

Research Article

Comparative efficacy of two oil-based liquids of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* against the silverleaf whitefly *Bemisia tabaci*Saeedeh Javar^{✉1}, Shahram Farrokhi², Mahboobeh Sharifi¹, Kourosh Ghaderi¹, Fatemeh Sadat Hosseini¹

- ¹ Plant Protection Research Department, Golestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Gorgan, Iran
² Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Corresponding author✉ sajavar@gmail.com**Abstract:**

Given the significance of insect-pathogenic fungi in controlling sucking pests, this study evaluated two types of oily liquids containing *Beauveria bassiana* against whitefly nymphs through laboratory and greenhouse bioassays. The oily liquids were prepared using fungal conidia and blastospores separately. The first oily liquid contained liquid paraffin and tween 80, carboxymethyl cellulose and talc. The second oily liquid consisted of liquid paraffin with an emulsifier (polyethylene glycol). For comparison, fungal propagules were mixed in sterile distilled water and tween 80 (non-oily liquid treatment). Laboratory bioassays and LC₅₀ determination were conducted on leaf surfaces, and greenhouse bioassays were performed on whitefly-infested potted plants. The survival of fungal conidia and blastospores in both oily liquids was monitored for four months at ambient and refrigerated temperatures. In laboratory bioassays, mortality rates increased with higher fungal concentrations. In greenhouse conditions, two foliar applications of the oily liquids on infested plants showed that the first oily liquid had the highest efficacy with 77.86% mortality, while the non-oily liquid had the lowest at 63.32%. The first oily liquid also demonstrated better fungal survival than the second oily liquid at both temperatures. Overall, both oily liquids exhibited higher mortality rates than the non-oily liquid in all bioassays, particularly in the greenhouse experiment.

Keywords

Bioassay, Conidia, Whitefly, Blastospore, Oily liquid,

Received: 25 November 2024**Revised:** 29 Marc 2025**Accepted:** 21 April 2025**Available online:** 31 August 2025**Cite this article:**

Javar S, Farrokhi S, Sharifi M, Ghaderi K, Hosseini FS, 2025. Comparative efficacy of two oil-based liquids of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* against the silverleaf whitefly *Bemisia tabaci*. *J Appl Res Plant Prot* 14 (3): 207–220.

<https://dx.doi.org/10.22034/arpp.2025.20280>



Copyright© 2025 University of Tabriz, Published by the University of Tabriz.

This is an open access article under the CC BY NC license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/>)

اثر مقایسه‌ای دو نوع مایع روغنی از قارچ بیمارگر حشرات *Beauveria bassiana* روی سفیدبالک جالیز *Bemisia tabaci*

سعیده جاور^۱✉، شهرام فرخی^۲، محبوبه شریفی^۱ و کورش قادری^۱ و فاطمه سادات حسینی^۱

^۱ بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان، ایران

^۲ مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

نویسنده مسئول: sajavar@gmail.com ✉

دریافت: ۱۴۰۳/۰۹/۰۵ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۱/۰۹ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۲/۰۱

چکیده

با توجه به اهمیت استفاده از قارچ‌های بیمارگر حشرات در کنترل آفات مکنده، در این پژوهش دو نوع مایع روغنی حاوی سویه زهرآگین از قارچ *Beauveria bassiana* تهیه و زیست‌سنجی‌های آزمایشگاهی و گلخانه‌ای آن روی پوره‌های سفیدبالک جالیز انجام شد. در تهیه مایع روغنی از کنیدیوم و بلاستوسپور قارچ به صورت جداگانه استفاده شد. مایع روغنی اول، حاوی پارافین مایع و توپین ۸۰، کربوکسی متیل سلولز و تالک و مایع روغنی دوم، از پارافین مایع به همراه امولسیفایر (پلی‌اتیلن گلیکول) تشکیل شده است. برای مقایسه، پروپاگول‌های قارچی در آب مقطر استریل و توپین ۸۰ مخلوط شدند (تیمار مایع غیر روغنی). زیست‌سنجی آزمایشگاهی و تعیین LC₅₀ در شرایط آزمایشگاهی روی سطح برگ و زیست‌سنجی گلخانه‌ای در گلدان روی گیاهان آلوده به آفت انجام شد. در این پژوهش هم‌چنین زنده‌مانی کنیدیوم و بلاستوسپورهای قارچ در هر دو مایع روغنی تا چهار ماه در دمای محیط آزمایشگاه و در یخچال بررسی شد. در زیست‌سنجی آزمایشگاهی، در همه تیمارها با افزایش غلظت قارچ میزان مرگ نیز افزایش داشته است. در شرایط گلخانه با دو نوبت پاشش مایع روغنی روی بوته‌های آلوده، بهترین تاثیر را تیمار مایع روغنی اول با ۷۷/۸۶ درصد تلفات و کم‌ترین تاثیر را تیمار مایع غیر روغنی با ۶۳/۳۲ درصد نشان داد. زنده‌مانی قارچ در مایع روغنی اول در هر دو دمای مورد مطالعه نسبت به مایع روغنی دوم بهتر بوده است. در همه زیست‌سنجی‌ها و به‌ویژه در آزمایش گلخانه‌ای، هر دو مایع روغنی درصد مرگ‌ومیر بالاتری نسبت به مایع غیر روغنی روی پوره‌های سفیدبالک نشان دادند.

کلمات کلیدی: بلاستوسپور، زیست‌سنجی، سفیدبالک، کنیدی، مایع روغنی

مقدمه

بیش‌تری وارد می‌کند (Sakenin Chalav et al. 2008). این آفت از طریق مکیدن شیره گیاهی، اختلال در فرآیند فتوسنتز گیاه از طریق ترشح عسلک، جذب گرد و غبار هوا و رشد قارچ‌های ساپروفیت روی عسلک ترشح شده، و هم‌چنین انتقال مستقیم و غیرمستقیم بیماری‌های ویروسی به گیاهان میزبان، خسارت قابل‌توجهی وارد می‌سازد (Horowitz et al. 2011). در حال حاضر، برای کنترل این آفت در درجه اول از آفت‌کش‌های شیمیایی معمول استفاده می‌شود که با توجه به تعداد نسل زیاد آفت، مقاوم شدن سریع سفید-بالک به این آفت‌کش‌ها گزارش شده است (Palumbo et al. 2001; Horowitz et al. 2020).

از آنجا که آفات چند نسلی هم‌چون سفیدبالک‌ها به راحتی در برابر حشره‌کش‌های شیمیایی مقاومت پیدا می‌کنند، تمایل به استفاده از قارچ‌های بیمارگر حشرات علیه آن‌ها در سراسر جهان افزایش یافته است (Chandler et al. 2000; Faria &

Hemiptera) سفیدبالک‌ها حشراتی کوچک و بال‌دار از راسته Aleyrodidae هستند (Martin et al. 2000). از این خانواده، سفیدبالک جالیز (*Bemisia tabaci* Gennadius)، یکی از آفات مهم و چالش‌برانگیز در تولید محصولات جالیزی، زینتی و صیفی‌جات در سراسر جهان و ایران به شمار می‌رود. به‌عنوان مثال، خسارت ناشی از این آفت در مکزیک طی سال‌های ۱۹۹۱ و ۱۹۹۲ تنها به محصولاتی مانند خربزه، هندوانه پاییزی، کنجد و پنبه بیش از ۳۳ میلیون دلار برآورد شد. هم‌چنین، به دلیل خسارت‌های گسترده این آفت، سطح زیر کشت پنبه از ۲۰۰ هزار هکتار در سال ۱۹۵۵ به ۶۵۳ هکتار در سال ۱۹۹۲ کاهش یافت (Oliveira et al. 2000). در ایران نیز این آفت یکی از گونه‌های زیان‌آور محصولات کشاورزی است که در مقایسه با سایر سفیدبالک‌ها از نظر اقتصادی و انتقال بیماری‌های ویروسی اهمیت بالایی داشته و خسارت

