تحقیقات آفات‌گیاهی
۱۴۰۲ -۱۳(۳): ۲۷ -۴۲
Open access
doi: 10.22124/iprj.2023.25524.1534
pISSN:2322-2409
eISSN: 2538-6123

علمی پژوهشی

بهینه‌سازی پایداری اسپورهای دو جدایه از قارچ بیمارگر حشرات، *Beauveria bassiana*، در برابر تابش اشعه فرابنفش با استفاده از فرمولاسیون نانوکامپوزیت

مائده رئوفی[۱]، سیّدعلی صفوی[۲*] و مهدی محمودیان[۳]

۱ و ۲- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران، ۳- گروه نانوفناوری، دانشکده شیمی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

1. 0009-0004-0432-3680, 2. 0000-0002-8300-6138, 3. 0000-0002-9949-8579

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۶/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۸/۱۳)

چکیده

قارچ بیمارگر حشرات *Beauveria bassiana* یک عامل کنترل بیولوژیک مهم و جهانی است که برای کنترل بسیاری از آفات مهم مثل شته مومی کلم *Brevicoryne brassicae* استفاده می‌شود. محدودیت عمده استفاده از این قارچ، پایداری محیطی برای شروع همه‌گیری در جمعیت‌های میزبان حساس است. در پژوهش حاضر، کشندگی دو جدایه از قارچ بیمارگر حشرات *B. bassiana* روی حشرات کامل و پوره‌های سن دوم شته مومی کلم و پایداری قارچ بیمارگر حشرات و فرمولاسیون نانوکامپوزیت آن در برابر اشعه UV-C بررسی شد. مقدار LC_{50} جدایه WE209 در ماده‌های بالغ شته مومی کلم برابر با $۲/۵\times۱۰^{۵}$ و در جدایه WE277، $۹/۸\times۱۰^{۴}$ اسپور بر میلی‌لیتر به دست آمد. مقادیر LC_{50} قارچ روی پوره سن دوم شته به‌ترتیب $۶/۴\times۱۰^{۵}$ و $۳/۲\times۱۰^{۵}$ اسپور بر میلی‌لیتر بوده است. درصد جوانه‌زنی اسپورهای قارچ هنگامی که ۲ و ۳ ساعت در برابر اشعه فرابنفش قرار داشتند، در جدایه WE209 در هر دو زمان برابر با صفر و در جدایه WE277 این مقدار به‌ترتیب ۳۲٪ و ۶٪ بود. در حالی که در فرمولاسیون نانوکامپورزیت مبتنی بر قارچ این مقادیر به‌ترتیب برای جدایه WE209، ۳۷ ٪ و ۱۲٪ و برای جدایه WE277، ۶۵ ٪ و ۳۸٪ بودند. این نتایج نشان داد که فرمولاسیون نانوکامپوزیت قارچ بیمارگر *B. bassiana* مبتنی بر مونت موریلونیت/ثعلب با پوشش اسپورهای قارچ از آن در برابر اشعه فرابنفش محافظت کرده و پایداری آن را افزایش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: اشعه UV-C، شته مومی کلم، قارچ بیمارگر حشرات، کنترل بیولوژیک، نانوکامپوزیت

*نویسنده مسئول: a.safavi@urmia.ac.ir

CC BY

مقدمه

کلم پیچ (*Brassica oleracea var. sabellica*) یک سبزی برگی از تیره Brassicaceae است که مصرف آن در سال‌های اخیر افزایش یافته است (Neugart *et al.,* 2020). گیاهان تیره کلمیان از نظر اقتصادی جزو سبزیجات بسیار مهم هستند؛ این سبزیجات به دلیل طعم، ارزش غذایی و وجود منابع خوبی از ترکیبات زیست فعال، مصرف زیادی دارند (Sanlier and Guler, 2018). شته مومی کلم، *Brevicoryne brassicae* L. (Hemiptera: Aphididae)، یکی از مخرب‌ترین آفات تیره کلمیان است (Safavi and Taheri Sarhozaki, 2019; Iftikhar *et al.,* 2022). مشابه بسیاری از شته‌ها، *B. brassica* با بیشینه ۱۵ تا ۲۰ نسل در یک فصل رشد، نرخ تولید مثل بالایی دارد (Szwarc *et al.,* 2021; Javed *et al.,* 2022). افزایش سریع جمعیت آفت اغلب منجر به مرگ گیاهچه‌های جوان و پژمرده شدن گیاهان بالغ و در نتیجه ایجاد آلودگی شدید می‌شود (Szwarc *et al.,* 2021). خسارت شته مومی‌کلم به صورت آسیب مستقیم و غیرمستقیم است (Canassa *et al.,* 2021). آسیب مستقیم ناشی از آفت در نتیجه تغذیه از شیره گیاهی آن است که در نهایت منجر به تغییر شکل و خشک شدن بافت‌های نرم گیاه می‌شود. آسیب غیرمستقیم ناشی از ترشح عسلک توسط شته‌ها و هم‌چنین انتقال مکرر ویروس‌های گیاهی است (Lashkari *et al.,* 2007; Mahmoodi *et al.,* 2020). استفاده از آفت‌کش‌های مصنوعی، یک روش کنترل رایج علیه شته مومی‌کلم است (Akbari *et al.,* 2014; Mahmoodi *et al.,* 2020; Mousavi *et al.,* 2022). با این حال، استفاده مکرر از آفت‌کش‌های شیمیایی علاوه بر ایجاد مقاومت در حشرات (Khoshfarman-Borji *et al.,* 2020)، می‌تواند اثرات زیست‌محیطی داشته باشد و سلامت تولیدکنندگان و مصرف‌کنندگان را به خطر بیندازد (Ulusoy and Ölmez-Bayhan, 2006; Canassa *et al.,* 2021). استفاده از آفت‌کش‌های زیستی، به‌سرعت به عنوان جایگزینی برای آفت‌کش‌های شیمیایی در حال توسعه است (Wang *et al.,* 2021). قارچ بیمارگر حشرات *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill. یک عامل کنترل بیولوژیک مهم و جهانی است که برای کنترل بسیاری از آفات مهم استفاده می‌شود (Khan *et al.,* 2016) و عامل ایجاد بیماری موسکاردین سفید در انواع حشرات است. این قارچ با تخریب کوتیکول میزبان با استفاده از نیروهای مکانیکی و شیمیایی حشره را آلوده می‌کند و در کنترل حشرات آفات مفید است، زیرا نیازی به بلع مستقیم توسط میزبان خود برای تکثیر و ایجاد بیماری ندارد، بنابراین در برابر مراحل غیرتغذیه‌ای حشرات نیز فعال می‌شود (Islam *et al.,* 2023). استفاده از قارچ‌های بیمارگر حشرات مانند *B. bassiana* در کنترل آفات بدون محدودیت نیست (Dannon *et al.,* 2020). پایداری محیطی بیمارگرها یک ویژگی کلیدی مربوط به پتانسیل آن‌ها برای شروع همه‌گیری در جمعیت های میزبان حساس است. یعنی هر چه عامل بیمارگر بیش‌تر زنده بماند، احتمال این‌که میزبان را آلوده کند نیز بیش‌تر است (Plowright *et al.,* 2017; Ding *et al.,* 2023). اثربخشی *B. bassiana* به طور عمده به عوامل محیطی از جمله رطوبت، دما، بارش و اشعه فرابنفش (UV) برای تجمع و ذخیره ماده تلقیح بستگی دارد (Dannon *et al.,* 2020). فرمولاسیون عوامل کنترل زیستی می‌تواند برای تثبیت بیمارگرها در طول تولید، توزیع و ذخیره‌سازی استفاده شود و به جابجایی و کاربرد محصول کمک کند و از بیمارگر در برابر عوامل محیطی مضر محافظت کرده و کارایی بیمارگر را افزایش دهد (Jones and Burges, 1998; Leggett *et al.,* 2011).

