مروری بر فرمولاسیون آفت‌کش‌های میکروبی

رسول مرزبان و شهرام نعیمی

مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی
مسئول مکاتبات: رسول مرزبان، پست الکترونیک: r.amarzban@areeo.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۷/۱۷ ۷(۱)۳۹-۵۵ تاریخ پذیرش: ۹۸/۱۲/۲۰

چکیده

با توجه به اثرات ناگوار استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی بر محیط زیست و سلامت انسان، امروزه، کاربرد آفت‌کش‌های زیستی (biopesticides) به‌عنوان روش جایگزین، مؤثر و در عین حال بی‌خطر، برای کنترل آفات در برنامه‌های کشاورزی پایدار ضروری و حیاتی تلقی می‌شوند. آفت‌کش‌های زیستی که در این جا به آن‌ها پرداخته می‌شود، شامل فرآورده‌هایی است که حاوی میکروارگانیسم‌های زنده می‌باشد (microbial biopesticides). اگرچه، تعداد فراوانی از سویه‌های مؤثر آفت‌کش‌های میکروبی شناسایی شده‌اند اما یکی از دلایل اصلی عدم موفقیت تجاری آن‌ها، نبودِ فرمولاسیون‌های مناسب می‌باشد. چالش‌های متعدد علمی و فنی در فرآیند فرمولاسیون آفت‌کش‌های زیستی وجود دارد. با این حال، با پیشرفت‌های فنی و نگرش نوین جامعه به غذا و محیط زیست سالم، ثبت و فروش آفت‌کش‌های زیستی در دنیا در حال افزایش بوده و پیش بینی‌ها حاکی از افزایش فروش سالیانه آفت‌کش‌های زیستی در سال‌های آینده می‌باشد. در این مقاله مروری، ابتدا مقدمه‌ای درباره ضرورت کاربرد آفت‌کش‌های زیستی به‌عنوان جایگزینی مناسب برای سموم شیمیایی و جایگاه آن‌ها در کشاورزی نوین بیان می‌شود. سپس به چالش‌های کلی تولید و تجاری‌سازی آفت‌کش‌های میکروبی و فنِ فرمولاسیون به‌طور ویژه پرداخته خواهد شد. مراحل قبل از فرمولاسیون شامل انتخاب سویه مناسب، حفظ و نگهداری طولانی مدت آن و نیز روش های تکثیر انبوه به‌طور خلاصه ذکر می‌شود. سپس، انواع کلی فرمولاسیون‌ها (مایع و جامد) و مزایا و معایب آن‌ها شرح داده شده و به مواد مختلف همراه و افزودنی‌های فرمولاسیون و نیز عوامل متفاوت محیطی تأثیرگذار بر فرمولاسیون‌ها اشاره خواهد شد. در ادامه فرمولاسیون‌های مختلف آفت‌کش‌های میکروبی به‌طور جداگانه و با ذکر مثال شرح داده می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آفت‌کش بیولوژیک، میکروارگانیسم‌های مفید، کنترل بیولوژیک، تجاری‌سازی

مقدمه

از تمدن‌های گذشته تا به امروز، کشاورزی نقش اجتماعی و اقتصادی مهمی در توسعه جوامع بشری بازی کرده است. یکی از چالش‌های جدیِ پیش روی بشر، جمعیت رو به افزایش جهان و متناسب با آن تقاضا برای تولید غذا است. از طرفی، آفات (به معنی اعم آن شامل بی‌مهرگان، بیمارگرها و علف‌های هرز) بین ۴۲-۲۷ درصد به محصولات کشاورزی خسارت وارد می‌کنند و در صورت عدم اجرای برنامه‌های کنترل، این ارقام به ۸۳-۴۸ درصد خواهد رسید (Oerke & Dehne 2004; Chandler *et al.*, 2011).

روش‌های مدرن کشاورزی طی انقلاب سبز، تولید غذا را در جهان افزایش داده و اثرات مثبت انقلاب سبز در افزایش تولید، انکارناپذیر است. به‌رغم این موفقیت، انتقادهای جدی درخصوص اثرات اکولوژیکی نظیر سیستم تک‌کشتی و مصرف بالای انرژی بر آن وارد است. از آن مهم‌تر، از نگاه اجتماعی، انقلاب سبز به دلیل وابستگی به کاربرد آفت‌کش‌های شیمیایی و اثرات ناگوار زیست‌محیطی و مخاطرات بهداشتی مورد نکوهش قرار