صنایع مانند سبوس گندم، ضایعات ماکارونی، کاه و پوست سیب‌زمینی برای تولید کنیدی قارچ‌های *B. bassiana* و *M. anisopliae* مورد ارزیابی قرار گرفته است که بیش‌ترین تولید کنیدی قارچ *B. bassiana* در محیط سبوس گندم و قارچ *M. anisopliae* در محیط ضایعات ماکارونی مشاهده شده است (Bigham & Talaei-Hassanloui, 2017). از آنجایی که مهم‌ترین عوامل محدودکننده کاربرد قارچ‌ها به‌عنوان آفت‌کش اشعه فرابنفش خورشید، دما و رطوبت نسبی نامناسب محیط پس از پاشش آن‌ها روی گیاه و خاک است، با استفاده از فرمولاسیون‌های مناسب می‌توان به طور قابل توجهی کارایی آفت‌کش‌های زیستی بر پایه قارچی را بهبود بخشید. مزایای فرمولاسیون‌های پایه روغن به وفور گزارش شده است که شامل افزایش فعالیت حشره‌کشی و همین‌طور محافظت از قارچ در برابر اثرات سوء محیطی است (Lopes et al. 2011; Oliveira et al. 2018). افزایش میزان حشره‌کشی در فرمولاسیون روغنی می‌تواند به خاطر افزایش میزان چسبندگی کنیدیوم قارچ به سطح میزبان و جوانه‌زنی سریع قارچ روی سطح آبگریز حشره باشد (Holder & Keyhani 2005; Lopes & Faria 2019). وجود روغن در فرمولاسیون، کنیدیوم قارچ را در برابر تنش‌های محیطی از جمله اشعه فرابنفش خورشید، دما و کمبود رطوبت محیط حفظ می‌کند. از طرف دیگر در فرمولاسیون‌های خشک و پودری نیاز است که در هنگام استفاده از این فرآورده‌ها، در آب مخلوط گردند. آبگریز بودن زیاد کنیدیوم‌های هوایی در *B. bassiana* و بسیاری دیگر از قارچ‌های بیمارگر حشرات، مخلوط آن‌ها در آب را برای کاربر نهایی دشوار می‌کند. اگرچه در فرمولاسیون‌های پودری که اخیراً توسعه یافته‌اند این قبیل مشکلات به خوبی حل شده است. تنها موردی که برای این نوع فرمولاسیون‌ها باقی مانده است سرعت بیش‌تر کاهش شاخص‌های زنده‌مانی در فرمولاسیون‌های خشک است که در مقایسه با فرمولاسیون‌های روغنی درصد آن بیش‌تر است. در فرمولاسیون روغنی، کنیدیوم‌های قارچ در داخل قطرات روغن احاطه می‌شوند (Wright et al. 2016). در این پژوهش سویه برتر قارچ بیمارگر حشرات *B. bassiana* (Code: A1-1) در اختلاط با دو نوع مایع روغنی بر پایه پارافین از جنبه زنده‌مانی قارچ در این مایع و نیز میزان اثربخشی آن در کنترل پوره‌های سفیدبالک جالیز در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مطالعه و بکارگیری آفت‌کش‌های زیستی بر پایه قارچ‌های بیمارگر حشرات برای کنترل آفات مکنده از جمله سفیدبالک‌ها، شته‌ها و تریپس‌ها در سال‌های اخیر در حال افزایش است که بیش‌ترین بیمارگرهای قارچی تحت بررسی شامل *Isaria fumosorosea* (Wize)، *Beauveria bassiana* (Balsamo)، *Brown & Smith*، *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff)، *Vuillemin*، *Lecanicillium lecanii* (Zimmermann) Zare & Sorokin و *Gams* هستند (Wright et al. 1998, 2000; Malsam et al. 2002; Ying et al. 2003; Wang et al. 2007; Zhang et al. 2019). در این میان استفاده از قارچ *B. bassiana* به‌دلیل توسعه خوب تولید انبوه و فناوری فرمولاسیون آن، گسترش بیش‌تری داشته است (Bradley et al. 1992; Feng et al. 2016; Mascarini & Jaronsky 1994). بررسی منابع علمی نشان می‌دهد که در بیش‌تر مواقع، کنیدیوم‌های هوایی قارچ *B. bassiana* به‌عنوان عامل فعال در تهیه فرمولاسیون قارچی در بازارهای جهانی استفاده شده است که این کنیدیوم‌ها یا همراه با آب به‌عنوان حامل یا به صورت مخلوط با روغن بوده است (Feng et al. 2004; Faria & Wright 2007; Jaronski & Jackson 2012). طبق بررسی‌های (Faria & Wright 2007)، از بین فرآورده‌های تجاری بر پایه قارچ، فرآورده‌های فرموله نشده، فرمولاسیون خشک (عمدتاً پودر قابل تعلیق در آب) و فرمولاسیون مایع (عمدتاً بر پایه روغن) به ترتیب ۲۶/۳، ۲۰/۵ و ۱۵/۲ درصد را تشکیل می‌دهند.

توسعه آفت‌کش‌های زیستی قارچی نیازمند انتخاب سویه زهرآگین، تولید انبوه با صرفه اقتصادی و فرمولاسیون‌های متناسب با شرایط آب و هوایی منطقه است. به منظور دستیابی به بستر کشت ارزان‌قیمت و با صرفه اقتصادی، مطالعات مختلفی در داخل کشور در زمینه استفاده از بقایای گیاهی مختلف به‌عنوان بستر کشت جامد صورت گرفته است. در این بین انواع مواد غذایی نظیر شلتوک برنج، گندم، ارزن، سیب‌زمینی و ملاس چغندر قند دیده می‌شود (Asgari et al. 2009). همچنین محیط‌های غذایی مختلف شامل آرد گندم، سبوس گندم، آرد برنج، سبوس برنج، شلتوک برنج، ارزن و آرد ذرت برای تولید کنیدی‌های هوایی دو جدایه از قارچ *B. bassiana* به روش تخمیر دوفازی مایع-جامد مورد ارزیابی قرار گرفته است که سبوس گندم بیش‌ترین میزان تولید کنیدی را نشان داده است (Bena-Molaei et al. 2011). در زمینه دیگر قارچ-های بیمارگر حشرات، ضایعات مختلف محصولات کشاورزی و

کشت و تکثیر جدایه قارچی

در این پژوهش از سویه A1-1 قارچ *B. bassiana* متعلق به موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور استفاده شد. این سویه قارچی در پروژه تحقیقاتی اخیر بهترین عملکرد را روی پوره‌های سفیدبالک گلخانه نشان داده است (Javar et al. 2019). تولید انبوه این سویه قارچی بر اساس یافته‌های (Javar et al. 2023) به دو روش، یکی روی بستر جامد برای تولید کنیدیوم و دیگری در محیط مایع برای تولید بلاستوسپور صورت گرفت. برای تولید کنیدیوم از سبوس برنج به همراه هشت درصد آب پنیر (تهیه شده از شرکت فرآورده‌های لبنی آشوراده گلستان) در داخل کیسه‌های نایلونی مقاوم به حرارت استفاده شد و در انکوباتور با دمای 1 ± 25 درجه سلسیوس، رطوبت ۶۰ درصد و تاریکی مطلق نگهداری شدند. کنیدیوم‌های قارچ پس از رشد کامل با استفاده از الک دستی با مش ۱۶۰ جدا شده و در دمای یخچال (1 ± 3 °C) برای استفاده در آزمایش‌ها نگهداری شدند. برای تولید بلاستوسپور از محیط مایع عصاره سیب‌زمینی به اضافه آب پنیر هشت درصد استفاده شد. به این صورت که مقدار ۲۰۰ گرم سیب‌زمینی پوست گرفته شده را با یک لیتر آب مقطر پخته و عصاره آن گرفته شد. سپس حجم آن با آب مقطر به یک لیتر رسانده شد. به این عصاره سیب‌زمینی به میزان هشت درصد آب پنیر اضافه گردید. پس از تلقیح قارچ به بستر آماده شده، در شرایط دمایی 1 ± 25 درجه سلسیوس، رطوبت ۶۰ درصد و تاریکی مطلق در شیکر انکوباتور نگهداری شدند.

پرورش سفیدبالک‌ها

پوره‌های سفیدبالک جالیز از مزارع جالیزی روستاهای اطراف شهرستان گرگان جمع‌آوری و حشرات کامل در آزمایشگاه بر اساس مشخصات ریخت‌شناسی شناسایی گردید. برای ایجاد کلنی آفت هدف، پس از کشت بذر رقم رایج خیار و لوبیا سبز در داخل گلدان در گلخانه (با شرایط 3 ± 25 °C، رطوبت نسبی 10 ± 70 درصد و دوره روشنایی طبیعی)، بوته‌های ۸-۶ برگی با حشرات کامل سفیدبالک جالیز آلوده شدند.

