قارچ رشد یافته ریخته شده و به آرامی هم زده شد تا اسپورها از بافت قارچ‌ها جدا شوند. پس از ورتکس کردن سوسپانسیون آماده استفاده بود. برای تعیین غلظت سوسپانسیون از لام گلبول‌شمار Neubauer استفاده شد.

آزمایش‌های زیست‌سنجی

زیست‌سنجی لاروهای بید سیب‌زمینی با جدایه‌های مختلف قارچی: برای ارزیابی زهرآگینی جدایه‌های قارچ‌های مورد نظر، ابتدا آزمایش‌های مقدماتی به‌منظور تعیین محدوده غلظت‌های کشنده ۲۰ و ۸۰ درصد از جمعیت انجام شد. پس از تعیین غلظت‌های مورد نیاز، زیست‌سنجی لاروها به‌روش غوطه‌وری انجام شد. مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از سوسپانسیون داخل بشرهای ۵۰ میلی‌لیتری استریل ریخته شده و لاروهای هشت روزه بید سیب‌زمینی داخل سوسپانسیون به‌مدت ۱۰ ثانیه غوطه‌ور شدند. در نهایت لارو تیمار شده با استفاده از پنس استریل به آرامی برداشته شده و هر کدام به‌صورت جداگانه درون چاهک‌های ول پلیت ۲۴ خانه استریل مفروش با کاغذصافی مرطوب توسط آب مقطر استریل قرار گرفتند. درون حفره‌های صفحه-چاهک قطعه سیب‌زمینی به‌عنوان غذای لاروها قرار گرفت. از آب مقطر استریل با Tween 80 به‌عنوان شاهد استفاده شد. ظروف آزمایش داخل ژرمیناتور با دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند. شمارش لاروهای آلوده از ۲۴ ساعت تا هفت روز پس از شروع آزمایش صورت گرفت.

زیست‌سنجی لارو ۸ روزه بید سیب‌زمینی با خاک دیاتومه: هشت غلظت از خاک دیاتومه برای زیست‌سنجی و برای تعیین غلظت‌های ۲۰ و ۸۰ درصد کشندگی مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا برای تهیه غلظت ۱۰۰۰ ppm مقدار ۰/۰۰۱ گرم از خاک دیاتومه توسط ترازوی حساس اندازه‌گیری شد و این مقدار به ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل افزوده شد، سپس غلظت‌های مختلف تهیه شده و مورد مطالعه قرار گرفت. لاروهای ۸ روزه از غده‌های سیب‌زمینی که در انسکتاریوم گروه گیاه‌پزشکی نگهداری می‌شد، جداسازی شده هر لارو در غلظت‌های مشخص

شده خاک دیاتومه به‌روش غوطه‌وری به مدت ۱۰ ثانیه غوطه‌ور شده سپس به ظروف صفحه-چاهک ۲۴ تایی منتقل گردید و به مدت ۷ روز در داخل ژرمیناتور با دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی 50 ± 5 درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شد و میزان مرگ و میر به‌طور روزانه تا ۷ روز ثبت گردید.

تعیین زمان کشندگی (LT) هر جدایه و خاک دیاتومه: تمامی مراحل زیست‌سنجی اشاره شده در بندهای قبلی جهت تعیین مقادیر LT_{50} هر جدایه و ترکیب تیماری مجدد طراحی شد. از دو غلظت مشابه 10×10^6 و 5×10^6 اسپور در میلی‌لیتر برای جدایه‌های قارچی و ۱۰۰۰ و ۵۰۰ ppm برای خاک دیاتومه استفاده شد. مرگ و میر لاروها در فواصل زمانی ۲۴ ساعته ثبت گردید.

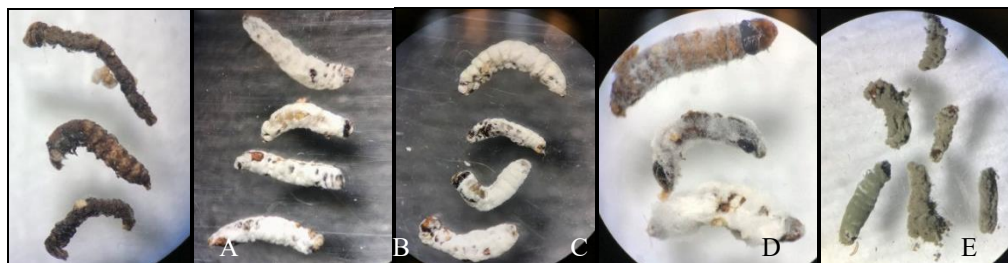
تجزیه آماری: تیمارهای مختلف حداقل سه بار تکرار شدند. در صورت نیاز تبدیل داده مناسب برای آنالیز داده‌ها صورت گرفت. آنالیز نتایج زیست‌سنجی با تجزیه پروبیت و LT_{50} داده‌ها با نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ صورت گرفت. قالب طرح Anova1 کاملاً تصادفی بود.