گرفته است (Glaeser, 2010). مدارک فراوانی دال بر اثرات مخرب مصرف آفت‌کش‌های شیمیایی بر محیط زیست و سلامت انسان وجود دارند (Pimentel, 2005) که سبب گرایش زیاد مصرف‌کننده‌ها به سمت روش‌های بی‌خطر کنترل آفات و نیز خارج شدن تعداد زیادی از سموم شیمیایی از چرخه مصرف شده است (Bailey, 2010). تولید پایدار منابع غذایی منجر به بقا و دوام گونه‌های زیستی و منابع طبیعی شده و بنابراین استقرار نظام‌های جدید کشاورزی، مانند کاربرد آفت‌کش‌های میکروبی که بین تولید غذا و حفظ محیط زیست تعادل ایجاد می‌کند، بسیار مهم و ضروری است. مدیریت تلفیقی آفات (IPM) در دوره پس از انقلاب سبز و در نتیجه مشکلات ایجاد شده توسط سموم کشاورزی مطرح شد. در جستجو برای یافتن شیوه‌های جایگزین مصرف سموم شیمیایی، کاربرد آفت‌کش‌های میکروبی به‌عنوان یک راهکار مؤثر و دوستدار محیط زیست مورد توجه ویژه‌ای قرار گرفته است (Chandler *et al*., 2011). جامعه جهانی بر سر نیاز به ایجاد تعادل بین تولید و سلامت محیط زیست به‌عنوان کلید دستیابی به کشاورزی پایدار و حفظ منابع تجدید ناپذیر به توافق رسیده است.

امروزه، آفت‌کش‌های میکروبی به‌عنوان جزئی از IPM برای برنامه‌های کشاورزی پایدار ضروری و حیاتی تلقی می‌شوند (Glare *et al*., 2012). با اجرای برنامه های IPM پس از انقلاب سبز و رشد آگاهی جامعه در خصوص مشکلات زیست‌محیطی، کاربرد آفت‌کش‌های زیستی رواج بیشتری یافت و شرکت‌های زیادی به فکر توسعه محصولات دوست‌دار محیط زیست افتادند (Ravensberg, 2011). به‌منظور حفظ سلامت جامعه و ایمنی غذایی، جوامع بشری تمایل دارند آفت‌کش‌های شیمیایی مرسوم را در کنترل آفات با ترکیبات سالم و کم خطری مثل آفت‌کش‌های میکروبی جایگزین نمایند. بر این اساس، مؤسسات تحقیقاتی و دانشگاه‌ها در تلاش هستند تا ضمن متمرکز نمودن پژوهش‌های خود روی شناسایی و معرفی عوامل کنترل بیولوژیک جدید و مؤثر، بتوانند رسالت خود را در حفظ امنیت غذایی و سلامت جامعه به انجام برسانند. شرکت‌های تجاری نیز تمایل دارند با استفاده از یافته‌های این پژوهشگران، ترکیبات تجاری جدیدی را که از نظر جامعه مورد پذیرش هستند تولید کرده و تجارت خود را توسعه دهند (Ravensberg, 2011). معمولاً کارایی کنترل زیستی غیرقابل پیش‌بینی و در مقیاس وسیع بیش از حد متغیر بوده است. هرچند تعداد عوامل کنترل زیستی ثبت شده درحال افزایش است، اما تعداد کمی از آنها توانسته‌اند عملکرد موفقیت‌آمیزی در مقیاس وسیع داشته باشند. علت نوسان زیاد عملکرد عوامل کنترل زیستی در عرصه کشاورزی را می‌توان یکی، در آشنا نبودن کشاورزان و کاربران با سیستم‌های کنترل زیستی و دوم عدم دست‌یابی مراکز پژوهشی و صنعتی به یک فرمولاسیون میکروبی موفق دانست. بنابراین، هرچند انتخاب جدایه‌های برتر اهمیت فوق العاده‌ای دارد اما اگر فرمولاسیون مناسب نباشد نمی‌توان موفقیتی در عرصه برای آن متصور بود. فرمولاسیون خوب، کلید موفقیت تجاری‌سازی عوامل کنترل زیستی است. هدف پژوهشگران، ساخت فناوری‌های نوین قابل پیش بینی‌تر و قابل رقابت‌تر با آفت‌کش‌های شیمیایی است. یک آفت‌کش میکروبی ترکیبی از عامل کنترل زیستی و مواد همراه در راستای افزایش تأثیر عامل بیولوژیک می‌باشد.