تهیه مایع روغنی

برای انجام آزمایش‌ها دو نوع مایع روغنی تهیه شد. مایع روغنی جداگانه هم بر پایه کنیدیوم و هم بر پایه بلاستوسپور تهیه شدند. در آزمایش‌های زیست‌سنجی، درصد زنده‌مانی کنیدیوم و بلاستوسپور پیش از استفاده مورد بررسی قرار گرفت

و از کنیدیوم‌ها و بلاستوسپورهای که بالای ۹۰ درصد زنده‌مانی داشتند استفاده شد. برای تهیه مایع روغنی اول از یافته‌های (Vimala Devi & Hari 2009) با کمی تغییرات استفاده شد. به این صورت که مایع روغنی بر پایه پارافین مایع شامل ۳۳ گرم پارافین مایع و توئین ۸۰ (به نسبت یک به ۰/۰۸)، ۱/۵ گرم کربوکسی متیل سلولز (CMC) و ۰/۵ گرم تالک تهیه و خوب هم زده شد (تیمار مایع روغنی اول). در این مایع، پارافین مایع به عنوان حامل، توئین ۸۰ خاصیت پخش‌کنندگی و سورفکتانت، کربوکسی‌متیل‌سلولز در تعلیق‌پذیری و پایدار-کنندگی ذرات معلق و پودر تالک به‌عنوان حامل و تا حدی خاصیت حشره‌کشی، نقش دارند. در مایع روغنی دوم مطابق با روش استفاده شده توسط (Shi et al. 2008) اندام‌های خشک قارچ به مخلوطی از ۹۵ درصد پارافین مایع به همراه ۵ درصد امولسیفایر (پلی‌اتیلن گلیکول) اضافه شد (تیمار مایع روغنی دوم). در این مایع به مقداری کنیدیوم یا بلاستوسپور قارچ اضافه شد که غلظت قارچ پس از اضافه کردن آب مقطر به مقدار مورد نیاز برسد. به ۱/۵ میلی‌لیتر از فرمولاسیون‌های بالا ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل اضافه شد. برای مقایسه، پروپاگول‌های قارچی در آب مقطر استریل حاوی ۰/۵ درصد توئین ۸۰ مخلوط و مورد مطالعه قرار گرفت (تیمار مایع غیر روغنی). تمامی مراحل تهیه مایع روغنی در زیر هود آزمایشگاهی استریل انجام شد.

تعیین درصد زنده‌مانی قارچ بیمارگر فرموله شده در طول زمان درصد زنده‌مانی کنیدیوم‌ها و بلاستوسپورها در هر دو مایع روغنی پس از یک ساعت، دو ماه و چهار ماه پس از نگهداری در دو دمای محیط (5 ± 25 °C) و یخچال (1 ± 3 °C) مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این کار میزان CFU هر یک از آن‌ها پس از رقیق‌سازی انجام گرفت. برای رقیق‌سازی، یک میلی‌لیتر از سوسپانسیون قارچی را درون لوله آزمایش استریل ریخته و حجم آن با محلول آب مقطر استریل و توئین ۸۰ به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد، با این کار کنیدیوم‌های موجود ده برابر رقیق‌تر گردید، بعد از مخلوط کردن محتویات با دستگاه ورتکس به مدت ده ثانیه، یک میلی‌لیتر از لوله اول برداشته و به لوله دوم اضافه شد، این کار تا لوله هفتم ادامه داده شد. در مرحله بعد به‌وسیله سمپلر مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از لوله مورد نظر را برداشته و روی سطح محیط PDA در داخل تشتک پتری ریخته و به‌وسیله لوله‌های استریل پپیت پاستور به طور یکنواخت پخش شد و برای هر کدام سه تکرار در نظر گرفته

طبیعی، بذر لوبیا در گلدان‌هایی به قطر ۳۰ سانتی‌متر در اتاق کاشته شده و بعد از رسیدن بوته‌ها به مرحله چند برگه، گلدان‌های لوبیا به مدت ۲۴ ساعت در داخل کلنی پرورش قرار گرفته، پس از تخم‌ریزی افراد بالغ در سطح پشته برگ‌های لوبیا، گلدان‌ها از کلنی خارج شده و در قفس عاری از هر گونه آلودگی قرار گرفت. با سپری شدن دوره انکوباسیون تخم و ظهور اکثر پوره‌های سن دوم، آزمایش با دو بار اسپری کردن قارچ فرموله شده به فاصله پنج روز در پنج تکرار (هر تکرار شامل یک برگ از یک بوته لوبیا) به کمک محلول‌پاش دستی در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. برای تهیه فرمولاسیون مقدار ۰/۲۵ گرم کنیدیوم به ۱/۵ میلی‌لیتر از فرمولاسیون تهیه شده اضافه و خوب هم زده شد به این مقدار ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل اضافه شد. در این شرایط غلظت قارچ در فرمولاسیون تقریباً $10^8 \times 2$ پروپاگول قارچ بر میلی‌لیتر به‌دست آمد. شمارش پوره‌ها پیش از انجام آزمایش روی برگ مشخص شده، با ذره‌بین انجام شد. در سه، هفت و ده روز پس از پاشش، تعداد پوره سفیدبالک مرده و زنده شمارش شد. در هفته دوم پوره‌های سفیدبالکی که زنده مانده بودند به حشره کامل تبدیل شده بودند. تغییر رنگ بدن پوره‌ها به رنگ قرمز یا نارنجی و یا رشد میسلیم روی بدن پوره‌ها به منزله مرگ پوره‌ها در نظر گرفته شد.

تجزیه آماری

آنالیزها پس از بررسی اولیه برای توزیع نرمال داده‌ها به کمک نرم افزار IBM SPSS Statistics (ver. 26) در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی صورت گرفت. در آزمایش‌های زیست‌سنجی آزمایشگاهی و گلخانه‌ای از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. درصد مرگ‌ومیر آفات در زیست‌سنجی آزمایشگاهی و گلخانه‌ای به ترتیب بر اساس فرمول ابوت و فرمول هندرسون-تیلتن تصحیح و مقایسه میانگین درصد تلفات آفات با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۵٪ با نرم افزار SPSS (ver. 26) انجام شد. برای تعیین LC_{50} و LT_{50} از روش آماری آنالیز رگرسیون پروبیت نرم افزار SPSS (ver. 26) و برای ترسیم نمودارها از برنامه Excel 2010 استفاده شد.

نتایج

زنده‌مانی کنیدیوم و بلاستوسپور قارچ در مایع روغنی مقایسه درصد زنده‌مانی (CFU/ml) کنیدیوم و بلاستوسپور

شد. سپس تشک‌های پتری در انکوباتور در دمای ۲۷ درجه سلسیوس نگهداری شدند و بعد از مدت ۲۴ ساعت تعداد پرگنه‌ها ثبت شدند. با استفاده از فرمول زیر مقدار اسپور در هر میلی‌لیتر در هر کدام از محیط‌های کشت و تیمار شاهد به صورت جداگانه بر حسب CFU/ml محاسبه و نتایج ثبت گردید. برای سهولت کار از داده‌های زنده‌مانی لگاریتم گرفته شد. برای محاسبه تعداد واحدهای تشکیل کلنی از رابطه زیر استفاده شد.

$$A = bc/d$$

در این رابطه (A) تعداد واحدهای تشکیل کلنی (CFU/ml)، (b) تعداد کلنی‌های شمارش شده روی محیط، (c) فاکتور رقت و (d) حجم مورد آزمایش (میلی‌لیتر) می‌باشد.

آزمایش‌های زیست‌سنجی در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای

برای هم‌سن‌سازی حشرات در آزمایش‌های زیست‌سنجی، بوته‌های لوبیا به مدت ۲۴ ساعت در داخل کلنی پرورش حشرات قرار گرفته، پس از تخم‌ریزی افراد کامل در سطح پشته برگ‌های لوبیا، گلدان‌ها از کلنی خارج شده و در قفس توری عاری از هر گونه آلودگی قرار گرفت. زیست‌سنجی آزمایشگاهی و تعیین غلظت کشنده پنجاه درصد جمعیت پوره‌های سفیدبالک (LC_{50}) و زمان کشنده پنجاه درصد جمعیت پوره‌های سفیدبالک (LT_{50}) برای هر دو مایع روغنی و مایع غیر روغنی قارچی در شرایط آزمایشگاهی و در سطح برگ انجام شد. برای تعیین LC_{50} ، غلظت‌های 10^4 ، 10^5 ، 10^6 ، 10^7 و 10^8 کنیدیوم یا بلاستوسپور بر میلی‌لیتر از قارچ در سه تیمار (۱) مایع روغنی اول، (۲) مایع روغنی دوم و (۳) مایع غیر روغنی تهیه شد. هر دیسک برگ حاوی ۲۰ پوره سن سوم با پنج میلی‌لیتر از تیمارهای آزمایشی مزبور با استفاده از محلول‌پاش دستی اسپری شده و سپس برای مدت پنج دقیقه روی کاغذ صافی برای جذب رطوبت اضافی قرار گرفته و سپس در داخل تشک پتری ده سانتی‌متری حاوی آب آگار دو درصد قرار گرفتند و در انکوباتور با شرایط دمایی $25 \pm 3^\circ C$ ، رطوبت نسبی 70 ± 10 درصد و ۱۶ ساعت روشنایی نگهداری شدند. مرگ‌ومیر پوره‌ها روزانه برای هشت روز ثبت شد. آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار همراه با یک تیمار شاهد بدون پروپاگول قارچی انجام شد.