Results and Discussion

نتایج و بحث

نتایج اثرات کشندگی جدایه‌های مختلف و خاک دیاتومه بر لاروهای بید سیب‌زمینی

تاثیر جدایه‌های مختلف قارچ‌های بیمارگر حشرات و خاک دیاتومه بر لاروهای بید سیب‌زمینی در شکل ۲ و جدول ۱ آمده است. همانگونه که مشاهده می‌شود، ترتیب تاثیر جدایه‌ها بر اساس مقادیر LC_{50} آنها به‌صورت: CS1، SA2، OZ2 و DE می‌باشد. جدایه CS1 با مقدار LD_{50} معادل ۶۵۱۹ اسپور بر میلی‌لیتر بیشترین تاثیر را بر لاروهای بید سیب‌زمینی داشت و جدایه DE با مقدار ۸۹۰۲۶ اسپور بر میلی‌لیتر کمترین تاثیر را داشت. مقدار LC_{50} خاک دیاتومه ۱۶۴ ppm بدست آمد. شیب خط ۰/۷۲ این عامل بیشتر از جدایه‌های قارچ‌های بیمارگر حشرات بود. موضوع قابل توجه در این نتایج فاصله بین غلظت‌های کشنده ۵۰ تا ۷۵ درصد حشرات بود که در قارچ‌های بیمارگر حشرات عموماً خیلی زیاد بود و این به آن معنی است که برای کسب مرگ و میر بالاتر در قارچ‌های بیمارگر حشرات به غلظت خیلی بالاتری از اسپورها نیاز داریم و همچنین در حالت کلی شیب خطوط غلظت-کشندگی در جدایه‌های مختلف قارچ‌های بیمارگر حشرات در این مطالعه کم بود و همین موضوع هم موید نیاز به غلظت‌های بالاتر برای کشندگی بیشتر می‌باشد. مقادیر کیدو در تمام جدایه‌ها و همچنین خاک دیاتومه در درجه‌های آزادی مربوطه در سطح احتمال ۵ درصد غیر معنی‌دار بود که نشان دهنده یکنواخت بودن جمعیت حشرات و عدم اختلاف معنی‌دار در نتایج مشاهده شده و برآورد شده در تجزیه پروبیت می‌باشد.



شکل ۲- علائم مرگ و میر لاروهای بید سیب‌زمینی تحت تاثیر جدایه‌های مختلف قارچ‌های بیمارگر و خاک دیاتومه

A: D. Earth, B: CS1, C: SA2, D: DE, E: OZ2

Figure 2. Mortality symptoms of potato tuber moth larvae affected by different isolates of EPF and D. Earth

جدول ۱- اثرات کشندگی جدایه‌های مختلف قارچ‌های بیمارگر و خاک دیاتومه بر لاروهای بید سیب‌زمینی

Table 1. Lethal toxicity of different isolates of entomopathogenic fungi and diatomaceous earth on potato tuber moth larvae

Treatments	Chi square			Slope±SE	LC ₂₅ (Fiducial limits)	LC ₅₀ (Fiducial limits)	LC ₇₅ (Fiducial limits)
	χ^2	DF	P				
CS1	6.5	8	0.59	0.48±0.045	275.8 82-597.5	6519.2 3460-11428	16872 87800-363292
DE	4.8	10	0.9	0.33±0.027	299.3 41.7-3411	89026 35321-230132	26473042 6551077-213145877
OZ2	3.46	6	0.75	0.292±0.049	335.1 15.4-1786	68588 22382-190067	14037827 3113933-211586076
SA2	2.85	7	0.9	0.25±0.042	76.04 2.33-493.3	37840 12069-107478	18831701 3447911-424963832
D. Earth	0.83	6	0.99	0.72±0.1	19.29 8.7-32.5	164.5 108.3-271	1403.3 710-4269

*واحد غلظت جدایه‌ها اسپور در میلی‌لیتر است و واحد غلظت خاک دیاتومه قسمت در میلیون (ppm) است.

*The concentration unites are conidia/ml and ppm for RPF and D. Earth respectively

مقادیر LT₅₀ جدایه‌های قارچ‌های بیمارگر حشرات و خاک دیاتومه روی لاروها بید سیب‌زمینی