فناوری نانو در کشاورزی برای افزایش حفاظت از محصول از طریق اصلاح آفت‌کش‌های مضر و آماده‌سازی فرمولاسیون‌های جدید با ویژگی‌هایی مثل کاربرد آسان و تحویل کنترل شده روی گیاهان و غلات معرفی شده است (Gahukar and Das, 2020). نانوفناوری با افزایش پایداری مواد فعال، ایمنی بیولوژیکی مطلوب، و افزایش فعالیت روی آفات هدف باعث توسعه آفت‌کش‌های زیستی می‌شود. نانوآفت‌کش‌ها بر اساس شکل به نانوکره‌ها، نانوکپسول‌ها، نانوظرف‌ها، نانوامولسیون‌ها، نانوژل‌ها، لیپوزوم‌ها، نانوحامل‌های معدنی، نانوکامپوزیت‌ها و غیره طبقه‌بندی می‌شوند (Pan *et al.,* 2023). استفاده از

نانوکامپوزیت‌ها به عنوان ابزاری برای تحویل آفت‌کش‌ها در مراحل اولیه پژوهش‌ها است (Sarkar *et al.,* 2021). یک نانوکامپوزیت دارای چند فاز است که دست‌کم یکی از فازها اندازه‌ای کم‌تر از ۱۰۰ نانومتر دارد و در فازی دیگر به عنوان ماتریس پراکنده شده است (Lee *et al.,* 2011). خواص نانوکامپوزیت‌ها در درجه اول به خواص فاز تقویت‌کننده و ماتریس مورد استفاده و برهم‌کنش آن‌ها با یکدیگر بستگی دارد (Mondal, 2018). استفاده از پلیمر زیستی در توسعه ماتریس نانوکامپوزیت به دلیل هزینه کم، زیست سازگاری، در دسترس بودن آسان و زیست تخریب‌پذیری سودمند است (Sarkar *et al.,* 2021). ثعلب، پلیمر چند جزیی است که از ریشه گیاه ارکیده به دست می‌آید و علاوه بر داشتن خواص دارویی، جاذب رطوبت بوده و به عنوان عامل غلیظ کننده و پایدار کننده نیز در فرمولاسیون مواد غذایی به کار می‌رود (Rezanejade Bardajee *et al.,* 2023). تقویت پلیمرها با استفاده از مواد آلی و معدنی بسیار مرسوم است. با افزودن درصد کمی از نانوذرات به عنوان پرکننده به یک پلیمر، استحکام کششی آن افزایش چشم‌گیری می‌یابد (Thostenson *et al.,* 2005). به طور کلی، نانوذرات به عنوان مکانیسم انتقال "نانو حامل" عمل می‌کنند، زیرا می‌توانند به سرعت وارد سلول، بافت یا بدن موجودات زنده شوند (Tiwari *et al.,* 2023). نانوحامل‌ها برای محافظت از ماده فعال آفت‌کش‌ها در برابر شرایط محیطی سخت (مانند دمای بالا و تشعشع) بسیار مفید هستند، در حالی که پایداری شیمیایی آن‌ها را به میزان قابل توجهی افزایش می‌دهند (Kumar *et al.,* 2019). نانو ذره مونت‌موریلونیت (MMT) یکی از رس‌های معدنی، مورد استفاده در ساختار نانوکامپوزیت‌ها است. خاک رس MMT به دلیل سطح ویژه بالا، ظرفیت تبادل یونی، خاصیت بین لایه‌ای خوب، پایداری‌های شیمیایی و مکانیکی، سازگاری با محیط زیست، هزینه به‌نسبت کم و هم‌چنین، فراوانی آن در طبیعت، بدون شک یکی از بهترین انتخاب‌ها برای فرمولاسیون با رهش کنترل‌شده است (Rashidzadeh *et al.,* 2014).

در پژوهش‌های انجام شده کارایی استفاده از قارچ بیمارگر *B. bassiana* در برنامه‌های کنترل بیولوژیک و مدیریت تلفیقی شته مومی کلم *B. brassicae* توصیه شده است (Akmal *et al.,* 2013; Akbari *et al.,* 2014; Ahamad *et al.,* 2020; Emami *et al.,* 2021). اثر بازدارنده اشعه فرابنفش بر جوانه‌زنی اسپورهای جدایه‌های مختلف نیز مورد بررسی قرار گرفته است (Le Grand and Cliquet, 2013). در این راستا، پژوهش‌هایی برای بهینه‌سازی میزان پایداری قارچ‌های بیمارگر حشرات در برابر تابش اشعه فرابنفش با تولید فرمولاسیون‌های مناسب صورت گرفته است. از جمله این پژوهش‌ها می‌توان به فرمولاسیون قارچ بیمارگر با افزودن ۵ درصد روغن گردو، روغن سویا و تریتون X-100 اشاره نمود (Jia *et al.,* 2023). در پژوهشی دیگر ویژگی‌های نانوکامپوزیت سیلیکات پلیمری/لایه‌ای (PLN) آلژینات- بنتونیت برای قارچ بیمارگر حشرات *B. bassiana* سویه CPATC032 مطالعه شد (Batista *et al.,* 2017). هم‌چنین، اثر جدایه قارچ بیمارگر *Metarhizium anisopliae* SM036، همراه با سنتز و ویژگی‌های نانوذرات *M. anisopliae*-chitosan روی بید کلم *Plutella xylostella* گزارش شده است (Wu *et al.,* 2021). در تحقیقی اسپورهای *Beauveria brongniartii* با نانوذرات Fe^0 پوشانده شدند و با استفاده از مجموعه‌ای از تکنیک‌های تحلیلی بررسی شدند. به علاوه، اثربخشی زیستی آن‌ها در برابر آفت *Spodoptera litura* مشاهده شد (Xu *et al.,* 2020). هدف از پژوهش حاضر بررسی اثرات کشندگی دو جدایه از قارچ بیمارگر حشرات *B. bassiana* روی حشرات کامل و پوره‌های سن دوم شته مومی‌کلم و هم‌چنین، بررسی جوانه‌زنی و پایداری نانوکامپوزیت این قارچ به همراه ثعلب به عنوان پلیمر و مونت‌موریلونیت به عنوان نانوذره، زیر اشعه UV-C در مقایسه با قارچ تنها است.

مواد و روش‌ها

پرورش گیاه میزبان و تشکیل کلنی شته مومی‌کلم

به‌منظور پرورش گیاه میزبان، بذرهای کلم پیچ (*Brassica oleracea* var. *sabellica*)، در گلدان‌های کوچک حاوی پیت ماس کشت شدند؛ نشاها پس از ۶-۸ هفته به گلدان‌های بزرگ‌تر حاوی مخلوط پیت‌ماس، خاک

باغچه و کود دامی منتقل شدند. گلدان‌ها در گلخانه با دوره نوری ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی و رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد نگهداری شدند. شته‌های مومی کلم از روی کلم‌های زینتی موجود در گلخانه شهرداری شهرستان مهاباد با دقت جدا شده و پس از شناسایی در سطح گونه (Mpumi *et al.*, 2020) به کلم پیچ‌های موجود در گلخانه آزمایشگاه با دمای ۲± ۲۳ درجه سلسیوس، دوره نوری ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی و رطوبت ۵±۶۵ درصد به‌منظور تشکیل کلنی منتقل شدند. پس از سه نسل زاد و ولد و سازگاری با شرایط و رژیم غذایی، شته‌های ماده بالغ به‌منظور هم‌سن‌سازی برای انجام آزمایش‌ها روی دیسک‌های برگی کلم پیچ منتقل شده و برگ‌ها داخل ظروف پتری هشت سانتی‌متری حاوی آگار قرار گرفتند. برای تهیه آگار، ۲۰-۲۵ گرم از آن داخل یک لیتر آب مقطر استریل حل شد. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار یک اتمسفر، اتوکلاو شد و پس از خنک شدن در محیط استریل به درون ظروف پتری ریخته شد. دهانه آن‌ها به‌منظور تهویه به قطر ۴/۵-۳/۵ سانتی‌متر سوراخ و با توری ارگانزا پوشیده شد. داخل هر ظرف پتری ۱۰ عدد شته ماده بالغ برای پوره‌زایی گذاشته شد و پس از ۲۴ ساعت شته‌های بالغ برداشته شدند و پوره‌های سن یک باقی ماندند. آزمایش‌ها روی شته‌های ماده کامل و پوره‌های سن دوم انجام شد.