هدف از فرمولاسیون عوامل کنترل زیستی، پایداری عامل کنترل زیستی در طول فرایند تولید، توزیع و انبارداری، تسهیل حمل و نقل و کاربرد و حفاظت از عامل بیولوژیک در برابر عوامل محیطی ضمن افزایش کارایی عامل بیولوژیک است. برای یک فرمولاسیون مؤثر، شناخت عامل کنترل زیستی، آفت هدف، محیط (اکوسیستم) و تعامل آن با دیگر موجودات (گیاه میزبان، میکروارگانیسم‌های خاک یا سایر دشمنان طبیعی آفات) ضروری به نظر می‌رسد. یکی از پایه‌های اصلی برنامه تحقیقاتی روی فرمولاسیون‌ها ایمن و قابل قبول بودن افزودنی‌ها و مواد همراه فرمولاسیون توسط سازمان‌های نظارتی است. عوامل کنترل میکروبی می‌توانند باکتری‌های گرم مثبت یا گرم منفی، قارچ‌ها، نماتدها و یا ویروس‌ها باشند. شناخت کافی از عامل کنترل بیولوژیک در توسعه فرمولاسیون آن بسیار ضروری است. فرمولاسیون عوامل کنترل میکروبی نمی‌تواند از فرآیند تولید آنها جدا

باشد چرا که فرآیند تولید می‌تواند در کارایی و پایداری آفت کش های میکروبی بسیار مؤثر باشد. هدف از این بررسی ارایه دیدگاه به کارشناسان و صنعتگران آفت‌کش‌های میکروبی با در نظرگرفتن مسایل مهم در توسعه فرمولاسیون است.

آفت‌کش‌های میکروبی

آفت‌کش میکروبی، آفت‌کشی است حاوی میکروارگانیسم‌های زنده یا فراورده آنها که به آفت‌کش‌های زیستی میکروبی نیز معروفند. بازار آفت‌کش‌های میکروبی نسبتاً کوچک اما هزینه تحقیق و توسعه آن‌ها بالا است. دانش تولید و فرمولاسیون آفت‌کش‌های میکروبی معمولاً به عنوان راز تجاری توسط شرکت‌ها حفظ شده و منابع علمی منتشر شده در این زمینه بسیار ناچیز است و این خود مانع پیشرفت علم در این حوزه می‌شود و هزینه‌های تحقیق و توسعه آفت‌کش‌های میکروبی را افزایش می‌دهد. حقوق مادی و معنوی برای شرکت‌های کوچک تولیدکننده بسیار مهم است اما تأکید بیش از اندازه روی این موضوع، باعث محدود شدن توسعه آفت‌کش‌های میکروبی خواهد شد (Glare & Moran-Diez, 2016).

توسعه آفت‌کش‌های میکروبی با سرعت قابل توجهی در دنیا در حال گسترش می‌باشد. به کارگیری توان طبیعی میکروارگانیسم‌ها در کنترل آفات و بیماری‌های گیاهی همیشه موضوع جذابی بوده است، اما پر واضح است برای تبدیل کنترل طبیعی آفات به یک واقعیت، تحقیقات زیادی لازم است. حوزه تحقیق و توسعه آفت‌کش‌های میکروبی از انتخاب یک میکروب مفید گرفته تا کاربرد آن در طبیعت پیچیده بوده و همکاری شاخه‌های مختلف علوم و صنعت را می‌طلبد. آفت‌کش‌های میکروبی اگر به درستی تولید و فرموله شوند و به نحو مطلوب مورد استفاده قرار گیرند، از رقبای شیمیایی خود به‌خصوص از نظر سمیت پایین برای موجودات غیر هدف سودمندتر خواهند بود. تاریخچه استفاده از آفت‌کش‌های میکروبی به حدود صد سال پیش برمی‌گردد، در واقع در دهه ۱۹۳۸ بود که Sporeineبه‌عنوان فراورده تجاری *Bacillus thuringiensis* در فرانسه وارد بازار شد (Beegle & Yamamoto, 1992) و بعد از جنگ جهانی دوم همزمان با پدیدار شدن مقاومت آفات به آفت‌کش‌های شیمیایی، تولید و مصرف آفت‌کش‌های میکروبی به سرعت توسعه یافت. اکنون تولید آفت‌کش‌های میکروبی در دنیا سالانه بالغ بر چندین هزار تن گزارش شده است (Glare *et al*., 2012).