زمان لازم برای کشته شدن ۵۰ درصد لاروهای بید سیب‌زمینی تحت تاثیر دو غلظت $10^6 \times 10^6$ و 5×10^6 اسپور بر میلی‌لیتر از جدایه‌های مختلف در جدول ۲ خلاصه شده است. همانگونه که مشاهده می‌شود کمترین LT₅₀ مربوط به غلظت اول جدایه CS1 با مقدار ۱/۶۸ روز بدست آمده است. غلظت دوم همین جدایه با مقدار ۲/۱۶ روز در مرتبه دوم قرار دارد. سرعت کشندگی این جدایه در مقایسه با سایر جدایه‌ها بیشتر است. مقدار محاسبه شده LT₅₀ جدایه DE در غلظت اول ۳/۸۹ و در غلظت دوم ۴/۹۶ روز بدست آمد و از نظر سرعت تاثیر در مقایسه با سایر جدایه‌ها سرعت تاثیر کمتری داشت. مقادیر محاسبه شده برای LT₅₀ جدایه OZ2 در غلظت اول ۴/۱ و در غلظت دوم ۴/۱۹ بدست آمد که در مقایسه با جدایه CS1 سرعت تاثیر آن کمتر بود. در جدایه SA2 مقادیر محاسبه شده برای LT₅₀ در غلظت اول ۲/۸۹ و در غلظت دوم ۴/۵۶ روز بدست آمد که در مقایسه با جدایه اول (CS1) مقدار بیشتری بوده و سرعت تاثیر کمتر جدایه را نشان می‌دهد.

در مقایسه کارایی قارچ‌های بیمارگر، سرعت عمل قارچ برای از پا درآوردن حشره قبل از پوست‌اندازی و یا ظهور حشرات کامل و یا برای غلبه بر سیستم ایمنی بدن حشره اهمیت زیادی دارد. هرچقدر جدایه‌ای با سرعت بالا موفق به مرگ و میر در حشره مورد نظر شود در برنامه‌های مدیریت آفات از ارزش بالاتری برخوردار می‌باشد. در این بررسی جدایه CS1 کمترین مقدار LT₅₀ را داشته و سریع‌ترین قارچ در بین ایزوله‌های مورد بررسی بود.

خاک دیاتومه در غلظت ۱۰۰۰ و ۵۰۰ ppm نصف جمعیت مورد بررسی لاروهای بید سیب‌زمینی را در ۴/۷۶ و ۵/۹۸ روز از بین برد. با توجه به ماهیت تاثیر فیزیکی این عامل بر جلد بدن و از دست دادن رطوبت و در نهایت مرگ حشره، رطوبت محیط تاثیر زیادی در کارایی این نوع ترکیبات دارد. در صورتی که رطوبت محیط کم بود (به دلیل استاندارد کردن شرایط، در این بررسی رطوبت تقریباً ۵۰ درصد در نظر گرفته شده است) انتظار کاهش مقدار عددی LT₅₀ وجود داشت ولی به هر حال تاثیر فیزیکی خاک دیاتومه زمانبر بود.

جدول ۲- مقادیر LT₅₀ دو غلظت از جدایه‌های مختلف قارچ‌های بیمارگر و خاک دیاتومه علیه لاروهای بید سیب‌زمینی

Table 2. LT₅₀ values of two concentrations of different entomopathogenic fungi isolates and diatomaceous earth, against potato tuber moth larvae

Treatments	Concentration	Chi square			Slope±SE	LT ₅₀ (Day) (Fiducial limits)
		χ ²	DF	P Value		
CS1	10×10 ⁶ *	15.64	4	0.051**	2.92±0.31	1.68 (0.2-76.39)
	5×10 ⁶	1.03	4	0.91	3.81±0.37	2.16(1.2-92.41)
DE	10×10 ⁶	4.34	4	0.36	1.79±0.32	3.86(3.5-20.02)
	5×10 ⁶	1.95	4	0.75	2.83±0.43	4.96(4.6-30.05)
OZ2	10×10 ⁶	5.03	4	0.28	3.07±0.38	4.10(3.4-64.69)
	5×10 ⁶	1.85	4	0.76	3.63±0.45	4.19(3.4-77.71)
SA2	10×10 ⁶	1.55	4	0.82	2.81±0.63	2.89(2.3-16.73)
	5×10 ⁶	1.84	4	0.76	3.89±0.42	4.56(4.5-19.03)
D. Earth	1000ppm	7.66	3	0.053	3.81±0.59	4.76(3.10-56.96)
	500ppm	4.53	3	0.21	2.86±0.56	5.98(5.8-8.09)

*واحد غلظت جدایه‌های مختلف، اسپور در میلی‌لیتر است. ** در تمام موارد کیدو غیر معنی‌دار می‌باشد.

*The concentration units are Conidia/ml. ** Chi squairs are non-significant in all cases.