کشت قارچ بیمارگر و تهیه سوسپانسیون قارچ

به‌منظور تکثیر قارچ‌ها از محیط کشت SDA (Sabouraud Dextrose Agar) استفاده شد. ۶۵ گرم از محیط کشت آماده به همراه ۱۰ گرم مخمر در یک لیتر آب مقطر استریل حل شد و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس و فشار یک اتمسفر، اتوکلاو شد. محیط کشت زیر هود استریل و کنار چراغ الکلی درون ظروف پتری ۸ سانتی-متری ریخته شد. جدایه‌های *Beauveria bassiana* WE209 و *B. bassiana* WE277 از گروه بیماری‌شناسی دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه تهیه شدند. این جدایه‌ها پیش‌تر از بوته‌های گندم ارومیه جداسازی شده‌اند. پس از کشت قارچ‌ها در محیط استریل، دور ظروف پتری حاوی قارچ با نوار پارافیلم پوشانده شد و داخل انکوباتور با دمای ۲۵±۲ درجه سلسیوس و در تاریکی برای رشد و اسپورزایی گذاشته شدند. پس از دو هفته قارچ‌ها اسپورزایی کرده و آماده استفاده بودند (Quesada-Moraga *et al.*, 2006). در صورت نیاز، ظروف پتری آماده تا زمان مصرف در یخچال (۴ درجه سلسیوس) نگه‌داری شدند. به‌منظور تهیه سوسپانسیون زیر هود استریل با دمای ۲۵±۲ درجه سلسیوس، با استفاده از تیغ آزمایشگاهی استریل، اسپورهای قارچ از روی محیط کشت خراش داده شدند و به لوله‌های آزمایش حاوی آب مقطر استریل شده به همراه ۰/۰۵ درصد Tween®- 80 منتقل شده و به مدت ۱۰ دقیقه هم زده شدند تا اسپورها به‌خوبی در آب معلق شوند. سپس، سوسپانسیون به دست آمده از چند لایه پارچه ململ عبور داده شد تا هیف‌ها و سایر ناخالصی‌ها گرفته شوند (Wraight *et al.*, 1998). در ادامه با استفاده از لام گلبول شمار تصحیح‌یافته نئوبار تعداد اسپورها شمارش و غلظت آن محاسبه و روی 10^8 اسپور بر میلی‌لیتر تنظیم شد. سپس، غلظت‌های پایین‌تر از آن به دست آورده شد.

تهیه نانوکامپوزیت قارچ مبتنی بر MMT/ ثعلب

پس از تهیه سوسپانسیون، زیر هود و در دمای ۲۵±۲ درجه سلسیوس، مونت موریلونیت (MMT K10) به نسبت ۰/۰۱ گرم بر میلی‌لیتر با استفاده از ترازوی دیجیتالی حساس وزن شده و به سوسپانسیون قارچی اضافه شد. ابتدا سوسپانسیون حاصل خوب هم زده شده و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سلسیوس داخل حمام التراسونیک گذاشته شد تا همگن شده و قارچ به خوبی روی مونت موریلونیت تثبیت شود. این کار به‌منظور جلوگیری از آسیب به اسپورهای قارچ انجام شد. سپس مقدار مشخصی از پلیمر ثعلب (نسبت ۰/۰۰۱ گرم بر میلی‌لیتر) با ترازوی دیجیتالی حساس وزن شده و در شرایط استریل به سوسپانسیون اضافه شد و خوب هم زده شد تا نانوکامپوزیت قارچ و MMT در ثعلب تثبیت شود.

زیست‌سنجی شته مومی کلم

سوسپانسیون دو جدایه از قارچ بیمارگر حشرات *B. bassiana* در پنج غلظت (10^4، 10^5، 10^6، 10^7 و 10^8 اسپور

بر میلی‌لیتر) تهیه شد و به همراه شاهد برای زیست‌سنجی شته‌های ماده کامل و پوره‌های سن دوم مورد استفاده قرار گرفت. برای هر غلظت چهار تکرار در نظر گرفته شد و در هر تکرار ۱۰ شته هم‌سن روی دیسک‌های برگی به قطر ۷/۵-۸ سانتی‌متر که با برشکار استریل برش داده شده بودند، گذاشته شد؛ هر دیسک برگی همراه با شته به مدت ۱۰ ثانیه درون سوسپانسیون روی شیکر غوطه‌ور و تیمار شد (Serebrov *et al.*, 2006). دیسک‌ها پس از خشک شدن درون ظروف پتری حاوی آگار (برای تامین رطوبت) در دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت ۵±۶۵ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت مدت هشت روز بعد از تیمار، مشاهده و ثبت شد. برای اطمینان از علت مرگ، شته‌های مرده درون ظروف پتری استریلی که داخل آن‌ها کاغذ صافی استریل و مرطوب قرار داشت، گذاشته شدند و داخل انکوباتور با دمای ۲±۲۵ سلسیوس قرار گرفتند. سپس بعد از دو روز علایم بیماری بررسی و ثبت شد. زیست‌سنجی دو بار تکرار شد.

پایداری قارچ بیمارگر حشرات و فرمولاسیون نانوکامپوزیت آن در برابر اشعه UV-C

سوسپانسیون دو جدایه قارچ بیمارگر حشرات در غلظت 10^8 اسپور بر میلی‌لیتر تهیه شد و در قالب چهار تیمار شامل قارچ، قارچ تثبیت شده روی مونت‌موریلونیت، نانوکامپوزیت قارچ تثبیت شده در ژلب و قارچ و ژلب (بدون مونت موریلونیت) مورد آزمایش قرار گرفت. زیر هود استریل و کنار چراغ الکلی، مقدار ۲۵۰ میکرولیتر از هر تیمار در ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل به همراه ۰/۰۵ درصد توین ۸۰ حل شد تا غلظت 10^6 اسپور بر میلی‌لیتر برای هر تیمار به دست بیاید. سپس مقدار ۲۵۰ میکرولیتر از هر تیمار روی محیط کشت SDA موجود در ظروف پتری شش سانتی‌متری خوب پخش شد. سپس، این ظروف داخل هودی که لامپ اشعه فرابنفش UV-C با طول موج ۲۵۴ نانومتر، توان ۳۰ وات و طول ۴۰ و عرض ۲ سانتی‌متر، درون آن تعبیه شده بود با فاصله ۷۰ سانتی‌متری از لامپ گذاشته شدند. لامپ داخل هود پیش از آزمایش به مدت ۳۰ دقیقه روشن شد و درب ظروف پتری در زمان آزمایش برداشته شد (Rojas *et al.*, 2023). هر تیمار به مدت ۰، ۱، ۲ و ۳ ساعت در برابر پرتوهای اشعه UV-C قرار گرفت. پس از زمان‌های تعیین شده ظروف از زیر هود بیرون آورده شدند، درب آن‌ها برای جلوگیری از آلودگی گذاشته شد و داخل انکوباتور با دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند. درصد جوانه‌زنی تیمارها پس از ۲۴ ساعت شمارش شد؛ برای این کار اگر طول لوله تندش برابر یا بیش‌تر از نصف قطر اسپور بود، اسپورها جوانه‌زده در نظر گرفته می شدند (Rojas *et al.*, 2023). تیمارها تا یک هفته به صورت روزانه بررسی شدند. آزمایش‌ها در دو تکرار انجام گرفت.

تجزیه آماری

برای به دست آوردن LC_{50} و LT_{50} داده‌های زیست‌سنجی، از روش تجزیه Probit استفاده شد. برای بررسی کلی زهرآگینی جدایه‌ها روی شته‌ها از آزمون دو طرفه تجزیه واریانس استفاده شد. تاثیر فرمولاسیون‌های قارچ بیمارگر حشرات بر جوانه‌زنی قارچ توسط تجزیه واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش توکی در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. تجزیه و مقایسه میانگین تاثیر زمان‌های پرتودهی بر جوانه‌زنی هر یک از فرمولاسیون‌ها نیز با روش تجزیه واریانس یک طرفه و توکی انجام شد. داده‌های درصد جوانه‌زنی پیش از تجزیه با فرمول $Arcsin\sqrt{x}$ اصلاح و نرمال شدند. تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS v. 24 و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel v. 2021 انجام شد.

نتایج

میزان زهرآگینی قارچ *B. bassiana* روی شته مومی کلم

نتایج حاصل از تجزیه پروبیت غلظت-کشندگی جدایه‌های WE209 و WE277 قارچ *B. bassiana* روی حشرات کامل ماده و پوره سن دوم شته مومی‌کلم نشان داد که مقدار LC_{50} در داده‌های بالغ شته مومی‌کلم برای جدایه WE209 برابر با $2/5\times10^5$ اسپور در میلی‌لیتر بود؛ این مقدار در جدایه WE277، $9/8\times10^4$ به دست آمد. هم‌چنین، مقادیر LC_{50} در پوره سن دوم به ترتیب $6/4\times10^5$ و $3/2\times10^5$ اسپور بر میلی‌لیتر بود. با توجه به این نتایج کم‌ترین مقادیر LC_{50}

مربوط به جدایه WE277 بوده و این جدایه میزان زهرآگینی بیش‌تری روی هر دو مرحله زندگی آفت داشت (جدول ۱). اما آزمون دو طرفه تجزیه واریانس نشان داد که زهرآگینی دو جدایه قارچ در ماده‌های کامل ($F_{(160,1)} = 0.801$; P = 0.372) و در پوره سن دوم ($F_{(160,1)} = 1.978$; P = 0.162)، از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با همدیگر نداشتند.