استفاده از آفت‌کش‌های میکروبی در ایران به دهه ۱۳۵۰ بر می‌گردد که اولین آفت‌کش بیولوژیک تجاری به نام Bactospeine با ماده مؤثره *B. thuringiensis* var. *kurstaki* در سال ۱۳۵۴ برای کنترل ابریشم باف ناجور روی درختان جنگلی به ثبت رسید. در دهه ۱۳۶۰ فعالیت‌های تحقیقاتی روی عوامل کنترل میکروبی آفات گسترش یافت و این فعالیت‌ها چشمگیرتر شد. تاکنون ده‌ها طرح تحقیقاتی و پایان‌نامه دانشجویی در راستای جداسازی، شناسایی و تعیین کارایی عوامل کنترل میکروبی آفات در شرایط آزمایشگاه و مزرعه طراحی و اجرا شده است (Marzban & Askari, 2010). به رغم این که آفت‌کش‌های میکروبی به‌طور بالقوه می‌توانند در حوزه‌های مختلفی مورد استفاده قرار گیرند و با وجود افزایش فروش آن‌ها طی سالیان اخیر، اما نفوذ آفت‌کش‌های میکروبی در بازار به‌میزان پیش‌بینی شده نرسیده و سهم آن‌ها در بازار جهانی پایین و به‌میزان ۴-۳ درصد است (Beer, 2012). دلایل این ضعف رقابتی در مقایسه با سموم شیمیایی به چالش‌های زیستی، فنی و قانونی (ثبت) آفت‌کش‌های میکروبی برمی‌گردد که طی فرآیند تولید و تجاری سازی با آن‌ها مواجه می‌شوند. هر چند که طی تحقیقات بسیار زیاد در دهه‌های اخیر، تعداد سویه‌های مؤثر فراوانی از قارچ‌ها و باکتری‌ها مورد شناسایی قرار گرفته‌اند اما یکی از دلایل اصلی عدم موفقیت آن‌ها در تجاری سازی، فقدان فرمولاسیون‌های مناسب است (Montesinos, 2003). چالش‌های پیش روی آفت‌کش‌های میکروبی که بایستی در فرآیند توسعه به آن پرداخته شود متنوع و زیاد است. برخی از این چالش‌ها شامل بازاریابی، سهولت تولید و کاربرد، پایداری و انبارداری مناسب، حفظ قدرت حیاتی، کارایی و اثربخشی در شرایط اقلیمی و محیطی متفاوت هستند (Glare *et al*., 2012). فرآیند توسعه

یک آفت‌کش میکروبیِ جدید، زمان‌بر، هزینه‌بر و شامل موانع بسیاری است.

در اغلب موارد، سویه‌های مؤثری که کارایی آن‌ها در شرایط کنترل شده به اثبات رسیده است، در مقیاس وسیع، عملکرد ضعیفی از خود نشان می‌دهند. بنابراین، برای موفقیت بیشتر آفت‌کش‌های میکروبی باید روی چگونگی تولید و کاربرد موفقیت آمیز آن‌ها در مقیاس وسیع متمرکز شد. موارد مختلفی وجود دارد که باید به آنها پرداخته شود که از جمله آن‌ها می‌توان به هزینه تولید، کیفیت مایه تلقیح اولیه و کارآیی مزرعه‌ای سویه مورد نظر اشاره کرد (Glare & Moran-Diez, 2016). برای توسعه آفت‌کش‌های میکروبی و قبل از تجاری سازی، جداسازی و شناسایی میکروارگانیسم‌های مفید، آزمون‌های غربالگری در آزمایشگاه، تکثیر و تولید، فرمولاسیون و ارزیابی‌های مزرعه‌ای باید انجام شود. علاوه بر این، مکانیسم اثر، پاسخ به شرایط اکولوژی، دوام در طبیعت و ملاحظات ایمنی نیز باید مدنظر قرارگیرد. برای توسعه و تجاری سازی یک آفت‌کش میکروبی در ابتدا یک سویه مؤثر مورد نیاز است. کمتر از یک درصد جدایه‌های به دست آمده در نهایت به محصولات تجاری ختم می‌شوند (Bailey & Falk, 2011). در همه فرآیندهای تکثیر، به یک کشت اولیه خالص و پایدار (stable stock culture) نیاز است تا جمعیتِ تکثیر شده با همان کیفیت سویه اصلی به وجود آید. قبل از تولید انبوه عوامل میکروبی بیوکنترل، حفظ و فعال‌سازی مجدد سویه بیوکنترل برای فراهم کردن ثبات ژنتیکی (genetic stability) ضروری است. همچنین، پس از جداسازی سویه‌های میکروبی از طبیعت و شناسایی آن‌ها به‌عنوان عوامل بیوکنترل، نگهداری طولانی مدت آن‌ها باید مدنظر قرار گیرد. برای رسیدن به این هدف، روش مناسب نگهداری ارگانیسم فعال (bioactive organism) باید اعمال گردد تا میزان زنده‌مانی آن (shelf life) افزایش یابد.