برای انجام زیست‌سنجی در شرایط گلخانه تحت شرایط محیطی کنترل شده، در اتاق حرارت ثابت جداگانه با رطوبت نسبی 70 ± 5 درصد، دمای 25 ± 5 درجه سلسیوس و نور

به $10^7 \times 1/6$ کنیدیوم بر میلی‌لیتر پس از چهار ماه نگهداری رسید. در محیط یخچال، زنده‌مانی بلاستوسپور قارچ در مایع روغنی اول و دوم به ترتیب از $10^7 \times 1/3$ به $10^5 \times 1/3$ بلاستوسپور بر میلی‌لیتر و از $10^7 \times 3/6$ به $10^4 \times 1/8$ بلاستوسپور بر میلی‌لیتر پس از دو ماه نگهداری رسید. زنده‌مانی بلاستوسپورها در چهار ماه پس از نگهداری در مایع روغنی به صفر رسید. در دمای یخچال در هیچ یک از مایع روغنی، بلاستوسپورها بیش‌تر از دو ماه زنده نبودند. با نگاه کلی به نتایج به‌دست آمده مشخص است که نگهداری فرمولاسیون قارچی در دمای یخچال تاثیر بسزایی در زنده ماندن قارچ دارد. زنده‌مانی قارچ در مایع روغنی اول در هر دو دمای مورد مطالعه نسبت به مایع روغنی دوم بهتر بوده است. در هر دو دمای مطالعه شده، زنده‌مانی بلاستوسپورها در هر دو مایع روغنی مطالعه شده پایین‌تر از زنده‌مانی کنیدیوم‌ها بود.

در دو مایع روغنی در یک ساعت پس از تهیه مایع، دو ماه و چهار ماه پس از نگهداری در دمای محیط و دمای یخچال (جدول ۱) نشان داد که به طور کلی تفاوت معنی‌داری در زنده‌مانی کنیدیوم‌ها و بلاستوسپور در تیمارهای موجود وجود دارد ($P < 0.05$). در دمای محیط، شمارش پرگنه کنیدیوم قارچ در مایع روغنی اول و دوم به ترتیب از $10^7 \times 1/9$ به $10^7 \times 1/2$ کنیدیوم بر میلی‌لیتر و از $10^7 \times 4/8$ به $10^7 \times 1/5$ کنیدیوم بر میلی‌لیتر پس از چهار ماه نگهداری رسید. در این بررسی شمارش پرگنه بلاستوسپور قارچ در مایع روغنی اول و دوم به ترتیب از $10^7 \times 1/3$ به صفر بلاستوسپور بر میلی‌لیتر و از $10^7 \times 3/6$ به صفر بلاستوسپور بر میلی‌لیتر پس از دو ماه نگهداری رسید. بلاستوسپور قارچ در هر دو مایع روغنی بعد از دو ماه نگهداری در دمای محیط زنده نبودند. در دمای یخچال، زنده‌مانی کنیدیوم قارچ در مایع روغنی اول و دوم به ترتیب از $10^7 \times 1/9$ به $10^7 \times 1/8$ کنیدیوم بر میلی‌لیتر و از $10^8 \times 1/5$

جدول ۱. درصد زنده‌مانی (CFU/ml) کنیدیوم و بلاستوسپور قارچ *Beauveria bassiana* در دو مایع روغنی در یک ساعت پس از تهیه، ۲ ماه و ۴ ماه پس از نگهداری در دمای محیط و دمای یخچال ($3 \pm 1^\circ\text{C}$).

Treatments	Duration	CFU/ml $\pm$ SE			
		Ambient		$3 \pm 1^\circ\text{C}$	
		Conidia	Blastospore	Conidia	Blastospore
Oily liquid 1	1 hour	$1.9 \times 10^7 \pm 1.02^a$	$1.3 \times 10^7 \pm 1.09^a$	$1.9 \times 10^7 \pm 0.00^a$	$1.3 \times 10^7 \pm 1.07^a$
	2 month	$1.6 \times 10^7 \pm 1.04^b$	0 ^b	$1.8 \times 10^7 \pm 1.02^a$	$1.3 \times 10^5 \pm 1.17^b$
	4 month	$1.2 \times 10^7 \pm 1.12^c$	0 ^b	$1.8 \times 10^7 \pm 1.04^a$	0 ^c
Oily liquid 2	1 hour	$4.8 \times 10^7 \pm 1.12^a$	$3.6 \times 10^7 \pm 1.14^a$	$1.5 \times 10^8 \pm 1.07^a$	$3.6 \times 10^7 \pm 1.14^a$
	2 month	$4.16 \times 10^7 \pm 1.14^a$	0 ^b	$7.07 \times 10^7 \pm 1.12^b$	$1.8 \times 10^4 \pm 1.31^b$
	4 month	$1.5 \times 10^7 \pm 1.02^b$	0 ^b	$1.6 \times 10^7 \pm 0.00^c$	0 ^c

*Different letters in a column indicate significant differences between treatments at various times ($P < 0.05$, Tukey's HSD test).

جدول ۲. جدول تجزیه واریانس زیست‌سنجی آزمایشگاهی دو نوع مایع روغنی و یک مایع غیر روغنی در غلظت‌های مختلف از کنیدی قارچ *Beauveria bassiana* روی سفیدبالک جالیز.

Table 2. Variance analysis in laboratory bioassay of two oily liquids and a non-oily liquid containing various concentrations of *Beauveria bassiana* conidia on *Bemisia tabaci*.

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Formulation	249.033	2	124.517	10.703	.000
Concentration	17423.067	4	4355.767	374.421	.000
Formulation * Concentration	89.133	8	11.142	.958	.480
Error	523.500	45	11.633		
Total	317064.000	60			

نیست. در حالی‌که نتایج تجزیه واریانس جدول ۳ نشان داد که اثر فرمولاسیون‌های مختلف ($P = 0.0001$, $F_{2, 60} = 10.922$)، غلظت‌های مختلف از بلاستوسپور قارچ ($P = 0.0001$, $F_{4, 60} = 416.389$)، و اثر متقابل آن‌ها ($P = 0.033$, $F_{8, 60} = 2.349$) در میزان مرگ‌ومیر پوره‌های سفیدبالک معنی‌دار است. نتایج زیست‌سنجی آزمایشگاهی مایع روغنی اول، مایع روغنی دوم و

زیست‌سنجی آزمایشگاهی و تعیین LT_{50} و LC_{50} نتایج تجزیه واریانس در جدول ۲ نشان داد که اثر فرمولاسیون‌های مختلف ($P = 0.0001$, $F_{2, 60} = 10.730$)، و غلظت‌های مختلف از کنیدی قارچ ($P = 0.0001$, $F_{4, 60} = 374.421$)، در میزان مرگ‌ومیر پوره‌های سفیدبالک معنی‌دار ولی اثر متقابل آن‌ها ($P = 0.480$, $F_{8, 60} = 0.958$) معنی‌دار

گروه آزمایشی قرار گرفتند و کم‌ترین میزان مرگ‌ومیر را نشان دادند. تیمارهای غلظت‌های 10^7 و 10^8 کنیدیوم بر میلی‌لیتر نیز با وجود اندکی اختلاف در تاثیرگذاری، بالاترین میزان مرگ‌ومیر را سبب شدند. تیمارهای حاوی بلاستوسپور به‌ویژه در مایع روغنی دوم در غلظت 10^5 درصد تلفات بیش‌تری نسبت به تیمارهای حاوی کنیدیوم نشان دادند. هر چند در غلظت‌های بالاتر در صد مرگ‌ومیر آن‌ها مشابه بود.

مایع غیر روغنی که حاوی غلظت‌های 10^4 ، 10^5 ، 10^6 ، 10^7 و 10^8 کنیدیوم یا بلاستوسپور بر میلی‌لیتر از قارچ بودند روی سفیدبالک جالیز در جدول ۴ نمایش داده شده است. با نگاه کلی به جدول ۴ مشخص است که در همه تیمارها با افزایش غلظت قارچ میزان مرگ‌ومیر نیز افزایش داشته است. هر چند در تیمارهای حاوی کنیدیوم قارچ در غلظت‌های 10^4 و 10^5 کنیدیوم بر میلی‌لیتر افزایش مرگ‌ومیر معنی‌دار نبوده و در یک

جدول ۳. جدول تجزیه واریانس زیست‌سنجی آزمایشگاهی دو نوع مایع روغنی و یک مایع غیر روغنی در غلظت‌های مختلف از بلاستوسپور قارچ *Beauveria bassiana* روی سفیدبالک جالیز.