هم‌چنین، نتایج حاصل از تجزیه پروبیت زمان-کشندگی هر دو جدایه و محاسبه مقادیر LT_{50} روی حشرات کامل ماده و پوره سن دوم شته مومی‌کلم نشان داد که کم‌ترین مقدار LT_{50} در حشرات کامل در هر دو جدایه WE209 و WE277، مربوط به غلظت 10^8 بوده و به‌ترتیب برابر با ۵/۲۷ و ۵/۴۳ روز بود. در پوره سن دوم نیز غلظت 10^8 کم‌ترین LT_{50} را داشته و مقدار آن برای دو جدایه ۴/۵۸ و ۴/۴۲ روز بود. جدایه WE277 در تمامی غلظت‌ها به غیر از غلظت 10^8 با به دست آوردن کم‌ترین زمان کشندگی برای ۵۰ درصد جمعیت اثر بهتری روی حشرات کامل ماده داشت. در پوره‌های سن دوم نیز در تمام غلظت‌ها جدایه WE277 اثر بهتری نشان داد (جدول ۲).

جدول ۱- تجزیه پروبیت واکنش غلظت-کشندگی حشرات کامل ماده و پوره‌های سن دوم *Brevicoryne brassicae* نسبت به جدایه‌های WE209 و WE277 قارچ *Beauveria bassiana* در شرایط آزمایشگاهی

Table 1. Probit analysis of concentration-mortality responses of adult females and second instar nymphs of *Brevicoryne brassicae* to WE209 and WE277 isolates of *Beauveria bassiana* in laboratory conditions

Treatments		Slope ± SE	Intercept ± SE	χ^2 (df)	P	LC_{50} (95% CLs)	LC_{90} (95% CLs)	R^2
Adult	WE209	0.291 ± 0.047	-1.57 ± 0.28	1.769(3)	0.622	2.5×10^5 (7.1×10^5-7×10^5)	6.5×10^8 (6.3×10^7-5×10^{11})	0.957
	WE277	0.277 ± 0.047	-1.38 ± 0.28	1.124(3)	0.771	9.8×10^4 (1.9×10^4-2.9×10^5)	4.1×10^9 (4×10^8-3.688×10^{11})	0.969
Nymph	WE209	0.293 ± 0.047	-1.7 ± 0.28	1.446(3)	0.695	6.4×10^5 (2.1×10^5-1.7×10^6)	1.510×10^{10} (1.2×10^9-1.461×10^{12})	0.966
	WE277	0.248 ± 0.046	-1.37 ± 0.28	0.625(3)	0.891	3.2×10^5 (7.4×10^4-1×10^6)	4.730×10^{10} (2.1×10^9-2.860×10^{13})	0.980

جدول ۲- تجزیه پروبیت واکنش زمان-کشندگی حشرات کامل ماده و پوره‌های سن دوم *Brevicoryne brassicae* نسبت به غلظت‌های مختلف جدایه‌های WE209 و WE277 قارچ *Beauveria bassiana* در شرایط آزمایشگاهی

Table 2. Probit analysis of time-mortality responses of adult females and second instar nymphs of *Brevicoryne brassicae* to different concentrations of WE209 and WE277 isolates of *Beauveria bassiana* in laboratory conditions

	Treatments	concentrations	LT_{50} (Days)	Slope ± SE	Intercept ± SE	χ^2 (df = 5)	R^2
Adult	WE209	10^4	10.92 (8.95-15.32)	2.42 ± 0.51	-2.51 ± 0.47	1.23	0.989
		10^5	8.12 (6.77-9.79)	2.55 ± 0.5	-2.32 ± 0.47	3.4	0.954
		10^6	7.26 (6.43-8.52)	2.69 ± 0.44	-2.32 ± 0.35	1.18	0.983
		10^7	5.52 (4.91-6.13)	2.89 ± 0.4	-2.14 ± 0.32	1.37	0.992
		10^8	5.27 (4.64-5.8)	4.03 ± 0.62	-2.91 ± 0.5	2.83	0.934
	WE277	10^4	10.49 (8.81-14.69)	2.68 ± 0.61	-2.74 ± 0.54	1.34	0.985
		10^5	7.48 (6.27-8.85)	2.69 ± 0.45	-2.35 ± 0.41	1.17	0.997
		10^6	6.46 (5.94-7.13)	3.72 ± 0.46	-3.01 ± 0.36	0.69	0.947
		10^7	5.44 (4.97-5.88)	3.84 ± 0.45	-2.82 ± 0.35	2	0.969
		10^8	5.43 (5.03-5.83)	4.3 ± 0.48	-3.16 ± 0.37	1.3	0.974
Nymph	WE209	10^4	16.8 (10.53-40.11)	1.3 ± 0.388	-1.6 ± 0.41	2.84	0.916
		10^5	11.18 (8.28-23.78)	1.64 ± 0.62	-1.72 ± 0.6	0.48	0.991
		10^6	7.26 (4.49-9.34)	1.73 ± 0.5	-1.49 ± 0.49	1.41	0.985
		10^7	5.29 (3.67-6.64)	1.95 ± 0.36	-1.41 ± 0.34	3.18	0.974
		10^8	4.58 (3.77-5.23)	2.89 ± 0.44	-1.91 ± 0.36	0.667	0.989
	WE277	10^4	13.95 (10.23-35.49)	1.56 ± 0.52	-1.79 ± 0.52	1.75	0.964
		10^5	8.33 (5.49-11.96)	1.57 ± 0.3	-1.44 ± 0.32	6.65	0.893
		10^6	6.42 (5.35-7.57)	2.31 ± 0.36	-1.86 ± 0.31	2.5	0.971
		10^7	4.69 (1.79-6.93)	1.64 ± 0.41	-1.1 ± 0.45	1.1	0.986
		10^8	4.42 (3.57-5.09)	2.77 ± 0.43	-1.79 ± 0.35	1.4	0.987

تأثیر زمان‌های مختلف پرتودهی اشعه UV-C روی جوانه‌زنی هر یک از فرمولاسیون‌های قارچ *B. bassiana* و مقایسه فرمولاسیون‌ها با یکدیگر

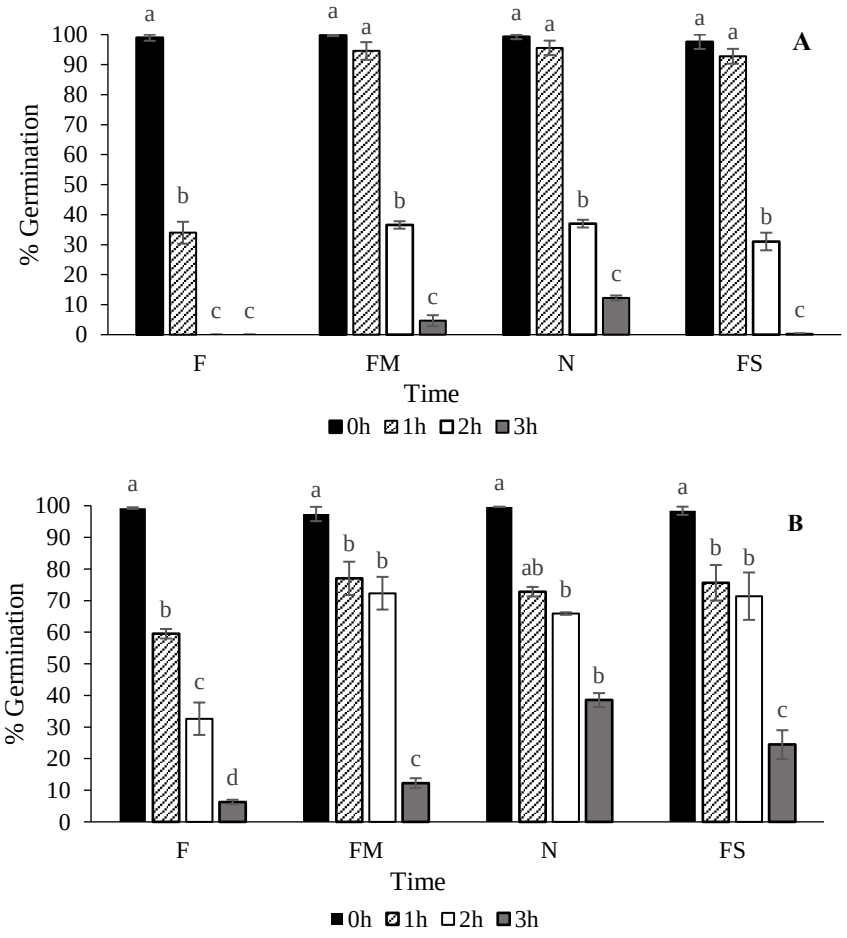
تأثیر ۰، ۱، ۲ و ۳ ساعت پرتودهی اشعه UV-C روی چهار فرمولاسیون از دو جدایه قارچ بیمارگرحشرات *B. bassiana* شامل قارچ به تنهایی (F)، قارچ تثبیت‌شده روی مونت‌موریلونیت (FM)، نانوکامپوزیت قارچ تثبیت شده در ثعلب (N) و ترکیب قارچ و ثعلب (FS)، به صورت جداگانه بر جوانه‌زنی قارچ بیمارگر بررسی شد. نتایج حاصل نشان داد که در جدایه WE209 بین زمان‌های ۰، ۱، ۲ و ۳ ساعت پرتودهی و درصد جوانه‌زنی قارچ در فرمولاسیون‌های قارچ تنها ($F_{(7,3)} = 217.339$; $P = 0.0001$)، قارچ تثبیت‌شده روی مونت‌موریلونیت ($F_{(7,3)} = 239.25$; $P = 0.0001$)، نانوکامپوزیت قارچ تثبیت شده در ثعلب ($F_{(7,3)} = 156.84$; $P = 0.00001$) و ترکیب قارچ و ثعلب ($F_{(7,3)} = 104.13$; $P = 0.00001$)، اختلاف معنی‌داری وجود دارد. هم‌چنین، در جدایه WE277 نیز بین زمان‌های ۰، ۱، ۲ و ۳ ساعت پرتودهی و درصد جوانه‌زنی قارچ در فرمولاسیون‌های قارچ تنها ($F_{(7,3)} = 293.99$; $P = 0.0001$)، قارچ تثبیت‌شده روی مونت‌موریلونیت ($F_{(7,3)} = 61.77$; $P = 0.0001$)، نانوکامپوزیت قارچ تثبیت شده در ثعلب ($F_{(7,3)} = 11.83$; $P = 0.019$) و ترکیب قارچ و ثعلب ($F_{(7,3)} = 34.07$; $P = 0.003$)، اختلاف معنی‌داری وجود داشت. بررسی‌ها نشان داد که در هر دو جدایه بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی مربوط به تیمار شاهد یا صفر ساعت UV-C و کم‌ترین درصد جوانه‌زنی نیز در فرمولاسیون نانوکامپوزیت جدایه WE277، مربوط به تیمار سه ساعت UV-C بود (شکل ۱).