دومین مرحله پس از جداسازی و شناسایی یک جدایه بیوکنترل مؤثر، تکثیر انبوه آن در بسترهای مناسب است. هدف اصلی در تکثیر انبوه یا صنعتی (fermentation or mass production)، به حداقل رساندن هزینه تولید با حصول حداکثر کمیت و کیفیت زیست‌توده میکروبی (microbial biomass) است. در ابتدا یک مایه تلقیح اولیه (starting inoculum) از کشت خالص میکروارگانیسم، که معمولاً در گلیسرول ۸۰- درجه سلسیوس و یا به شکل سلول‌های خشک انجمادی نگهداری می‌شوند، در فلاسک‌های آزمایشگاهی تهیه می‌شود. سپس فرآیند تکثیر در مقیاس‌های بزرگتر و به دو صورت مایع و جامد یا نیمه جامد انجام می‌شود. انتخاب روش تکثیر به بیولوژی عامل بیوکنترل و میزان سرمایه و تکنولوژی موجود بستگی دارد. فرمانتاسیون مایع (liquid or submerged fermentation) یکی از روش‌های تکثیر باکتری‌ها، قارچ‌ها و نماتودها می باشد. این روش نسبتاً کم هزینه بوده و می تواند در مقیاس‌های بزرگتر صنعتی (scale-up) انجام شود. این فرآیند به یک اینوکولوم پایدار و رصد پارامترهایی نظیر دما، pH، اکسیژن محلول (DO)، مواد غذایی و جمعیت پروپاگول‌ها برای تضمین کیفیت محصول نهایی نیازمند است (Fulekar, 2010). همچنین، می‌توان زیست‌توده میکروبی را از بقیه مواد جدا کرده و نسبت به تغلیظ آن اقدام کرد. در این روش تکثیر، معمولاً از محیط‌های غذایی ارزان قیمت مانند ملاس و یا مخمر به عنوان بستر کشت استفاده می‌شود. در فرمانتاسیون جامد (solid-state fermentation=SSF) متغیرهایی نظیر دما، pH و اکسیژن در مقایسه با فرمانتاسیون مایع به‌طور کامل قابل کنترل نیستند. بنابراین فرمانتاسیون جامد برای تولید صنعتی و در مقیاس‌های خیلی بزرگ، روش مناسبی نخواهد بود. هر چند پیشرفت‌های خوبی در زمینه مهندسی تولید برای کنترل متغیرها صورت گرفته است. همچنین، در این روش به فضای بیشتری برای تولید، خشک کردن و آسیاب کردن نیاز است. اما به هرحال برای مقیاس‌های کوچک دارای فوایدی است و در واقع این روش، بهترین شیوه برای تولید انبوه اسپور قارچ‌های بیوکنترل بوده و احتمال آلودگی‌های باکتریایی و مخمری به دلیل نبود آب کاهش می‌یابد (Holker *et al.*, 2004). همچنین این روش ارزان بوده و پایداری فرآورده در مقایسه با روش فرمانتاسیون مایع بیشتر است. کیفیت اسپورهای تولید شده در روش فرمانتاسیون جامد بالاتر بوده

و مقاومت و پایداری آن‌ها در شرایط نامساعد (خشکی، اشعه ماورای بنفش و غیره) بیشتر است. برای مثال، اسپورهای تولید شده *Trichoderma harzianum* کوچکتر ولی با دیواره ضخیم‌تر بوده و مقاومت بالایی در برابر اشعه ماورای بنفش دارند (Holker *et al.*, 2004). در این روش اصولاً از کیسه‌های پلاستیکی حاوی سبوس گندم یا برنج و یا پسماندهای کشاورزی (مانند کاه و کُلش، باگاس نیشکر و خاک اره) به همراه افزودنی‌های دیگر استفاده می‌شود. یک روش دیگر برای تکثیر میکروارگانیسم‌ها (بیشتر برای قارچ‌های بیوکنترل)، سیستم دو مرحله‌ای یا دو فازی (two phased system) است. در این روش، زیست‌توده میکروبی در محیط مایع تکثیر و تولید می‌شود و سپس کنیدی‌زایی در فاز جامد رخ می‌دهد.