Table 3. Variance analysis of laboratory bioassay of two oily liquids and a non-oily liquid containing various concentrations of *Beauveria bassiana* blastospores on *Bemisia tabaci*.

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Formulation	178.033	2	89.017	10.922	.000
Concentration	13574.267	4	3393.567	416.389	.000
Formulation * Concentration	153.133	8	19.142	2.349	.033
Error	366.750	45	8.150		
Total	315739.000	60			

جدول ۴. زیست‌سنجی آزمایشگاهی دو نوع مایع روغنی و یک مایع غیر روغنی حاوی کنیدی یا بلاستوسپور قارچ *Beauveria bassiana* روی سفیدبالک جالیز.

Table 4. Laboratory bioassays of two oily liquids and a non-oily liquid containing different concentrations of *Beauveria bassiana* conidia or blastospores on *Bemisia tabaci*

<i>Bemisia tabaci</i>		Mean Percent Mortality $\pm$ SE				
Fungal propagules	Treatments	Fungal concentration/ml				
		10^4	10^5	10^6	10^7	10^8
Conidia	Oily liquid 1	$51.75 \pm 1.18^{d*}$	53.00 ± 1.22^d	73.25 ± 1.18^c	89.75 ± 2.05^{ab}	91.00 ± 1.35^a
	Oily liquid 2	51.00 ± 1.68^d	53.50 ± 0.86^d	72.75 ± 2.28^c	89.50 ± 1.84^{ab}	94.50 ± 2.25^a
	Non-oily liquid	48.00 ± 1.22^d	51.75 ± 1.18^d	67.00 ± 2.70^c	82.00 ± 1.22^b	89.75 ± 2.05^{ab}
Blastospore	Oily liquid 1	51.75 ± 1.97^{gh}	56.75 ± 1.18^{fg}	67.00 ± 1.22^{de}	83.25 ± 1.18^b	92.25 ± 1.31^a
	Oily liquid 2	51.25 ± 1.25^{gh}	62.50 ± 1.44^{ef}	73.75 ± 1.25^{cd}	86.25 ± 1.25^{ab}	92.50 ± 1.44^a
	Non-oily liquid	49.25 ± 1.49^h	60.50 ± 1.65^{ef}	64.50 ± 1.65^e	80.75 ± 1.49^{bc}	91.00 ± 1.35^a

* Different letters in a column indicate significant differences between treatments at various times ($P < 0.05$: Tukey's HSD test).

جدول ۵. LC_{50} محاسبه شده برای بیماری‌گری دو نوع مایع روغنی و یک مایع غیر روغنی حاوی کنیدی یا بلاستوسپور قارچ *Beauveria bassiana* روی سفیدبالک جالیز.

Table 5. LC_{50} for the pathogenicity of two types of oily liquids LC_{50} of two oily liquids and a non-oily liquid treatment containing conidia or blastospores of *Beauveria bassiana* on *Bemisia tabaci*.

Fungal propagule	Treatment	LC_{50} (Fungal propagules/ml) (Lower-Upper)	Slope $\pm$ SE	χ^2	df
Conidia	Oily liquid 1	1.5×10^4 ($3.1 \times 10^3 - 4.5 \times 10^4$)	$.375 \pm .053$	6.64	18
	Oily liquid 2	1.7×10^4 ($4.4 \times 10^3 - 4.6 \times 10^4$)	$.413 \pm .055$	7.713	18
	Non-oily liquid	2.7×10^4 ($5.6 \times 10^3 - 8 \times 10^4$)	$.342 \pm .051$	4.524	18
Blastospore	Oily liquid 1	1.5×10^4 ($2.4 \times 10^3 - 4.9 \times 10^4$)	$.338 \pm .052$	4.437	18
	Oily liquid 2	1.05×10^4 ($1.6 \times 10^3 - 3.4 \times 10^4$)	$.354 \pm .053$	1.920	18
	Non-oily liquid	1.5×10^4 ($2.1 \times 10^3 - 5.4 \times 10^4$)	$.312 \pm .050$	4.606	18

جدول ۶. LT_{50} محاسبه شده برای بیمارگری دو نوع مایع روغنی و یک مایع غیر روغنی حاوی کنیدی یا بلاستوسپور قارچ *Beauveria bassiana* روی سفیدبالک جالیز.

Table 6. LC_{50} for the pathogenicity of two types of oily liquids and a non-oily liquid treatment containing conidia or blastospores of *Beauveria bassiana* on *Bemisia tabaci*.

Fungal propagule	Treatment	Fungal conc./ml	LT_{50} (Lower-Upper)	Slope $\pm$ SE	χ^2	df
Conidia	Oily liquid 1	10^4	6.47 (6.03 - 7.05)	$4.027 \pm .400$	21.152	30
		10^5	6.11 (5.66 - 6.68)	$3.522 \pm .341$	30.226	30
		10^6	4.81 (4.49 - 5.15)	$3.930 \pm .326$	19.970	30
		10^7	3.52 (3.24 - 3.78)	$5.159 \pm .364$	41.087	30
		10^8	3.24 (3.01 - 3.47)	$4.283 \pm .304$	27.463	30
	Oily liquid 2	10^4	6.60 (6.13 - 7.22)	$3.957 \pm .398$	16.654	30
		10^5	5.84 (5.37 - 6.44)	$3.101 \pm .301$	30.870	30
		10^6	4.78 (4.47 - 5.11)	$4.014 \pm .330$	18.387	30
		10^7	3.49 (3.21 - 3.75)	$4.985 \pm .352$	39.635	30
		10^8	3.04 (2.73 - 3.31)	$5.319 \pm .374$	55.656	30
	Non-oily liquid	10^4	7.40 (6.86 - 8.18)	$4.468 \pm .486$	9.208	30
		10^5	6.63 (6.19 - 7.20)	$4.290 \pm .428$	22.788	30
		10^6	5.59 (5.18 - 6.08)	$3.413 \pm .313$	12.801	30
		10^7	3.89 (3.62 - 4.15)	$4.241 \pm .315$	29.903	30
		10^8	3.20 (2.86 - 3.51)	$4.636 \pm .324$	54.709	30
Blastospore	Oily liquid 1	10^4	6.01 (5.50 - 6.67)	$3.009 \pm .298$	28.164	30
		10^5	5.44 (5.01 - 5.95)	$3.116 \pm .291$	28.600	30
		10^6	4.57 (4.22 - 4.94)	$3.202 \pm .274$	36.632	30
		10^7	3.60 (3.33 - 3.85)	$3.980 \pm .291$	25.745	30
		10^8	2.95 (2.65 - 3.23)	$4.534 \pm .314$	48.097	30
	Oily liquid 2	10^4	6.39 (5.86 - 6.08)	$3.253 \pm .328$	20.577	30
		10^5	5.03 (4.65 - 5.47)	$3.199 \pm .286$	32.093	30
		10^6	4.55 (4.23 - 4.90)	$3.521 \pm .293$	28.247	30
		10^7	3.48 (3.23 - 3.72)	$4.367 \pm .312$	35.091	30
		10^8	3.02 (2.74 - 3.28)	$4.582 \pm .317$	40.177	30
	Non-oily liquid	10^4	6.77 (6.21 - 7.56)	$3.368 \pm .351$	18.649	30
		10^5	5.65 (5.27 - 6.10)	$3.796 \pm .345$	15.325	30
		10^6	4.91 (4.52 - 5.37)	$2.962 \pm .265$	13.639	30
		10^7	3.71 (3.42 - 3.99)	$3.637 \pm .275$	28.517	30
		10^8	3.03 (2.80 - 3.25)	$4.380 \pm .305$	33.968	30