تأثیر چهار فرمولاسیون از دو جدایه قارچ بیمارگرحشرات *B. bassiana* بر درصد جوانه‌زنی قارچ بیمارگر زیر ۰، ۱، ۲ و ۳ ساعت پرتودهی به وسیله اشعه UV-C به صورت جداگانه نشان داد که در جدایه WE209، در صفر ساعت UV-C، ($F_{(7,3)} = 0.174$; $P = 0.909$) بین فرمولاسیون‌های مختلف قارچ بیمارگر اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. در یک ($F_{(7,3)} = 35.156$; $P = 0.002$) و دو ($F_{(7,3)} = 297.19$; $P = 0.000$) ساعت UV-C، بین فرمولاسیون‌های مختلف قارچ بیمارگر اختلاف معنی‌داری وجود داشت و در هر دو ساعت کم‌ترین درصد جوانه‌زنی مربوط به قارچ تنها است و بقیه فرمولاسیون‌ها اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. در سه ساعت، UV-C ($F_{(7,3)} = 60.78$; $P = 0.001$)، نیز بین فرمولاسیون‌های مختلف قارچ بیمارگر اختلاف معنی‌داری وجود داشت و بیش‌ترین اثر و درصد جوانه‌زنی را نانوکامپوزیت قارچ تثبیت شده در ثعلب داشته است. در جدایه WE277، در صفر ($F_{(7,3)} = 0.514$; $P = 0.694$)، یک ($F_{(7,3)} = 3.525$; $P = 0.128$) و دو ($F_{(7,3)} = 5.173$; $P = 0.073$) ساعت UV-C، بین فرمولاسیون‌های مختلف قارچ بیمارگر اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. اما در سه ساعت UV-C ($F_{(7,3)} = 30.07$; $P = 0.003$)، بین فرمولاسیون‌های مختلف قارچ بیمارگر اختلاف معنی‌داری مشاهده شد و بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی را نانوکامپوزیت قارچ تثبیت شده در ثعلب داشت (شکل ۲).

بحث

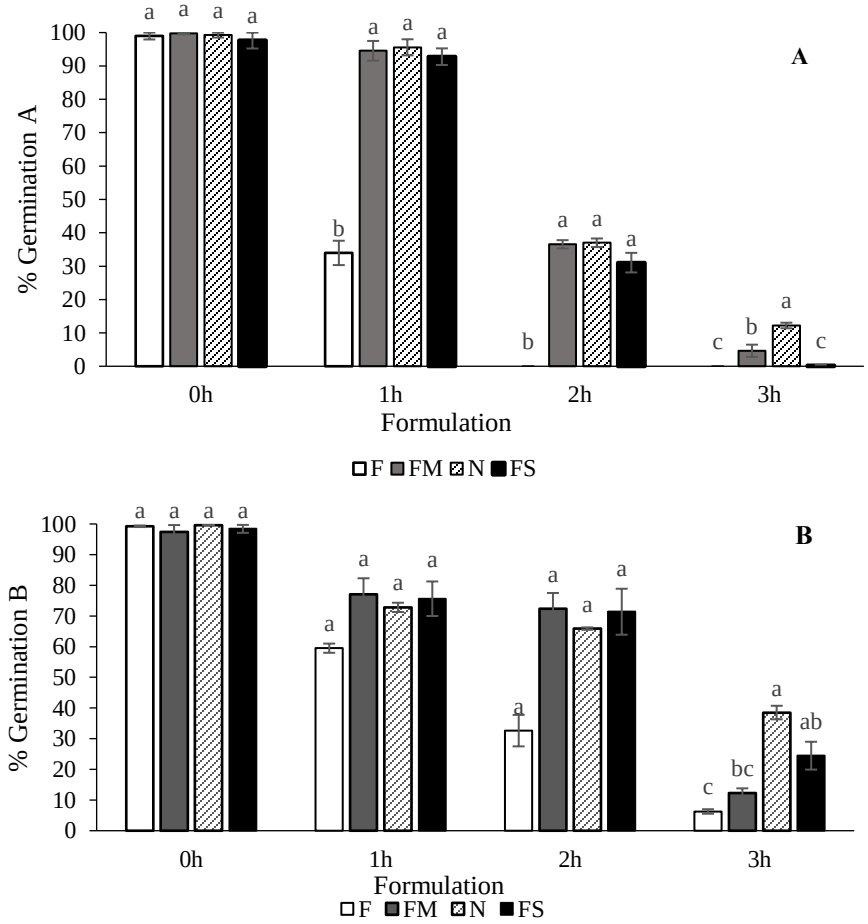
بر اساس نتایج حاصل از زیست‌سنجی در پژوهش حاضر، قارچ بیمارگر *B. bassiana* باعث ایجاد بیماری موسکاردین سفید روی هر دو مرحله زیستی شته مومی‌کلم شد. نتایج غلظت-کشندگی نشان داد که در هر دو جدایه با افزایش غلظت اسپور قارچ، میزان مرگ و میر در حشرات ماده کامل و پوره‌هانیز بیش‌تر شد. هم‌چنین، در هر دو جدایه مقدار LC_{50} در پوره‌های سن دوم بیش‌تر از حشرات کامل ماده بود و این می‌تواند به دلیل پوست‌اندازی پوره و در نتیجه، کاهش زمان تماس اسپور قارچ بیمارگر با کوتیکول حشره باشد. به علاوه نتایج حاصل از تجزیه پروبیت زمان-کشندگی نیز نشان داد که در هر دو جدایه با افزایش غلظت مقدار LT_{50} کاهش پیدا کرد و مقدار آن در پوره‌ها کم‌تر از حشرات کامل بود. پتانسیل بیماریزایی جدایه‌های مختلف قارچ‌های بیمارگر حشرات در برابر جمعیت شته‌های هدف متفاوت است. گونه‌های مشابه شته می‌توانند نسبت به سویه‌های قارچی مختلف حساسیت متفاوتی داشته باشند. حساسیت بیوتیپ‌های همان گونه شته ممکن است در برابر عفونت قارچی متفاوت باشد (Blanford *et al.*, 2003). آکمل و همکاران

(Akmal *et al.,* 2013) در مطالعه‌ای دریافتند که غلظت‌های مختلف از اسپورهای قارچ *B. bassiana* تأثیر متفاوتی بر میزان مرگ و میر شته‌ها داشت، هم‌چنین، در این پژوهش مقدار LC_{50} برای قارچ *B. bassiana*، ۶/۲۸×۱۰^{۵} اسپور بر میلی‌لیتر، بعد از روز سوم برای حشرات کامل *B. brassicae* و کم‌ترین LT_{50} نیز متعلق به غلظت ۱۰^{۸} و برابر با ۲/۳۸ روز بود، به علاوه مرگ و میر مشاهده شده در روز ۱-۲ پس از تیمار در تمام جدایه‌های قارچی کم و به تدریج افزایش یافت و بیشینه مرگ و میر در روز ۴-۷ به دست آمد.