عوامل محیطی مؤثر بر کارایی آفت‌کش‌های میکروبی

از جمله عوامل طبیعی که بر کارایی آفت‌کش‌های میکروبی اثرات منفی دارند، می‌توان به اشعه فرابنفش خورشید (ultraviolet=UV)، دما، رطوبت، باد و بارندگی اشاره کرد. از همه مهم‌تر اشعه فرا بنفش خورشید کارایی آفت‌کش میکروبی در مزرعه را کاهش می‌دهد و بارندگی می‌تواند باعث شسته شدن آفت‌کش میکروبی از روی شاخ و برگ گیاهان شود (Griego & Spence, 1978; Cote *et al.*, 2001). در سال ۱۸۷۷ دو محقق انگلیسی به نام‌های دانز و بلونت دریافتند که تکثیر میکروارگانیسم‌ها زمانی که تحت تابش نور آفتاب قرار می‌گیرند، متوقف می‌گردد (Downes & Blunt, 1877). اشعه فرابنفش خورشید میکروارگانیسم‌ها را غیر فعال می‌نماید و باعث واکنش فتوشیمیایی می‌شوند. اشعه مذکور مواد مولکولی ضروری برای میکروارگانیسم‌ها را تغییر می‌دهد و چون در دیواره سلولی آن‌ها نفوذ می‌کند، اسیدهای نوکلئیک و دیگر مواد حیاتی سلول‌ها را تحت تأثیر قرارداده و آن‌ها را نابود می‌سازد.

علاوه بر اشعه فرابنفش، فاکتورهای محیطی دیگر شامل رقابت میکروبی، شرایط فیزیکی و شیمیایی محیط (به ویژه خاک) مانند pH، دما و رطوبت مانع بازدهی و کارایی بهتر انواع فرمولاسیون آفت‌کش‌های میکروبی و تأثیر مثبت آن روی آفات محصولات کشاورزی می شوند، بنابراین برای غلبه بر چنین ناسازگاری‌های محیطی می توان از فرمولاسیون‌هایی استفاده کرد که سبب افزایش پایداری عامل میکروبی در محیط شده و باعث کاهش مصرف و دفعات محلول‌پاشی و افزایش کارایی شود، که راهگشای کنترل زیستی با استفاده از آفت‌کش‌های میکروبی در کشور است.

فرمولاسیون

فرموله کردن آفت‌کش‌ها در عمل بدین معناست که مقدار کمی ماده مؤثره باید در سطح زیادی از محیط پراکنده شود و کلمه فرمولاسیون از نظر تجاری به آخرین مرحله آماده سازی آفت‌کش در صنعت اطلاق می‌گردد که شامل مراحل مصرف، مانند رقیق کردن آفت‌کش به‌وسیله آب نمی‌شود. در واقع فرمولاسیون به مجموعه عملیاتی گفته می‌شود که روی ماده مؤثره انجام می‌دهند تا خواص آفت‌کشی را از نظر انبار داری، حمل و نقل، کاربرد، مؤثر بودن، نفوذ، پایداری و نیز بهداشت بهبود بخشند (Dubey *et al.*, 2009). به‌عبارت دیگر فرمولاسیون یک آفت‌کش به حالت یا اشکال مختلف آن آفت‌کش اطلاق می‌گردد. فرمولاسیون مشخص می‌کند که یک آفت‌کش چگونه باید به کار برده شود (Satinder *et al.*, 2005). فرمولاسیون باعث افزایش پایداری و بازدهی آفت‌کش و استفاده آسان‌تر آن می‌شود. فرمولاسیون می‌تواند اثر خود را در دراز مدت اعمال کند. فرمولاسیون مناسب باید به گونه‌ای باشد که شرایط نگهداری و اثربخشی آفت‌کش را روی آفت بهبود بخشد. همچنین آفت‌کش از نظر تجاری قابل عرضه در بازار باشد. بعضی از مواد افزودنی که می‌تواند کاربرد بهتری را ایجاد نمایند می‌توانند قبل از مصرف به مخزن سمپاش اضافه شوند. بررسی فرمولاسیون‌ها فقط به لحاظ علمی مهم نبوده بلکه موارد دیگری مانند پوشش مناسب بر روی سطح گیاه، قیمت مناسب تجاری، کم خطر بودن برای مصرف‌کننده، نگهداری آسان در انبار، راحتی مصرف و امکان استفاده با سمپاش‌های مختلف نیز باید مورد توجه قرار گیرد. یک آفت‌کش میکروبی فرموله شده به

معنای محصولی متشکل از توده زنده میکروبی و موادی است که دوام و تأثیر محصول را بهبود می‌بخشند. امکان استفاده از یک آفت‌کش میکروبی در مزرعه با نوع فرمولاسیون، ماندگاری و تکنولوژی کاربرد آن تعیین می‌شود (Boyette *et al.*, 1991; Lewis, 1991; Lumsden *et al.*, 1995).