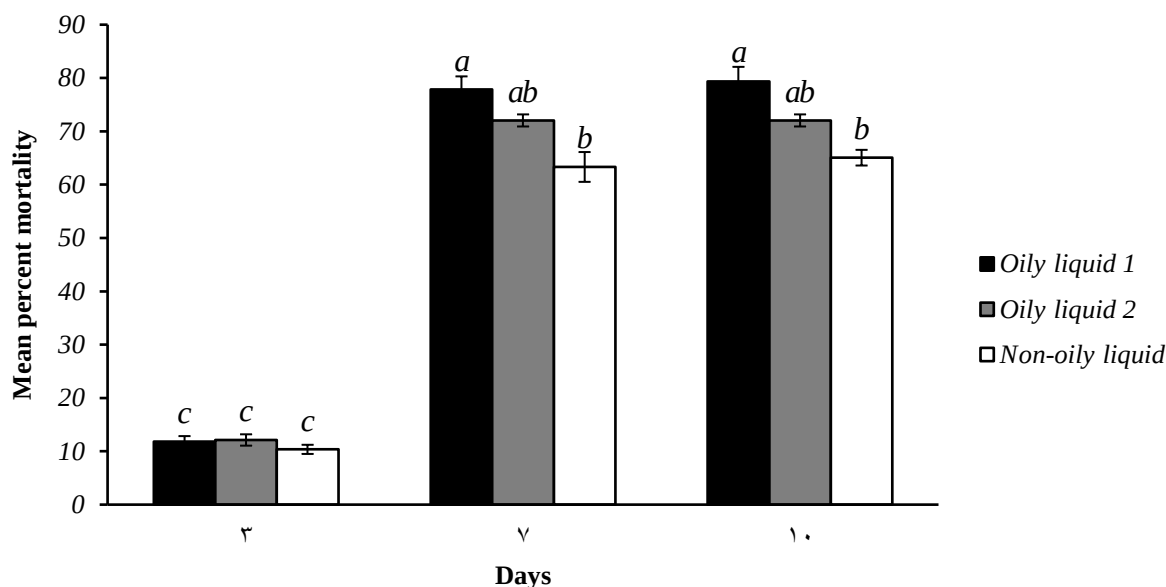
معنی‌داری دیده نمی‌شود. در غلظت‌های بالاتر (10^7 و 10^8) پروپاگول قارچی در میلی‌لیتر) مرگومیر پوره‌ها دو روز پس از تیمار کردن مشاهده شد. LT_{50} محاسبه شده برای همه غلظت‌های به کار رفته در جدول ۶ نمایش داده شده است. با بالا رفتن غلظت قارچی در تیمارها، میزان LT_{50} نیز کاهش یافته است.

با استفاده از رگرسیون پروبیت، LC_{50} تیمارهای مختلف در شرایط آزمایشگاه محاسبه شد (جدول ۵). با مقایسه حدود اطمینان بالا و پایین LC_{50} محاسبه شده، مشاهده می‌شود که به غیر از اختلاف معنی‌دار بین مایع روغنی و غیر روغنی در هنگامی که از کنیدیوم قارچ استفاده شد در سایر موارد اختلاف

جدول ۷. تجزیه واریانس زیست‌سنجی گلخانه‌ای دو نوع مایع روغنی و یک مایع غیر روغنی حاوی غلظت 2×10^8 کنیدیوم بر میلی‌لیتر از قارچ *Beauveria bassiana* در سه، هفت و ده روز پس از پاشش روی سفیدبالک جالیز.

Table 7. Variance analysis of greenhouse bioassays of two oily liquids and one non-oily liquid containing a concentration of 2×10^8 conidia/ml of the fungus *Beauveria bassiana* at three, seven and ten days after spraying on whitefly.

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Formulation	462.42	2	231.21	24.06	.000
Days	21741.90	2	10870.95	1131.22	.000
Formulation * Days	171.68	4	42.92	4.46	.011
Error	172.98	18	9.61		
Total	94313.28	27			



شکل ۱. زیست‌سنجی گلخانه‌ای دو نوع مایع روغنی و یک مایع غیر روغنی حاوی غلظت 2×10^8 کنیدیوم بر میلی‌لیتر از قارچ *Beauveria bassiana* روی سفیدبالک جالیز پس از دو بار محلول‌پاشی به فاصله پنج روز. میله‌ها خطای استاندارد میانگین هستند. حروف متفاوت بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در روزهای مورد ارزیابی است ($P < 0.05$: Tukey's HSD).

Figure 1. Greenhouse bioassay of two oily liquids and one non-oily liquid treatments containing 2×10^8 conidia/ml of fungus *Beauveria bassiana* on *Bemisia tabaci* after two foliar sprayings with five days interval. Bars are standard error of the mean. Different letters indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$: Tukey's HSD).

کنیدیوم‌ها در هر دو مایع روغنی از بلاستوسپورها بالاتر است و همین‌طور تولید انبوه کنیدیوم‌های قارچ روی بستر جامد و برداشت آن سهل‌تر است، در تست‌های گلخانه‌ای از مایع روغنی حاوی کنیدیوم‌های قارچ استفاده شد. نتایج دو بار

زیست‌سنجی گلخانه‌ای نتایج زیست‌سنجی آزمایشگاهی نشان داد که درصد مرگومیر پوره‌های سفیدبالک در غلظت 10^8 کنیدیوم یا بلاستوسپور در میلی‌لیتر از قارچ تقریباً مشابه است. به دلیل این‌که زنده‌مانی

محلول‌پاشی تیمارهای مختلف با غلظت 2×10^8 کنیدیوم بر میلی‌لیتر به فاصله پنج روز در شرایط گلخانه‌ای در شکل ۱ نشان داده شده است. نتایج تجزیه واریانس (جدول ۷) نشان داد که اثر فرمولاسیونهای مختلف ($P=0.0001$, $F_{2,27}=24.060$)، و روزهای مختلف پاشش قارچ ($P=0.0001$, $F_{2,27}=1131.222$)، و اثر متقابل آنها ($P=0.011$, $F_{4,27}=4.466$) در میزان مرگ‌و-میر پوره‌های سفیدبالک معنی‌دار است.

در سه روز بعد از پاشش، میزان کارایی تیمارها بین ۱۰ تا ۱۲ درصد بود. هفت روز بعد از پاشش و با وجود محلول‌پاشی دوم میزان تاثیر این تیمارها چشم‌گیر بود. بهترین تاثیر را تیمار مایع روغنی اول با $77/86$ درصد مرگ‌ومیر نشان داد. کم‌ترین تاثیر را تیمار مایع غیر روغنی با $63/32$ درصد تلفات نشان داد. ده روز بعد از پاشش اول مشاهده شد که اکثر پوره‌های سفیدبالک که زنده مانده بودند به حشره کامل تبدیل شده‌اند بنابراین این تعداد پوره‌ها زنده در نظر گرفته شدند.

بحث

فرآورده‌های زیستی بر اساس ماده موثره قارچ‌های بیمارگر حشرات، حاوی کنیدیوم یا بلاستوسپور قارچ هستند. اکثر فرآورده‌های زیستی موجود در بازار حاوی کنیدیوم به دست آمده از بستر جامد به‌عنوان ماده موثر هستند (Faria & Li et al. 2010; Wraight 2007). هزینه تولید کنیدیوم‌ها به دلیل خطر آلودگی و زمان طولانی کشت مورد نیاز (حداکثر ۴ هفته رشد) بالا است. همچنین برای کشت جامد به فضاهای بزرگ با امکانات مناسب و تکنسین‌های ماهر برای نگهداری دقیق کیسه‌ها یا سینی‌های کشت برای هوادهی مناسب مورد نیاز است (Jackson et al. 2004). در کشت مایع، قارچ‌ها بلاستوسپورهایی تولید می‌کنند که از هیف‌ها ایجاد می‌شوند و تولید آنها در عرض سه تا چهار روز (بسته به محیط کشت) تکمیل می‌شود. کوتاه بودن زمان تولید در بلاستوسپور، خطر آلودگی و هزینه تولید را کاهش داده و تولید بلاستوسپورها را آسان‌تر می‌کند. اگرچه بلاستوسپورها مزایای زیادی مانند یک فرآیند تخمیر ارزان‌تر و کارآمدتر و حتی بیمارگری بالاتر برای حشرات نسبت به کنیدیوم‌های هوایی دارند (Lohse et al. 2015)، ولی پایداری و ماندگاری آنها در محیط بیرون پایین و به خشکی متحمل نیستند و بدون انجام اقدامات پرهزینه مانند ذخیره‌سازی در دمای پایین (≥ 4 درجه سلسیوس)، ماندگاری بلاستوسپورهای خشک به طور قابل توجهی کمتر از کنیدیوم های هوایی خشک است و اغلب حتی برای تجاری‌سازی