شکل ۱- مقایسه تاثیر زمان‌های مختلف پرتودهی اشعه UV-C بر درصد جوانه‌زنی اسپور جدایه‌های (A) WE209 و WE277 (B) قارچ بیمارگر حشرات *Beauveria bassiana* در تیمارهای مختلف. ستون‌های با حروف یکسان در هر سری اختلاف معنی‌داری با هم ندارند. F = قارچ، FM = قارچ + MMT، N = نانوکامپوزیت، FS = قارچ + ثعلب

Figure 1. Comparison of the effect of different exposure times of UV-C radiation on the spore germination of the isolates WE209 (A) and WE277 (B) of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* in different treatments. Columns with the same letters in each set are not significantly different. F= Fungus, FM= Fungus+ MMT, N= Nanocomposite, FS= Fungus+ Salep



شکل ۲- مقایسه تاثیر چهار تیمار از دو جدایه (A) WE209 و (B) WE277 قارچ بیمارگر حشرات *Beauveria bassiana* بر درصد جوانه‌زنی آن‌ها پس از مواجهه با زمان‌های مختلف تابش اشعه UV-C، ستون‌های با حروف یکسان در هر سری اختلاف معنی‌داری با هم ندارند. F = قارچ، FM = قارچ + MMT، N = نانوکامپوزیت، FS = قارچ + ثعلب

Figure 2. Comparison of the effect of four treatments of two isolates WE209 (A) and WE277 (B) of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* on the percentage of spore germination after exposure to different times of UV-C radiation. Columns with the same letters in each set are not significantly different. F= Fungus, FM= Fungus+ MMT, N= Nanocomposite, FS= Fungus+ Salep

هم‌چنین، در پژوهشی دیگر این مقدار برای جدایه *B. bassiana* (IRAN 429C)، ۲/۰۴×۱۰^{۵} اسپور بر میلی‌لیتر محاسبه شد و کم‌ترین LT_{50} در ۷/۶۷ روز برای جدایه IRAN 429C در غلظت ۱۰^{۷} اسپور در میلی‌لیتر به دست آمد (Akbari *et al.* 2014). این نتایج نشان می‌دهد که قارچ بیمارگر *B. bassiana* اثربخشی خوبی روی شته مومی کلم در شرایط آزمایشگاهی دارد و در صورت وجود شرایط مناسب و با انجام پژوهش‌های گسترده در سطح مزرعه و گلخانه، می‌توان از آن در کنترل این آفت به صورت مؤثر استفاده کرد. بررسی‌های دیگر نیز همین نتایج را تأیید کردند (Ahamad *et al.*, 2020; Emami *et al.*, 2021).

به علاوه، در بررسی تاثیر زمان‌های مختلف اشعه UV-C بر جوانه‌زنی قارچ بیمارگر حشرات مشاهده شد که در هر دو جدایه با افزایش زمان پرتودهی، درصد جوانه‌زنی قارچ کاهش

پیدا کرد. این می‌تواند نشان‌دهنده اثر تخریبی اشعه فرابنفش بر اسپورهای قارچ باشد، اما با قرارگیری قارچ در فرمولاسیون‌های مختلف شامل نانوکامپوزیت، با افزایش زمان پرتودهی، درصد جوانه‌زنی قارچ کاهش کم‌تری نشان داد؛ برای مثال در نانوکامپوزیت قارچ تثبیت شده روی MMT در ثعلب در جدایه WE209، اختلاف معنی‌داری بین صفر و یک ساعت پرتودهی مشاهده نشد و در جدایه WE277 نیز بین زمان‌های صفر و یک و هم‌چنین زمان‌های یک، دو، و سه ساعت پرتودهی اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. این نتایج نشان می‌دهند که قرارگیری قارچ در نانوکامپوزیت از آن در برابر تابش اشعه فرابنفش محافظت کرده و از تخریب اسپورهای قارچ جلوگیری می‌کند. هم‌چنین، نتایج حاصل از مقایسه فرمولاسیون‌های مختلف در زمان ثابت تابش اشعه فرابنفش نشان داد که در هر دو جدایه فرموله کردن اسپورهای قارچ بر جوانه‌زنی آن‌ها تأثیری نداشت و در تیمار صفر ساعت پرتودهی، درصدهای جوانه‌زنی فرمولاسیون‌ها اختلاف معنی‌داری با هم نداشته‌اند، در حالی که پس از سه ساعت پرتودهی این اختلاف معنی‌دار بوده و بیش‌ترین درصد جوانه‌زنی مربوط به نانوکامپوزیت قارچ تثبیت‌شده در ثعلب بوده است. در نتیجه می‌توان استنباط کرد که قرارگیری قارچ در نانوکامپوزیت پایداری آن را در برابر اشعه فرابنفش افزایش داده است و می‌توان گفت که این افزایش پایداری در محیط‌های زراعی می‌تواند منجر به افزایش احتمال تماس قارچ بیمارگر با حشرات آفت شود. در مطالعه‌ای تأثیر سن کشت بر عملکرد، جوانه‌زنی و تحمل به اشعه فرابنفش اسپورهای تازه برداشت شده و خشک تولید شده توسط پنج جدایه قارچ بیمارگر حشرات مورد مطالعه قرار گرفت و نتایج نشان داد که وقتی اسپورها در معرض این اشعه قرار گرفتند اسپورهای تولید شده توسط تمام جدایه‌ها با سرعت کم‌تری نسبت به اسپورهای پرتودهی نشده جوانه زدند (Le Grand and Cliquet, 2013). نتایج حاصل از پژوهشی دیگر نشان داد که UV با طول موج ۲۵۳/۷ و ۳۶۰ نانومتر بر جوانه‌زنی *B. bassiana* پس از تیمار با چهار فرمول مختلف شامل افزودن ۵ درصد روغن گردو، روغن سویا و تریتون X-100 تأثیری نداشت (Jia *et al.*, 2023). باتیستا و همکاران (Batista *et al.*, 2017) کاربرد بالقوه دانه‌های آلژینات و بنتونیت را برای کپسوله‌سازی قارچ *B. bassiana* مورد مطالعه قرار دادند و نتایج آن‌ها نشان داد که بنتونیت تمایل به حفظ مورفولوژی سطح اصلی و ساختار داخلی اسپورهای قارچ در طول فرآیند خشک کردن دارد؛ هم‌چنین، این مطالعه یک روش امکان‌پذیر برای کپسوله‌سازی *B. bassiana* با استفاده از کامپوزیت‌های آلژینات/بنتونیت ارایه کرد و نشان داد که قادر به محافظت از سلول‌ها در برابر عوامل غیرزیستی نامطلوب و افزایش بقای قارچ است. به علاوه، در پژوهشی دیگر اثر جدایه قارچ بیمارگر *Metarhizium anisopliae* SM036، همراه با سنتز و خصوصیات نانوذرات *M. anisopliae*-chitosan روی بید کلم *Plutella xylostella* گزارش شده است. نتایج زیست‌سنجی نشان داد که غلظت‌های مختلف نانوذرات *M. anisopliae*-chitosan در شرایط آزمایشگاهی و نیمه صحرایی روی لاروهای سن دوم *P. xylostella* بسیار موثر بود. نتایج حاصل نشان داده‌اند که نانوذرات *M. anisopliae*-chitosan می‌تواند به طور موثری در برنامه کنترل بیولوژیک این آفت استفاده شود (Wu *et al.*, 2021). در مطالعه‌ای دیگر، اسپورهای *B. brongniartii* با نانو ذرات Fe^0 پوشانده شدند و با استفاده از مجموعه‌ای از تکنیک‌های تحلیلی مورد بررسی قرار گرفتند. هم‌چنین اثربخشی زیستی آن‌ها در برابر آفت *Spodoptera litura* مشاهده شد. این یافته‌ها نشان دادند که *B. brongniartii* Fe^0NPs به طور بالقوه می‌تواند در برنامه‌های مدیریت زیستی *S. litura* استفاده شود (Xu *et al.*, 2020).

نتایج این پژوهش نشان داد که با توجه به اثر بیمارگری قارچ *B. bassiana* روی هر دو مرحله زندگی شته مومی کلم در شرایط آزمایشگاهی، می‌توان از آن در کنترل این آفت استفاده کرد. از طرف دیگر با توجه به نتایج، قرارگیری اسپورهای قارچ بیمارگر در فرمولاسیون نانوکامپوزیت از آن

در برابر تابش اشعه فرابنفش محافظت کرد و پایداری آن را افزایش داد. اگرچه انجام پژوهش‌های بیش‌تر در شرایط مزرعه و گلخانه و هم‌چنین، بررسی اثر فرمولاسیون نانوکامپوزیت روی میزان زهرآگینی قارچ ضروری است.