افزودنی‌ها یا اَدجوانت‌ها (adjuvants)، عمل‌آوری و استفاده آسان محصول را تضمین می‌کنند. برای مثال، در سوسپانسیون‌ها، قوام‌دهنده‌ها یا غلیظ‌کننده‌ها (thickeners) و معلق‌کننده‌ها (suspenders) پس از وارد کردن ارگانیسم به داخل حامل باعث حفاظت محصول شده و مانع از چسبندگی ذرات بهم و کپه‌ای شدن آن گشته و حتی پس از انبارداری طولانی مدت، سوسپانسیون مجدد (resuspension) به راحتی ایجاد می شود. گرد (dust) و پودرهای قابل تعلیق در آب (wettable powder) حاوی موادی هستند که از حالت کیکی شدن (caking) جلوگیری می‌کنند. استفاده مؤثر و اقتصادی از فرمولاسیون بستگی به این دارد که ماده مؤثره به نحو مطلوبی به هدف مورد نظر برسد. هرچند هم که یک محصول عالی باشد اما اگر نتواند به هدف برسد نمی تواند اثر خود را نشان دهد. داده‌های قابل دسترس در زمینه فرمولاسیون آفت‌کش‌ها به‌دلیل مسائل حق ثبت اختراع (patent) و موارد محرمانه در صنعت محدود می‌باشد. آفت‌کش‌های میکروبی اغلب با چالش ناپایداری همراه هستند که با یک فرمولاسیون مناسب می‌توان بر این چالش فائق آمد. فهم این مسئله که اجزای فرمولاسیون با یکدیگر و از آن مهم‌تر با عامل زنده چه واکنشی نشان می‌دهند بسیار حیاتی است (Zhang *et al.*, 2003). نوع و ترکیب فرمولاسیون‌ها به خود ارگانیسم فعال و محیطی که قرار است در آنجا به کار رود بستگی دارد. به همین دلیل دانش مربوط به برهمکنش گیاه-آفت-عامل بیوکنترل برای موفقیت یک آفت‌کش میکروبی در مزرعه بسیار حیاتی است. برای تهیه یک فرمولاسیون مناسب از یک عامل بیوکنترل میکروبی به متخصصینی از علوم مختلف شامل گیاه‌پزشکی، اکولوژی، فیزیولوژی میکروبی و شیمی نیاز است (Hynes & Boyetchko, 2006).

فرمولاسیون دانش ایجاد یک فرآورده نهایی از طریق مخلوط کردن عامل فعال میکروبی با مواد حامل (carriers) و اَدجوانت‌ها است. ماده حامل اغلب یک ماده خنثی (مانند تالک، پیت، لیگنیت، کائولینیت و خاک دیاتومه) است که برای کاربرد راحت ماده زنده به کار می‌رود. اَدجوانت‌ها هم باعث حفظ یا افزایش فعالیت عامل زنده از طریق محافظت از UV، جلوگیری از شسته شدن، حفظ رطوبت و بهبود پخش عامل فعال می شود می‌شوند.

فرمولاسیون‌های عوامل میکروبی به دو صورت مایع و جامد انجام می‌شود. فرمولاسیون مایع که به آن روان‌ریز یا سوسپانسیون آبکی هم می‌گویند به‌صورت سوسپانسیون اسپورهای قارچ و یا باکتری بر پایه آب، روغن‌ها، پلیمرها و یا ترکیبی از آنها تهیه می‌شوند (Schisler *et al.*, 2004) و به آن‌ها موادی نظیر تثبیت‌کننده‌ها (stabilizers)، چسباننده‌ها (stickers) و سورفاکتانت‌ها (surfactants) برای تثبیت موجود زنده و نیز برای راحتی کاربرد آفت‌کش اضافه می‌شود. فرمولاسیون‌های جامد شامل پودر خیس‌شونده (wettable powder)، گرانول و گَرد (dust) است. پودر خیس‌شونده در نهایت به صورت سوسپانسیون به کار می‌رود اما گَرد معمولاً به شکل خشک به بذور یا شاخ و برگ اضافه می‌شود. اما گرانول، هم به صورت مستقیم در خاک و هم به صورت محلولپاشی به کار می‌رود. به فرمولاسیون‌های خشک مواد پُرکننده یا حجم‌دهنده (bulking agent or filler)، پخش‌کننده‌ها (dispersants)، چسباننده‌ها (stickers)، مواد محافظ اشعه ماورای بنفش (UV protectants)، رطوبت‌دهنده‌ها (humectants or anti desiccants) و خیس‌کننده‌ها (wetting agents) اضافه می‌شود (Burges 1998). مواد همراه دیگری نظیر خاک رس (clay)، کائولین (kaoline)، پیت (peat)، گلیسرول (glycerol)، کیتین (chitin)، کیتوزان (chitosan)، انواع روغن، شکر زرد (jaggery)، صمغ عربی و ورمیکولیت (vermiculite) معمولاً برای افزایش طول انبارداری و نیز اثربخشی فرآورده نهایی مورد استفاده قرار می‌گیرند. اخیراً برای کاهش اثرات مخرب و منفی نیروی بُرشی (shear force) سمپاش‌ها بر عوامل بیوکنترل موجود در