سودآور غیرقابل قبول است که مانع توسعه تجاری گسترده آن-ها می‌شود (Chong-Rodríguez et al. 2011). در پژوهش حاضر نیز زنده‌مانی بلاستوسپورها در مایع روغنی به‌ویژه در شرایط نگه‌داری در دمای محیط بسیار پایین‌تر از کنیدیوم‌های هوایی بود طوری‌که بلاستوسپورها در دمای یخچال تا چهار ماه زنده بودند ولی در دمای محیط در ماه چهارم زنده نبودند (جدول ۱). برای این‌که یک عامل کنترل زیستی به یک محصول موفق تبدیل شود، ماندگاری خاصی باید تضمین شود. شدت بیمارگری، تحمل حرارتی و پایداری ذخیره‌سازی از مهم‌ترین عوامل کاربرد موفقیت‌آمیز قارچ‌های بیمارگر در مدیریت آفات است (Moore et al. 1995; Devi et al. 2005). با مقایسه بلاستوسپورها و همتای متحمل به خشکی آنها - کنیدیوم‌های هوایی - مشخص شد که بلاستوسپورها فاقد سازگاری‌های حیاتی خاصی برای تحمل استرس غیرزیستی هستند. کنیدیوم‌های هوایی دارای یک دیواره سلولی ضخیم و چند لایه هستند که می‌تواند به مقاومت این کنیدیوم‌ها در برابر بسیاری از اشکال استرس غیر زنده کمک کند. در مقابل، بلاستوسپورها فقط دارای یک دیواره سلولی نازک و تک لایه هستند. در اندازه‌گیری قارچ (Bischoff et al. 2009) (Driver & Milner 2005) M. acridum دیواره سلولی کنیدیوم‌های هوایی به طور متوسط ۱.۷ برابر ضخیم‌تر از بلاستوسپورها بود (Leland et al. 2005). یافته‌های محدود تحقیقاتی نشان داده که اگرچه بلاستوسپورها برای زنده ماندن در شرایط خشک سازگار نیستند، دست‌کم در آنها چندین مکانیسم حفاظتی وجود دارد که در صورت القا پیش از خشک‌شدن می‌تواند به مقاومت آنها کمک کند (Jenkins & Goettel 1997; Leland et al. 2005). مقاومت بلاستوسپور در برابر خشک شدن و ذخیره‌سازی می‌تواند به طور مثبت تحت تأثیر انتخاب محیط تخمیر و نحوه فرمولاسیون قرار گیرد. به نظر می‌رسد که غلظت فوق‌العاده بالای قند و منابع پیچیده نیتروژن در تولید انبوه نه تنها در تولید مقادیر بالایی از بلاستوسپورها، بلکه در تولید بلاستوسپورهای مقاوم به خشکی نیز مؤثر باشد. با این حال، ترکیب بهینه محیط به شدت به گونه و سویه قارچ بستگی دارد (Dietsch et al. 2021).

در پژوهش حاضر مشخص شد که جدایه استفاده شده از قارچ *B. bassiana* چه به صورت کنیدیوم و چه به صورت بلاستوسپور، تلفات قابل قبولی (بالای ۷۰ درصد مرگ‌ومیر) روی پوره‌های سفیدبالک جالیز به‌ویژه در غلظت‌های بالای استفاده شده نشان داده است. پژوهشگران دیگری نیز کارایی

Trialeurodes vaporariorum) در شرایط گلخانه دارند (تقریباً ۸۰ درصد مرگ‌ومیر در غلظت 10^6 پروپاگول در میلی-لیتر طی ده روز). نتایج حاصل از آزمون زیست‌سنجی جدایه IRAN 1395C از قارچ *B. bassiana* روی کنه‌های تارتن نیز نشان داد که قدرت زهرآگینی بلاستوسپورها به دست آمده در محیط مایع اختلاف معنی‌داری با کنیدیوم‌های تولید شده در محیط جامد ندارد (Hamzehei et al. 2024). در پژوهش Kim et al. (2013)، بلاستوسپورها تحمل حرارتی پایین‌تری در مقایسه با کنیدیوم‌ها داشتند و فرمولاسیون روغنی بلاستوسپورها در روغن ذرت، تحمل به گرما را در بلاستوسپورها افزایش داد. اضافه کردن مواد همراهی مانند TDE-3 isotridecyl alcohol ethoxylated-3EO و آلزینات سدیم تاثیرگذاری بلاستوسپورها را تا ۹۵/۷ درصد مرگ‌ومیر افزایش داد در حالی‌که در فرمولاسیون روغنی بلاستوسپور بدون افزودن آلزینات سدیم میزان مرگ‌ومیر ۷۲/۸ درصد طی ده روز ثبت شد. بنابراین بر اساس نتایج مطالعه حاضر در صورت استفاده از بلاستوسپور در فرمولاسیون‌های مختلف ضروری است تا با غنی‌سازی منابع غذایی در فرایند تولید انبوه و افزودن ترکیبات مختلف در فرایند فرمولاسیون، پایداری و تحمل به خشکی را در بلاستوسپورها افزایش داد که نیاز به پژوهش‌های بیش‌تر در آینده دارد.

سپاسگزاری

پژوهش حاضر قسمتی از یک پروژه تحقیقاتی برای مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور است به این وسیله از این مؤسسه که امکانات اجرای این پژوهش را فراهم کرد تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

- Asgari H, Zamani SM, Ashouri A, 2009. Effect of some liquid and solid media on sporulation of *Beauveria bassiana*. *Iranian Journal of Plant Protection Science* 39 (1): 31–43 (In Persian with English abstract).
- Bena-Molaei P, Talaei-Hassanloui R, Askary H, Kharazi-Pakdel A, 2011. Study on potential of some solid natural substances in production of *Beauveria bassiana* (Ascomycota, Cordycipitaceae) conidia. *Journal of Entomological Society of Iran* 30 (2): 1–15 (In Persian with English abstract)

قارچ *B. bassiana* را روی سفیدبالک‌ها (Herrera et al. 1999; Vicentini et al. 2001; Moraga et al, 2006) تایید کرده‌اند. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که در همه زیست‌سنجی‌ها چه در شرایط آزمایشگاهی و چه در محیط گلخانه هر دو مایع روغنی، درصد مرگ‌ومیر و کارایی بهتری نسبت به مایع غیر روغنی روی پوره‌های سفیدبالک نشان دادند. نتایج مطالعات Prithiva et al. (2017) نیز نشان داد که از بین فرمولاسیون‌های مختلف قارچ *B. bassiana* روی سفیدبالک جالیز در گیاه گوجه‌فرنگی، فرمولاسیون روغنی با ۴۵,۸۶ درصد کاهش در جمعیت آفت بیشترین تاثیر را در مقایسه با فرمولاسیون تالک (۲۹/۶۲ درصد کاهش در جمعیت آفت) و فرمولاسیون خام (۲۱/۶۳ درصد کاهش در جمعیت آفت) داشته است. افزایش میزان حشره‌کشی با فرمولاسیون روغنی به وفور گزارش شده است (Lopes et al. 2011; Oliveira et al. 2018). افزایش میزان حشره‌کشی در فرمولاسیون روغنی می‌تواند به دلیل افزایش میزان چسبندگی کنیدیوم قارچ به سطح میزبان و جوانه‌زنی سریع قارچ روی سطح آبگریز حشره باشد. فرمولاسیون روغنی هم‌چنین می‌تواند به حفاظت از قارچ در برابر عوامل سوء محیطی نیز کمک کند (Lopes & Faria 2019; Holder & Keyhani 2005).

مقایسه تاثیرگذاری استفاده از کنیدیوم و یا بلاستوسپور در مایع روغنی در زیست‌سنجی آزمایشگاهی نشان داد که در نگاه کلی استفاده از هر دو پروپاگول قارچی در میزان مرگ‌ومیر پوره‌های سفیدبالک (به‌غیر از برخی غلظت‌های پایین) نتایج مشابهی داشته است. هرچند در بین فرمولاسیون‌های مختلف کمی تفاوت دیده می‌شود. یافته‌های Kim et al. (2013) نیز نشان می‌دهد که بلاستوسپورها در مقایسه با کنیدیوم‌های قارچ *I. fumosorosea* تاثیر مشابهی روی پوره‌های سفیدبالک گلخانه

- Bigham Z, Talaei-Hassanloui R, 2017. Production of two entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on natural substrates using diphasic production method. *Biological Control of Pests & Plant Diseases* 6 (1): 103–109.
- Bischoff JF, Rehner SA, Humber RA, 2009. A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. *Mycologia* 101(4): 512–530.
- Bradley CA, Black WE, Wood P, 1992. Role of production technology in mycoinsecticide development. In: Leatham GF (eds). *Frontiers in Industrial Mycology*. Springer US, Boston MA. Pp.