سپاسگزاری

از دانشگاه ارومیه به دلیل حمایت از انجام این پژوهش در قالب پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد و هم‌چنین از ستاد توسعه فناوری نانو به دلیل حمایت از پیشنهادیه این تحقیق تحت شماره ۴۰۲۰۲۹۲ تشکر و قدردانی می‌شود.

References

Ahamad, K., Thapa, R., Regmi, R., Thapa, R. B., & Gautam, B. (2020). Efficacy and profitability of using different Ipm (Integrated Pest Management) measures for the control of cauliflower aphids (*Brevicoryne Brassicae* Linn.) in different genotypes of cauliflower in chitwan district, nepal. *Sustainability in Food and Agriculture 1*(2)*,* 80-87. **DOI: http://doi.org/10.26480/sfna.02.2020.80.87**

Akbari, S., Safavi, S. A., & Ghosta, Y. (2014). Efficacy of *Beauveria bassiana* (Blas.) Vuill. against cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* L.(Hem.: Aphididae) in laboratory condition. *Archives of Phytopathology and Plant Protection, 47*(12), 1454-1458. **DOI: http://dx.doi.org/10.1080/03235408.2013.845972**

Akmal, M., Freed, S., Malik, M. N. & Gul, H. T. (2013). Efficacy of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hypomycetes) against different aphid species under laboratory conditions. *Pakistan Journal of Zoology, 45*(1), 71-78.

Batista, D., De Oliveira, I., Ribeiro, A., Fonseca, E., Santos-Magalhães, N., de Sena-Filho, J., Teodoro, A ,.Grillo, L., de Almeida, R. & Dornelas, C. B. (2017). Encapsulation and release of *Beauveria bassiana* from alginate–bentonite nanocomposite. *The Royal Society of Chemistry Advances, 7*(42), 26468-26477. **DOI: http://doi.org/10.1039/c7ra02185b**

Blanford, S., Thomas, M. B., Pugh, C. & Pell, J. K. (2003). Temperature checks the red queen? resistance and virulence in a fluctuating environment. *Ecology Letters, 6*(1), 2-5. **DOI: https://doi.org/10.1046/j.1461-0248.2003.00387.x**

Canassa, V. F., Baldin, E. L. L., Sacilotto, M. G., Lourenção, A. L. & Fanela, T. L. M. (2021). Assessing the resistance of collard greens genotypes to the cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*)(Hemiptera: Aphididae). *Phytoparasitica, 49*, 633-644. **DOI: https://doi.org/10.1007/s12600-021-00882-3**

Dannon, H. F., Dannon, A. E., Douro-kpindou, O. K., Zinsou, A. V., Houndete, A. T., Toffa-Mehinto, J., Elegbede, I., Olou, B. D. & Tamo, M. (2020). Toward the efficient use of *Beauveria bassiana* in integrated cotton insect pest management. *Journal of Cotton Research, 3*(1), 1-21. **DOI: https://doi.org/10.1186/s42397-020-00061-5**

Ding, J.-L., Lin, H.-Y., Hou, J., Feng, M.-G. & Ying, S.-H. (2023). The entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* employs autophagy as a persistence and recovery mechanism during conidial dormancy. *Mbio,* 14(2), 1-20. **DOI: https://doi.org/10.1128/mbio.03049-22**

Emami, S., Aramideh, S., Pirsa, S. & Michavd, J. (2021). Lethal effects of fungi *Beauveria bassiana* (Bals.) and nanosilica on cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* (L.) and its parasitoid *Diaeretiella rapae* (McIntosh) in laboratory conditions. *Journal of Iranian Plant Protection Research, 35*(3), 333-345. **DOI: https://doi.org/10.22067/jpp.2021.70807.1030**

Gahukar, R. T. & Das, R. K. (2020). Plant-derived nanopesticides for agricultural pest control: challenges and prospects. *Nanotechnology for Environmental Engineering, 5*, 1-9. **DOI: https://doi.org/10.1007/s41204-020-0066-2**

Iftikhar, A., Hafeez, F., Aziz, M. A., Hashim, M., Naeem, A., Yousaf, H. K., Saleem, M. J., Hussain, S., Hafeez, M & .Ali, Q. (2022). Assessment of sublethal and transgenerational effects of spirotetramat, on population growth of cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* L.(Hemiptera: Aphididae). *Frontiers in Physiology, 13*, 2461-2473. **DOI: https://doi.org/10.3389/fphys.2022.1014190**

Islam, S. M. N., Chowdhury, M. Z. H., Mim, M. F., Momtaz, M. B. & Islam, T. (2023). Biocontrol potential of native isolates of *Beauveria bassiana* against cotton leaf worm *Spodoptera litura* (Fabricius). *Scientific Reports, 13*(1), 8331-8344. **DOI: https://doi.org/10.1038/s41598-023-35415-x**

Javed, M. W., Hasan, M. u., Sagheer, M., Sahi, S. T. & Mankin, R. W. (2022). Foliar and soil treatments of *Brassica napus* that elicit antibiosis in *Brevicoryne brassicae*. *Agronomy, 12(4),* 882-899. **DOI: https://doi.org/10.3390/agronomy12040882**

Jia, H., Camara, I., Zhang, Z., Gao, Y., Yang, X., Sangbaramou, R., Zhen, C. a., Shi, W. & Tan, S. (2023). Effect of ultraviolet radiation on *Beauveria bassiana* virulence and development of protective formulations. *Archives of Microbiology, 205*(4), 112-119. **DOI: https://doi.org/10.1007/s00203-023-03457-4**

Jones, K. A. & Burges, H. D. (1998). Technology of formulation and application. Formulation of microbial biopesticides: beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments, Springer**:** 7-30.

Khan, S., Nadir, S., Lihua, G., Xu, J., Holmes, K. A. & Dewen, Q. (2016). Identification and characterization of an insect toxin protein, Bb70p, from the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, using *Galleria mellonella* as a model system. *Journal of Invertebrate Pathology, 133*, 87-94. **DOI: http://dx.doi.org/10.1016/j.jip.2015.11.010**

Khoshfarman-Borji, H., Yali, M. P. & Bozorg-Amirkalaee, M. (2020). Induction of resistance against *Brevicoryne brassicae* by *Pseudomonas putida* and salicylic acid in canola. *Bulletin of Entomological Research, 110*(5), 597-610. **DOI: https://doi.org/10.1017/S0007485320000097**

Kumar, S., Nehra, M., Dilbaghi, N., Marrazza, G., Hassan, A. A. & Kim, K.-H. (2019). Nano-based smart pesticide formulations: emerging opportunities for agriculture. *Journal of Controlled Release, 294*, 131-153. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.12.012**

Lashkari, M. R., Sahragard, A. & Ghadamyari, M. (2007). Sublethal effects of imidacloprid and pymetrozine on population growth parameters of cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* on rapeseed, *Brassica napus* L. *Insect Science, 14*(3), 207-212. **DOI: https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2007.00145.x**

Le Grand, M. & Cliquet, S. (2013). Impact of culture age on conidial germination, desiccation and UV tolerance of entomopathogenic fungi. *Biocontrol Science and Technology, 23*(7), 847-859. **DOI: https://doi.org/10.1080/09583157.2013.802289**

Lee, S.-H., Teramoto, Y. & Endo, T. (2011). Cellulose nanofiber-reinforced polycaprolactone/polypropylene hybrid nanocomposite. *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing, 42*(2)*,* 151-156. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.compositesa.2010.10.014**

Leggett, M., Leland, J., Kellar, K. & Epp, B. (2011). Formulation of microbial biocontrol agents–an industrial perspective. *Canadian Journal of Plant Pathology, 33*(2), 101-107. **DOI: https://doi.org/10.1080/07060661.2011.563050**

Mahmoodi, L., Mehrkhou, F., Guz, N., Forouzan, M. & Atlihan, R. (2020). Sublethal effects of three insecticides on fitness parameters and population projection of *Brevicoryne brassicae* (Hemiptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology, 113*(6), 2713-2722. **DOI: https://doi.org/10.1093/jee/toaa193**

Mondal, S. (2018). Review on nanocellulose polymer nanocomposites. *Polymer-Plastics Technology and Engineering, 57*(13), 1377-1391. **DOI: http://dx.doi.org/10.1080/03602559.2017.1381253**

Mousavi, M., Mehrkhou, F., GÜZ, N., Goosta, Y. & Atlihan, R. (2022). Sublethal effects of two entomopathogenic fungi species, *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* ,on the cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 46*(4), 441-452. **DOI: https://doi.org/10.55730/1300-011X.3016**