بحث: با توجه به مقایسه کارایی دو گونه متفاوت قارچ بیمارگر در کنترل لاروهای بید سیب‌زمینی، موضوع تفاوت در گونه قارچ مهم‌ترین عامل تاثیرگذار در مشاهدات می‌باشد. بررسی‌های مختلفی کارایی همین دو گونه قارچ بیمارگر را در کنترل آفات مختلف بررسی و نتایج متفاوتی گزارش کرده‌اند. در مطالعه (Eltir et al. 2024) که فرم تجاری قارچ‌های بیمارگر حشرات را علیه بید سیب‌زمینی مورد بررسی قرار داده مشخص گردید که گونه قارچ بیمارگر *B. bassiana*، در غلظت ۳×۱۰^۹ اسپور در میلی‌لیتر بهتر از همین غلظت قارچ *M. anisopliae* در کاهش جمعیت بید سیب‌زمینی موثر بوده است. در بررسی مشابهی مقادیر LC₅₀ قارچ بیمارگر *B. bassiana* علیه لاروهای سن دوم بید سیب‌زمینی ۱/۹۸×۱۰^۸ اسپور/میلی‌لیتر گزارش شده است که در مقایسه با تحقیق حاضر کارایی کمتری داشته است (Hafez et al. 1994). در مطالعه دیگری (Shehzad et al. 2021) تاثیر همین دو گونه قارچی بر بید کلم (*Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae)) مقایسه شد. نتایج بررسی با روش مشابه بررسی حاضر، نشان داد که مقادیر LC₅₀ قارچ بیمارگر *B. bassiana* برای سنین دوم و سوم بید کلم معادل ۱/۱۴×۱۰^۵ و ۳/۰۸×۱۰^۵ اسپور/میلی‌لیتر و قارچ بیمارگر *M. anisopliae* معادل ۱/۱۴×۱۰^۶ و ۲/۱۵×۱۰^۶ اسپور/میلی‌لیتر بدست آمد. در بررسی حاضر با توجه به تفاوت در جدایه‌ها، فرمولاسیون و وضعیت زیست‌سنجی و گونه حشره نتیجه متفاوت بود و قارچ بیمارگر *M. anisopliae* با LC₅₀ معادل ۶/۵×۱۰^۳ بهتر از موثرترین جدایه (SA2) قارچ بیمارگر *B. bassiana* با LC₅₀ معادل ۳۷×۱۰^۳ اسپور/میلی‌لیتر در مرگ و میر لاروهای بید سیب‌زمینی بود. همچنین شیب خطوط دوز اثر نیز در این تحقیق تقریباً مشابه بود و هر دو کمتر از ۰/۳ برآورد گردید. در مطالعه دیگری کشندگی جدایه‌های مختلف هر دو قارچ بیمارگر تفاوت داشته و در محدوده ۲/۵۴-۵/۰۸×۱۰^۸ متغیر بود (Nawaz & Freed, 2022) که با توجه به نتایج تحقیق حاضر تاثیر کمتری داشت. در مجموع با توجه به نتایج سایر محققین به نظر می‌رسد جدایه‌های قارچی مورد بررسی در تحقیق حاضر زهرآگینی بیشتری نسبت به بید سیب‌زمینی داشتند. تفاوت در کشندگی جدایه‌های مختلف قارچ بیمارگر *B. bassiana* علیه حشرات مختلف و مراحل مختلف رشدی آنها در تحقیقات مختلفی گزارش شده است (Idrees et al. 2022; Eslamizadeh et al. 2015; Safavi et al. 2010). تفاوت تاثیر جدایه‌های مختلف یک قارچ بیمارگر به عوامل متعددی بستگی دارد. این عوامل علاوه بر تفاوت در گونه حشره، به عوامل دیگری همچون تفاوت‌های ژنتیکی و سازگاری قارچ‌های بیمارگر، تعامل آنها با گونه مورد نظر و مرحله زیستی و فیزیولوژی حشره آفت بستگی دارد (Qayyum et al. 2021; Sharma et al. 2022). تفاوت در تاثیر جدایه‌های مختلف قارچ‌های بیمارگر حشرات، بر یک گونه حشره و مراحل مختلف رشدی آن در مطالعات مختلف ثبت شده است (Rodríguez et al. 2009; Oreste et al. 2009).

(2015). مشخص شده است که جدایه‌های مختلف از نظر تحمل شرایط اقلیمی مختلف با توجه به منطقه جمع‌آوری متفاوت عمل کرده‌اند (Hallsforth & Magan, 1999; Fargues & Luz, 2000). همچنین حشرات میزبان، مرحله رشدی و وضعیت فیزیولوژیک آنها در تاثیرپذیری از قارچ‌های بیمارگر نقش مهمی دارد (Safavi et al. 2007; Kazemi Yazdi et al. 2011). حشراتی که در معرض استرس‌های مختلف قرار دارند درجات مختلفی از فعال شدن سیستم ایمنی در آنها دیده می‌شود و میزان فعال بودن سیستم ایمنی در کارایی بیمارگرها نقش زیادی می‌تواند داشته باشد (Zibae et al. 2010; Zhang et al. 2017; Lu & Leger, 2016). علاوه بر نفوذ، رشد و کشندگی جدایه‌های مختلف، میزان اسپورزایی قارچ‌های بیمارگر نیز در شرایط مختلف مربوط به قارچ بیمارگر، میزبان، محیط و تعامل بین آنها می‌تواند متفاوت باشد (Mwamburi et al. 2015). این موضوع در امر پایداری و تداوم کنترل حشرات نقش بسزایی دارد. رطوبت و دما نیز دو عامل بسیار مهم در کارایی قارچ‌ها بیمارگر حشرات هستند که نه تنها بیولوژی حشره و قارچ بیمارگر، بلکه تعامل بین این دو وقتی حشره به قارچ آلوده می‌شود را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Kiewnick, 2006). جدایه‌های مختلف، دما و رطوبت بهینه خود را دارند به همین دلیل بررسی و شناسایی جدایه‌های مختلف قارچی که بتوانند در شرایط اقلیمی آفت هدف، بهترین کارکرد را داشته باشند اهمیت بسیار زیادی دارد (Lacey & Croschel, 2009; Fargue et al. 1997). همچنین کارایی برخی گونه‌ها و جدایه‌ها بر روی حشرات خاصی بیشتر است بنابراین غربالگری جدایه‌های مختلف برای یافتن موثرترین جدایه لازم و ضروری است. در مطالعه حاضر تفاوت در کارایی جدایه‌های مختلف قارچ‌ها بیمارگر نشان دهنده ارزش بررسی و غربالگری برای معرفی جدایه مناسب می‌باشد.