- 160-173.
- Chandler D, Davidson G, Pell JK, Ball BV, Shaw K, *et al.*, 2000. Fungal biocontrol of Acari. *Biocontrol Science & Technology* 10: 357–384.
- Chong-Rodríguez M, Maldonado-Blanco M, Hernández-Escareño J, Galán-Wong L, Sandoval-Coronado C, 2011. Study of *Beauveria bassiana* growth, blastospore yield, desiccation-tolerance, viability and toxic activity using different liquid media. *African Journal of Biotechnology* 10 (30): 5736–5742.
- Devi KU, Sridevi V, Murali-Mohan CH, Padmavathi J, 2005. Effect of high temperature and water stress on in vitro germination and growth in isolate of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuillemin. *Journal of Invertebrate Pathology* 88: 181–189.
- Dietsch R, Jakobs-Schönwandt D, Grünberger A, Patel A, 2021. Desiccation-tolerant fungal blastospores: From production to application. *Current Research in Biotechnology* 3: 323–339.
- Faria M, Wraight SP, 2001. Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi. *Crop Protection* 20: 767–778.
- Faria MR, Wraight SP, 2007. Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biological Control* 43: 237–256.
- Feng MG, Poprawski TJ, Khachatourians GG, 1994. Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status. *Biocontrol Science & Technology* 4: 3–34.
- Feng MG, Chen B, Ying SH, 2004. Trials of *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus* and Imidacloprid for management of *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) on Greenhouse Grown Lettuce. *Biocontrol Science & Technology* 14 (6): 531–544.
- Hamzehei E, Sedaratian-Jahromi A, Kheradmand K, 2024. Feasibility of producing blastospores of *Beauveria bassiana* on different liquid media and its pathogenicity against *Tetranychus urticae* under laboratory conditions. *Journal of Plant Pests Research* 14(1): 87–98 (In Persian with English abstract).
- Herrera F, Carballo M, Shannon P, 1999. Efficacy of native entomopathogenic fungal strains against *Bemisia tabaci* in the laboratory. *Integrated Pest Management* 54: 37–43.
- Holder DJ, Keyhani NO, 2005. Adhesion of the entomopathogenic fungus *Beauveria (Cordyceps) bassiana* to substrata. *Applied & Environmental Microbiology* 71: 5260–5266.
- Horowitz AR, Antignus Y, Gerling D, 2011. Management of *Bemisia tabaci* whiteflies. In: Thompson WM (eds). *The Whitefly, Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) Interaction with Geminivirus-infected Host Plants: *Bemisia tabaci*, Host Plants and Geminiviruses. Springer, Netherlands. Pp. 293–322.
- Jackson MA, Payne AR, Odelson DA, 2004. Liquid-culture production of blastospores of the bioinsecticidal fungus *Paecilomyces fumosoroseus* using portable fermentation equipment. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 31: 149–154.
- Jaronski ST, Jackson MA, 2012. Mass production of entomopathogenic Hypocreales. In: Lacey LA (eds). *Manual of Techniques in Invertebrate Pathology*. Academic Press, New York. Pp. 255–284.
- Javar S, Farrokhi Sh, Asgari B, & Parsi F, 2019. Investigating on the potential of local isolates of entomopathogenic fungi as biological control agents against greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum*. *BioControl in Plant Protection* 7(1): 127–142 (In Persian with English abstract).
- Javar S, Farrokhi S, Naeimi S, Jooshani MK, 2023. Comparison of survival and pathogenicity of *Beauveria bassiana* A1-1 spores produced in solid and liquid state fermentation on whitefly nymph, *Trialeurodes vaporariorum*. *Journal of Plant Protection Research* 63(3): 308–317.
- Jenkins NE, Goettel MS, 1997. Methods for mass-production of microbial control agents of grasshoppers and locusts. *The Memoirs of the Entomological Society of Canada* 129 (S171): 37–48.
- Kim JS, Je YH, Skinner M, Parker BL, 2013. An oil-based formulation of *Isaria fumosorosea* blastospores for management of greenhouse whitefly

- Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). *Pest Management Science* 69(5): 576–581.
- Leland JE, Mullins DE, Vaughan LJ, Warren HL, 2005. Effects of media composition on submerged culture spores of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* Part 2: Effects of media osmolality on cell wall characteristics, carbohydrate concentrations, drying stability, and pathogenicity. *Biocontrol Science & Technology* 15 (4): 393–409.
- Li Z, Alves SB, Roberts DW, Fan M, Delalibera Jr I, *et al.*, 2010. Biological control of insects in Brazil and China: history, current programs and reasons for their successes using entomopathogenic fungi. *Biocontrol Science & Technology* 20: 117–136.
- Lopes RB, Faria M, 2019. Influence of two formulation types and moisture levels on the storage stability and insecticidal activity of *Beauveria bassiana*. *Biocontrol Science & Technology* 29(5): 437–450.
- Lopes RB, Pauli G, Mascarin GM, Faria F, 2011. Protection of entomopathogenic conidia against chemical fungicides afforded by an oil-based formulation. *Biocontrol Science & Technology* 21: 125–137.
- Malsam O, Kilian M, Oerke EC, Dehne HW, 2002. Oils for increased efficacy of *Metarhizium anisopliae* to control whiteflies. *Biocontrol Science & Technology* 12: 337–348.
- Maina UM, Galadima IB, Gambo FM, Zakaria D, 2018. A review on the use of entomopathogenic fungi in the management of insect pests of field crops. *Journal of Entomology & Zoology Studies* 6(1): 27–32.
- Martin JH, Mifsud D, Rapisarda C, 2000. The whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of Europe and the Mediterranean basin. *Bulletin of entomological research* 90(5): 407–448.
- Mascarin GM, Jaronski ST, 2016. The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* 32: 1–26.
- Moore D, Bateman RP, Carey M, Prior C, 1995. Long-term storage of *Metarhizium flavoviride* conidia in oil formulations for the control of locusts and grasshoppers. *Biocontrol Science & Technology* 5: 193–199.
- Moraga EQ, Maranhao EAA, Garcia PV, Alvarez SC, 2006. Selection of *Beauveria bassiana* isolates for control of the whiteflies *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum* on the basis of their virulence, thermal requirements, and toxicogenic activity. *Biological Control* 36: 274–287.
- Oliveira MRV, Henneberry TJ, Leon-Lopez R, 2000. History and current status of *Bemisia*. *Proceeding of the XXI International Congress of Entomology*, August 20–26, Brazil, P. 646
- Oliveira DGP, Lopes RB, Rezende JM, Delalibera JI, 2018. Increased tolerance of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* conidia to high temperature provided by oil based formulations. *Journal of Invertebrate Pathology* 151: 151–157.
- Palumbo JC, Horowitz AR, Prabhaker N, 2001. Insecticidal control and resistance management for *Bemisia tabaci*. *Crop protection* 20(9): 739–765.
- Prithiva JN, Ganapathy N, Jeyarani S, 2017. Efficacy of different formulations of *Beauveria bassiana* (Bb 112) against *Bemisia tabaci* on tomato. *Journal of Entomology & Zoology Studies* 5(4): 1239–1243.
- Sakenin Chelav H, Ghahari H, Nikkhah H, Imani S, 2008. Effects of six antibiotics on *Bemisia tabaci* (Homoptera; Aleyrodidae) and *Encarsia formosa* (Hymenoptera; Aphelinidae). *Journal of Agricultural Science & Technology* 22: 71–88.
- Shi WB, Feng MG, Liu SS, 2008. Sprays of emulsifiable *Beauveria bassiana* formulation are ovicidal towards *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) at various regimes of temperature and humidity. *Experimental & Applied Acarology* 46: 247–257.
- Vicentini S, Faria M, Oliveira MRV, 2001. Screening of *Beauveria bassiana* Deuteromycotina: Hyphomycetes isolates against nymphs of *Bemisia tabaci* biotype B Hemiptera: Aleyrodidae with description of a new bioassay method. *Neotropical Entomology* 30: 97–103.
- Vimala Devi PS, Hari PP, 2009. *Beauveria bassiana* suspension concentrate – A mycoinsecticide for the management of *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Journal of Biological Control* 23(4): 403–408.
- Wang L, Huang J, You M, Guan X, Liu B, 2007. Toxicity and feeding deterrence of crude toxin

- extracts of *Lecanicillium* (*Verticillium*) *lecanii* (Hyphomycetes) against sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae). *Pest Management Science: formerly Pesticide Science* 63(4): 381–387.
- Wraight SP, Carruthers RI, Bradley CA, Jaronski ST, Lacey LA, *et al.*, 1998. Pathogenicity of the entomopathogenic fungi *Paecilomyces* spp. and *Beauveria bassiana* against the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Journal of Invertebrate Pathology* 71: 217–226.
- Wraight SP, Carruthers RI, Jaronski ST, Bradley CA, Garza CJ, *et al.*, 2000. Evaluation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* for microbial control of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*. *Biological Control* 17: 203–217.
- Wraight SP, Filotas MJ, Sanderson JP, 2016. Comparative efficacy of emulsifiable-oil, wettable-powder, and unformulated-powder preparations of *Beauveria bassiana* against the melon aphid *Aphis gossypii*. *Biocontrol Science & Technology* 26(7): 894–914.
- Ying SH, Feng MG, Xu ST, 2003. Field efficacy of emulsifiable suspensions of *Beauveria bassiana* conidia for control of *Myzus persicae* population on cabbage. *Chinese Journal of Applied Ecology* 14: 545–548.
- Zhang X, Lei Z, Reitz SR, Wu S, Gao Y, 2019. Laboratory and greenhouse evaluation of a granular formulation of *Beauveria bassiana* for control of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Insects* 10 (2): 58; doi:10.3390/insects10020058