Mpumi, N., Machunda, R. S., Mtei, K. M. & Ndakidemi, P. A. (2020). Selected insect pests of economic importance to *Brassica oleracea*, their control strategies and the potential threat to environmental pollution in Africa. *Sustainability, 12*(9), 3824-3846. **DOI: https://doi.org/10.3390/su12093824**

Neugart, S., Kläring, H.-P., Zietz, M., Schreiner, M., Rohn ,S., Kroh, L. W. & Krumbein, A. (2012). The effect of temperature and radiation on flavonol aglycones and flavonol glycosides of kale (*Brassica*

oleracea var. *sabellica*). *Food Chemistry, 133*(4), 1456-1465. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.02.034**

Pan, X., Guo, X., Zhai, T., Zhang, D., Rao, W., Cao, F. & Guan, X. (2023). Nanobiopesticides in sustainable agriculture: developments, challenges, and perspectives. *Environmental Science: Nano*, *10,* 41-61. **DOI: https://doi.org/10.1039/d2en00605g**

Plowright, R. K ,.Parrish, C. R., McCallum, H., Hudson, P. J., Ko, A. I., Graham, A. L. & Lloyd-Smith, J. O. (2017). Pathways to zoonotic spillover. *Nature Reviews Microbiology, 15*(8), 502-510. **DOI: https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.45**

Quesada-Moraga, E., Maranhao, E ,.Valverde-García, P. & Santiago-Álvarez, C. (2006). Selection of *Beauveria bassiana* isolates for control of the white flies *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum* on the basis of their virulence, thermal requirements, and toxicogenic activity. *Biological Control, 36*(3), 274-287. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2005.09.022**

Rashidzadeh, A., Olad, A., Salari, D. & Hejazi, M. J. (2014). On the encapsulation of natural pesticide using polyvinyl alcohol/alginate–montmorillonite nanocomposite for controlled release application. *Polymer Engineering & Science, 54*(12), 2707-2714. **DOI: https://doi.org/10.1002/pen.23823**

Rezanejade Bardajee, G., Boraghi, S. A., Mahmoodian, H., Rezanejad, Z., Parhizkari, K. & Elmizadeh, H. (2023). A salep biopolymer-based superporous hydrogel for ranitidine delivery: synthesis and characterization. *Journal of Polymer Research, 30*(2), 66-79. **DOI: https://doi.org/10.1007/s10965-023-03436-9**

Rojas, V. M. A., Iwanicki, N. S. A., D'Alessandro, C. P., Fatoretto, M. B., Demétrio ,C. G. B. & Delalibera Jr, I. (2023). Characterization of Brazilian *Cordyceps fumosorosea* isolates: Conidial production, tolerance to ultraviolet-B radiation, and elevated temperature. *Journal of Invertebrate Pathology, 197*, 107888-107897. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.jip.2023.107888**

Safavi, S. A. & Taheri Sarhozaki, M. (2019). Effects of the entomopathogenic fungus, *Lecanicillium longisporum* on survival and population growth parameters of the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* (Hemiptera: Aphididae) under laboratory conditions. *Journal of Entomological Society of Iran, 38*(4), 377-388. **DOI: https://doi.org/10.22117/jesi.2019.123762.1268**

Sanlier, N. & Guler, S. (2018). The benefits of Brassica vegetables on human health. *Journal of Human Health Research, 1*(1), 1-13.

Sarkar, S., Kundu, A., Chakraborty, R. & Mukhopadhyay, A. (2021). A review on nanocomposites and their role in insecticide delivery. *Journal of Entomology and Zoology Studies, 9*(1), 1985-1988. **DOI: https://doi.org/10.22271/j.ento.2021.v9.i1ab.8427**

Serebrov, V., Gerber, O., Malyarchuk, A., Martemyanov, V., Alekseev, A. & Glupov, V. (2006). Effect of entomopathogenic fungi on detoxification enzyme activity in greater wax moth *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera, Pyralidae) and role of detoxification enzymes in development of insect resistance to entomopathogenic fungi. *Biology Bulletin, 33*, 581-586. **DOI: https://doi.org/10.1134/S1062359006060082**

Szwarc, J., Niemann, J., Bocianowski, J., Jakubus, M. & Mrówczyński, M. (2021). Connection between nutrient content and resistance to selected pests analyzed in Brassicaceae hybrids. *Agriculture, 11*(2), 94. **DOI: https://doi.org/10.3390/agriculture11020094**

Thostenson, E. T., Li, C. & Chou, T.-W. (2005). Nanocomposites in context. *Composites science and technology*, *65*(3-4), 491-516. **DOI: https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2004.11.003**

Tiwari, S., Sharma, B., Singh, H., Biswas, P. & Kumari, A. (2023). Nanoparticles in pest management. Chaudhary, P., Chaudhary, A., Kumar Nadda, A. and Khati, P. Advances in Nanotechnology for Smart agriculture: Techniques and applications. London, New York, CRC Press**:** 221-244.

Ulusoy, M. R. & Ölmez-Bayhan, S. (2006). Effect of certain Brassica plants on biology of the cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* under laboratory conditions. *Phytoparasitica, 34*, 133-138. **DOI: https://doi.org/10.1007/BF02981313**

Wang, H., Peng, H., Li, W., Cheng, P. & Gong, M. (2021). The toxins of *Beauveria bassiana* and the strategies to improve their virulence to insects. *Frontiers in Microbiology, 12*, 705343-705354. **DOI: https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.705343**

Wraight, S., Carruthers, R. I., Bradley, C., Jaronski, S., Lacey, L., Wood, P. & Galaini-Wraight, S. (1998). Pathogenicity of the entomopathogenic fungi *Paecilomyces* spp. and *Beauveria bassiana* against the silver leaf white fly, *Bemisia argentifolii*. *Journal of Invertebrate Pathology, 71*(3), 217-226. **DOI: https://doi.org/10.1006/jipa.1997.4734**

Wu, J., Du, C., Zhang, J., Yang, B., Cuthbertson, A. G. & Ali, S. (2021). Synthesis of *Metarhizium anisopliae*–chitosan nanoparticles and their pathogenicity against *Plutella xylostella* (Linnaeus). *Microorganisms, 10*(1), 1-15. **DOI: https://doi.org/10.3390/microorganisms10010001**

Xu, J., Zhang, K., Cuthbertson, A. G., Du, C. & Ali, S. (2020). Toxicity and biological effects of *Beauveria brongniartii* Fe^0 nanoparticles against *Spodoptera litura* (Fabricius). *Insects, 11*(12), 895-910. **DOI: https://doi.org/10.3390/insects11120895**

Plant Pest Research
2023- 13 (3): 27-42

Open access
doi: 10.22124/iprj.2023.25524.1534
pISSN: 2322-2409
eISSN: 2538-6123

Research paper

Optimizing the spores persistence of two isolates of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, against ultraviolet radiation using nanocomposite formulation

M. Raoofi[1], S. A. Safavi[2]* and M. Mahmoudian[3]

1 & 2. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran, 3. Department of Nanotechnology, Faculty of Chemistry, Urmia University, Urmia, Iran
1. 0009-0004-0432-3680, 2. 0000-0002-8300-6138, 3. 0000-0002-9949-8579

(Received: August 31, 2023- Accepted: November 4, 2023)

Abstract

The entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* is an important and universal biological control agent that is used to control many important pests such as cabbage aphid *Brevicoryne brassicae*. Main limitation of the use of this fungus is environmental persistence to initiate epidemics in susceptible host populations. In this research, the lethal effects of two isolates of the entomopathogenic fungus on adults and second instar nymphs of cabbage aphid and the stability of the entomopathogenic fungus and its nanocomposite formulation against UV-C radiation were investigated. The LC_{50} value of the cabbage aphid adults was equal to 2.5×10^5 in WE209 isolate and 9.8×10^4 spores/ml in WE277 isolate. The LC_{50} values in the second instar nymphs were 6.4×10^5 and 3.2×10^5 spores/ml, respectively. Spore germination after 2 and 3 h exposure to ultraviolet radiation equals to zero for both times in WE209 isolate and 6 and 32%, respectively in WE277 isolate. However, these values were 12% and 37% for WE209 and 65% and 38%, respectively for WE277 base on nanocomposite. These results showed that the nanocomposite of the entomopathogenic fungus *B. bassiana* based on montmorillonite/salep can be effectively used to increase the stability and as a result, increasing the virulence of the fungus.

Key words: Biological control, cabbage aphid, entomopathogenic fungus, nanocomposite, UV-C radiation

* Corresponding author: a.safavi@urmia.ac.ir

CC BY