در بررسی حاضر مقدار عددی LT_{50} برای جدایه‌های مختلف قارچ‌های بیمارگر مختلف در محدوده $1/68$ الی $4/96$ روز بدست آمد. سرعت کشندگی قارچ‌های بیمارگر از جنبه‌های مختلف اهمیت دارد. با توجه به واکنش بدن حشره به عوامل خارجی و نیز وضعیت فیزیولوژیک حشره از نظر پوست‌اندازی که در مجموع باید فرصت کافی برای رشد اسپور و نفوذ به کوتیکول و در نهایت نشو و نما در همولف را به قارچ بیمارگر بدهد، هر چقدر سرعت تاثیر قارچ بیشتر باشد موفقیت این عوامل در کنترل آفات نیز بیشتر خواهد بود. در مقایسه جدایه‌های بررسی شده در تحقیق حاضر با جدایه‌های مورد بررسی در تحقیق Ibrahim et al. (2019) که در غلظت 10^7 اسپور/میلی لیتر $1/21$ روز بود، جدایه CS1 تحقیق حاضر غلظت مشابه $1/68$ روز بود که تقریباً مشابهت بهتری در مقایسه با سایر جدایه‌ها داشت. در بررسی Nawaz & Freed (2022) که تاثیر جدایه‌های مختلف قارچ‌های بیمارگر را بررسی کرده است مقدار عددی LT_{50} معادل $6/95-4/8$ روز بدست آمد که در مقایسه با تحقیق حاضر بیشتر بود. زمان لازم برای کشندگی به عنوان یک فاکتور تاثیرگذار در غربالگری جدایه‌های مختلف قارچ‌های بیمارگر حشرات است. این زمان با افزایش غلظت جدایه کاهش مییابد که در بررسی حاضر نیز این موضوع تایید شد.

خاک دیاتومه به‌عنوان یک عامل کنترل حشرات با اثر فیزیکی چه به‌صورت کاربرد انفرادی و چه به‌صورت تلفیق با سایر عوامل کنترلی اثرات خوبی بخصوص در آفات انباری نشان داده است (Baliota & Athanassiou, 2020; Khanbabayi et al. 2019; Zeni et al. 2021). در بررسی حاضر مقدار عددی LC_{50} برابر 164 ppm و در غلظت 500 ppm خاک دیاتومه LT_{50} معادل $4/76$ روز برآورد گردید. هر چند با بررسی منابع صورت گرفته مطالعه مستقیم تاثیر خاک دیاتومه بر لاروهای بید سیب‌زمینی مشاهده نشد ولی سمیت مشاهده شده در تحقیق حاضر نشان از کارایی مناسب این ترکیب در کنترل بید سیب‌زمینی دارد. تاثیر بسیار خوب خاک دیاتومه در کنترل شفیره‌های بید سیب‌زمینی در بررسی Atay et al. (2021) مشاهده شد. با افزایش زمان در معرض قرارگیری مرگ و میر شفیره‌ها افزایش یافته و در تمام غلظت‌های مورد استفاده، هیچ حشره کاملی ظاهر نشد. به نظر می‌رسد با توجه به امنیت بالای خاک دیاتومه و کنترل موثر آن علیه بید سیب زمینی با مطالعات تکمیلی بتوان از این ترکیب در کنترل این آفت در شرایط انباری استفاده کرد. همچنین با مقایسه صورت گرفته با نتایج سایر محققین، کارایی جدایه‌های قارچ‌های بیمارگر مورد استفاده بخصوص جدایه CS1 در این مطالعه، از نظر کشندگی و سرعت تاثیر بهتر بود است. هر چند نتیجه نهایی در شرایط مزرعه‌ای و انباری بدست خواهد آمد ولی به‌نظر می‌رسد این جدایه قارچی، پتانسیل لازم برای کنترل لاروهای بید سیب‌زمینی در شرایط انباری و یا مزرعه‌ای را داشته باشد.

تقدیر و تشکر: این مقاله حاصل نتایج بخشی از پایاننامه دوره کارشناسی ارشد حشره‌شناسی کشاورزی است که با تامین مالی و مساعدت معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه شهید مدنی آذربایجان انجام شده است که بدین وسیله از معاونت محترم تشکر و قدردانی می‌گردد. همچنین از گروه گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، جهت در اختیار گذاشتن جدایه‌های قارچی تشکر و قدردانی می‌شود.

References

منابع

- Abd El-Aziz, S.E., & Abd El-Ghany, N.M. (2018). Impact of diatomaceous earth modifications for controlling the granary weevil, *Sitophilus granarius* (Linnaeus) (Coleoptera: curculionidae). *Journal of Agricultural Science and Technology*, 20, 519-531. Doi: 20.1001.1.16807073.2018.20.3.12.8
- Abdallah, Y.E. (2017). Yield losses caused to potato plants by potato tuber worm, *Phthorimaea operculella* (Zeller) and its economic levels at Qalyubia Governorate. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*, 10(2), 73-79. Doi: 10.21608/eajbsa.2017.12675
- Adhikari, A., Oli, D., Pokhrel, A., Dhungana, B., Paudel, B., Pandit, S., Bigyan, G.C., & Dhakal, A. (2022). A review on the biology and management of potato tuber moth. *Agriculture*, 68(3), 97-109. Doi:10.2478/agri-2022-0009
- Agrafioti, P., Vrontaki, M., Rigopoulou, M., Lampiri, E., Grigoriadou, K., Ioannidis, P.M., Rumbos, C.I., & Athanassiou, C.G. (2023). Insecticidal effect of diatomaceous earth formulations for the control of a wide range of stored-product beetle species. *Insects*, 14(7), 656. Doi: 10.3390/insects14070656. PMID: 37504662; PMCID: PMC10380314.
- Atay, T., Alkan, M., & Ertürk, S. (2021). Insecticidal efficacy of native diatomaceous earth against potato tuber moth, [*Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae)], pupae. *KSU Journal of Agriculture and Nature* 24 (1):165-170. Doi: 10.18016/ksutarimdog.vi.718094.
- Athanassiou, C.G., Kavallieratos, N.G., Vayias, B.J., Tsakiri, J.B., Mikeli, N.H., Meletsis, C.M., & Tomanovic, Z. (2008). Persistence and efficacy of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) and diatomaceous earth against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) and *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae) on wheat and maize. *Crop Protection*, 27, 1303-1311. Doi:10.1016/j.cropro.2008.03.004
- Bischoff, J.F., Rehner, S.A., Humber, & R.A. (2009). A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. *Mycologia*, 101(4), 512-530. Doi: 10.3852/07-202
- Butt, T.M., Jackson, C., & Magan, N. (2001). *Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems, and Potential*, CABI Publishing, Wallingford, United Kingdom.
- Capinera, J.L. (2001). *Handbook of vegetable pests*. Academic press.
- Dadaşoğlu, F., Tozlu, E., Tozlu, G., Tatar, M., & Kotan, R. (2023). Fungal and bacterial bioagents efficiency on the control of potato pest *Phthorimaea operculella* via ingestion or contact. *Journal of Agricultural Production*, 4(1), 72-80. Doi:10.56430/japro.1313505
- De Faria, M.R., & Wraight, S.P. (2007). Mycoinsecticides and Mycoacaricides: A comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biological Control*, 43, 237-256. Doi:10.1016/j.biocontrol.2007.08.001
- Eltair, A.S., Abd-El Rahman, I.E., Ibrahim, & A.A. 2024. Efficacy of certain entomopathogenic fungi for controlling the potato tuber moth *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae) under field conditions in Beheira Governorate, Egypt. *Egyptian Journal of Plant Protection Research Institute*, 7 (2), 188-198
- Eslamizadeh, R., Sajap, A.S.B., Omar, D.B., & Binti Adam, N.A. (2015). Evaluation of different isolates of entomopathogenic fungus, *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Biocontrol in Plant Protection*, 2 (2), 82-91.
- Faraji, S., Derakhshan Shadmehri, A., & Mehrvar, A. (2016). Compatibility of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* with some pesticides. *Journal of Entomological Society of Iran*, 36, 137-146.
- Faraji, S., Mehrvar, A., & Derakhshan Shadmehri, A. (2013). Studies on the virulence of different isolates of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin and *Metarhizium anisopliae* (Metscn.) Sorokin against Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller (Lep.: Pyralidae). *African Journal of Agricultural Research*, 8 (30), 4157-4161.
- Fargues, J., Goettel, M.S., Smits, N.A.M., & Rougier, O. (1997). Effect of temperature on vegetative growth of

- Beauveria bassiana* isolates from different origins. *Mycologia*, 89(3), pp. 383-392.
- Fargues, J. & Luz, C. (2000). Effects of Fluctuating Moisture and Temperature Regimes on the Infection Potential of *Beauveria bassiana* for *Rhodnius prolixus*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 75, 202-211.
- Furong, G., & Zhengue, L. (2003). A method for rearing the potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* on potato. *Kunchong Zhishi*, 40(2), 187-189.
- Gao, Q., Jin, K., Ying, S.H., Zhang, Y., Xiao, G., Shang, Y., Duan, Z., Hu, X., Xie, X.Q., & Zhou, G. (2011). Genome sequencing and comparative transcriptomics of the model entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *M. acridum*. *PLoS Genetics*, 7(1).
- Gautam, S., Pandey, R., Yadav, & R.K. (2023). Eco-friendly management of potato tuber moth (*Phthorimaea operculella* Zeller) under storage and field condition in Dailekh, Nepal. *Fundamental and Applied Agriculture*, 8(4), 706-716. Doi:10.5455/faa.3808
- Greenfield, B.P., Peace, A., Evans, H., Dudley, E., Ansari, M.A., & Butt, T.M. (2015). Identification of *Metarhizium* strains highly efficacious against *Aedes*, *Anopheles* and *Culex* larvae. *Biocontrol Science and Technology*, 25(5), 487-502. Doi: 10.1080/09583157.2014.989813
- Hafez, M., Zaki, F.N., Moursy, A., & Sabbour, M. (1997). Biological effects of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* on the potato tuber moth *Phthorimaea operculella* (Seller). *Entomology*, 70, 158-159. Doi:10.1007/BF01907353
- Hallsworth, J.E., & Magan, N. (1999). Water and Temperature Relations of Growth of the Entomogenous Fungi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces farinosus*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 74, 261-266. Doi:10.1006/jipa.1999.4883
- Hasani, M.J., Ahmadi, A., & Valizadeh, B. (2022). Evaluation of the effect of diatomaceous earth and two compounds derived from chinaberry tree (*Melia Azedarach*) extract on mortality of nymphs and spawning rate of common pistachio psyllid *Agonoscena pistaciae* Burkhardt and Lauterer (Hem.: Psyllidae) under field conditions. *Pistachio and Health Journal*, 5 (2), 58-66. Doi: 10.22123/phj.2022.348550.1133
- Ibrahim, A.A., Farag, S.R.M., & Mohamed, S.A. (2019). Combined effect of *Beauveria Bassiana* (Bals.) and gamma irradiation on potato tuber moth *Phthorimaea Operculella* (Zeller). *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 97 (2), 559-570.
- Idrees, A., Afzal, A., Qadir, Z.A., & Li, J. (2022). Bioassays of *Beauveria bassiana* isolates against the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *Journal of Fungi*, 8 717. Doi:10.3390/jof8070717
- Kazemi Yazdi, F., Eilenberg, J., & Mohammadipour, A. (2011). Biological characterization of *Beauveria bassiana* (Clavicipitaceae: Hypocreales) from overwintering sites of Sunn Pest, *Eurygaster integriceps* (Scutelleridae: Heteroptera) in Iran. *International Journal of Agricultural Science and Research*, 2(2), 7-16.
- Khanbabayi, Z., Saber, M., Vojoudi, S., & Gharekhani, G. (2019). Investigating the effects of a mixture of diatomaceous earth and spinosad insecticide to control adult flour weevils, *Tribolium castaneum* Herbst. (Col: Tenebrionidae) *World Journal of Environmental Biosciences*, 8(2), 41-43
- Kiewnick, S. (2006). Effect of temperature on growth, germination, germ-tube extension and survival of *Paecilomyces lilacinus* strain 251. *Biocontrol Science and Technology*, 16, 535-546. Doi: 10.1080/09583150500532766
- Korunic, Z. (1998). Diatomaceous earths, a group of natural insecticides. *Journal of Stored Product Research*, 34, 87-97. Doi:10.1016/S0022-474X(97)00039-8
- Lacey, L.A., & Croschel, J. (2009). Microbial control of the tuber potato moth (Lepidoptera: Gelechiidae). *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, 3, 46-54.
- Lu, H.L., & Leger R.J.S. (2016). Insect immunity to entomopathogenic fungi. *Advances in Genetics*, 94, 1-35.
- Meyling, N.V., Schmidt, N.M., & Eilenberg, J. (2012). Occurrence and diversity of fungal entomopathogens in soils of low and high Arctic Greenland *Polar Biology*, 35(9), 1439-1445. Doi: 10.1007/s00300-012-1183-6
- Mwamburi, L.A., Laing, M.D., Miller, R.M., Mwamburi, L.A., Laing, M.D., & Miller, R.M. (2015). Effect of surfactants and temperature on germination and vegetative growth of *Beauveria bassiana*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 46, 67-74. Doi:10.1590/S1517-838246120131077.
- Nawaz, M., & Freed, S. (2022). Pathogenicity of different isolates of entomopathogenic fungi on cotton mealybug, *Phenacoccus solenopsis* Tinsley. *Pakistan Journal of Zoology*, 54(1), 275-282, DOI: https://dx.doi.org/10.17582/journal.pjz/20161124031127
- Oreste, M., Baser, N., Bubicic, G., & Tarasco, E. (2015). Effect of *Beauveria bassiana* strains on the *Ceratitidis capitata* - *Psytalia concolor* system. *Bulletin of Insectology*, 68 (2), 265-272.
- Qayyum, M.A., Bilal, H., Ullah, U.N., Ali, H., Raza, H., & Wajid, M. (2021). Factors affecting the epizootics of entomopathogenic fungi-a review. *Journal of Bioresource Management*, 8 (4). Doi.org/10.35691/JBM.1202.0204
- Rigopoulou, M., Baliota, G.V., & Athanassiou, C.G. (2023). Persistence and efficacy of diatomaceous earth against stored product insects in semi-field trials, *Crop*

- Protection, 174, 106416, Doi:10.1016/j.cropro.2023.106416.
- Rodríguez, M., Gerding, M., & France, A. (2009). Selection of entomopathogenic fungi to control *L. Varroa destructor* (Acari: Varroidae). *Chilean Journal of Agricultural Research*, 69(4), 534-540.
- Sabbour, 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) Doi:10.3923/pjbs.2002.1155.1159
- Safavi, S.A., Kharrazi, A., Rasoulia, G.R., & Bandani, A.R. (2010). Virulence of some isolates of entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* on *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 12, 13-21. Dor: 20.1001.1.16807073.2010.12.1.10.6
- Safavi, S.A., Shah, F.A., Pakdel, A.K., Rasoulia, G.R., Bandani, A.R. & Butt, T.M. (2007). Effect of nutrition on growth and virulence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *FEMS Microbiol Lett* 270 116–123. Doi: 10.1111/j.1574-6968.2007.00666.x
- Shafiqhi, Y., Ziaee, M., & Ghosta, Y. (2014). Diatomaceous earth used against insect pests, applied alone or in combination with *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. *Journal of Plant Protection Research*, 54(1), Doi: 10.2478/jppr-2014-0009
- Sharma, A., Sharma, S., & Yadav, P.K. (2023). Entomopathogenic fungi and their relevance in sustainable agriculture: A review. *Cogent Food and Agriculture*, 9(1). Doi:10.1080/23311932.2023.2180857
- Shehzad, M., Tariq, M., Mukhtar, T., & Gulzar, A. (2021). On the virulence of the entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (Ascomycota: Hypocreales), against the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 31, 86 Doi:10.1186/s41938-021-00428-z
- Subramanyam, B., & Roesli, R. (2000). Inert dusts. In: Subramanyam, B., Hagstrum D.W. (Eds.), *Alternatives to pesticides in storedproduct IPM*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp: 321 – 380. Doi:10.1007/978-1-4615-4353-4_12
- Trivedi, T.P., & Rajagopal, D. (1992). Distribution, biology, ecology and management of potato tuber moth, *phthorimaea operculella* (zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae): a review. *Tropical pest management*, 8(3), 279-285. Doi:10.1080/09670879209371709
- Zeleke, T., Mulatu, B., & Negeri, M. (2014). Evaluation of entomopathogenic fungi against potato tuber moth (*Phthorimaea operculella* ZELLER.) in west Shoa, Ethiopia. *Journal of Science and Sustainable Development*, 2(2), 21-33. Doi:10.20372/au.jssd.2.2.2014.030
- Zeni, V., Baliota, G.V., Benelli, G., Canale, A., & Athanassiou, C.G. (2021). Diatomaceous earth for arthropod pest control: back to the future. *Molecules*, 26(24), 7487. Doi: 10.3390/molecules26247487.
- Zhang, M.D., Wu, S.Y., Yan, J.J., Reitz, S., & Gao, Y.L. (2022). Establishment of *Beauveria bassiana* as a fungal endophyte in potato plants and its virulence against potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Insect Science*, Doi:10.1111/1744-7917.13049
- Zhang, W., Meng, J., Ning, J., Qin, P., Zhou, J., Zou, Z., Wang, Y., Jiang, H., Ahmad, F., Zhao, L., & Sun, J. (2017). Differential immune responses of *Monochamus alternatus* against symbiotic and entomopathogenic fungi. *Life Sciences*, 60 (8), 902–910. Doi: 10.1007/s11427-017-9102-y
- Zibae, A., Bandani, A.R, Talaei-Hassanlouei, R., & Malagoli, D. (2010). Cellular immune reactions of the sunn pest, *Eurygaster integriceps*, to the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* and its secondary metabolites. *Journal of Insect Science*, 11, 1-16. Doi: 10.1673/031.011.13801
- Zimmermann, G. (2007). Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*, *Biocontrol Science and Technology*, 17(6), 553-596. Doi:10.1080/09583150701309006