فرمولاسیون‌های مایع امولسیونی، از موادی نظیر ژلاتین و نشاسته استفاده می‌شود (Hynes & Boyetchko, 2006). فرمولاسیون‌های جامد معمولاً بر فرمولاسیون‌های مایع ارجح هستند چون ماندگاری بیشتری داشته و به راحتی حمل و یا انبار می‌شوند. علاوه بر این، اکثر فرمولاسیون‌های پودری می‌توانند در صورت نیاز به محلولپاشی و یا آغشته کردن ریشه و خاک، به صورت سوسپانسیون‌های مایع درآیند (Lumsden *et al.*, 1995). یکی از فوائد فرمولاسیون‌های جامد، سهولت کاربرد و ماندگاری بالا با حفظ قدرت حیاتی عامل زنده است.

فرمولاسیون آفت‌کش‌های میکروبی

جهت استفاده اقتصادی از عوامل میکروبی تهیه فرمولاسیون مناسب دارای اهمیت به‌سزایی است. فرمولاسیونی که قادر باشد دوام، کارایی و مقاومت در برابر شرایط محیطی را تأمین نماید در بازار مقبولیت بیشتری خواهد داشت (Andrew *et al.*, 1995). فرمولاسیون آفت‌کش‌های میکروبی، پل اتصال‌دهنده تولید آفت‌کش و کاربرد آن بوده و تعیین‌کننده اقتصاد تولید، انبارداری طولانی مدت، آسانی کاربرد آن و بهبود کارایی در مزرعه است (Satinder *et al.*, 2006). تهیه یک فرمولاسیون مؤثر با حداکثر توان و گسترش آن به صورت یک محصول تجاری، با جداسازی میکروارگانیسم مؤثر شروع شده، با به کار بردن روش‌های تولید انبوه که کمیت وکیفیت آن را بالا می‌برد، پیش رفته و با ساخت فرمولاسیونی مناسب، با ماندگاری طولانی وکاربرد آسان که تأثیر عامل کنترل میکروبی را افزایش می دهد، پایان می یابد. اگر در انتخاب میکروارگانیسم به‌عنوان عامل کنترل میکروبی و همچنین سهولت تولید انبوه آن توجه شود، احتمال موفقیت در تولید تجاری آن افزایش می‌یابد. رویه‌هایی که در تولید انبوه اکثر آفت‌کش‌های میکروبی به کار می‌روند باید به گونه‌ای باشند که مقدار توده زنده را افزایش دهند بدون این که در میزان تأثیر یا تثبیت آن در فرمولاسیون کاهشی ایجاد شود (Schisler *et al.*, 2004). در برخی از عوامل کنترل میکروبی مانند Bt که عامل کشنده حشره آفت کریستال‌های پروتئینی است، ضروری است به میزان تولید کریستال‌های پروتئینی توجه شود و میزان اسپور نمی‌تواند به تنهایی مقیاسی برای موفقیت در تولید انبوه عامل کنترل میکروبی (Bt) باشد. بنابراین، فرموله کردن یک آفت‌کش میکروبی تنها یک حلقه از زنجیره فرایندی تولید آفت‌کش است. دیگرحلقه‌های این زنجیره شامل کشف عامل، تولید و تثبیت، و همچنین ملاحظاتی درمورد هزینه‌های آن می‌باشند. تصمیم‌های اتخاذ شده در هر یک از این مراحل، تأثیر مثبت یا منفی بر موفقیت در دیگر مراحل دارد.

برخی از ارگانیسم‌های مفید می‌توانند اثرات خیلی مؤثری در آزمایشگاه نشان دهند درحالی که پس از عرضه در بازار در شرایط مزرعه‌ای مؤثر نبوده‌اند. دلیل کلی این امر، عدم پایداری این محصولات در طی انبارداری تا مصرف می‌باشد. مواد فعال این گونه محصولات کم بوده و به سرعت در محیط تنزل پیدا می‌کنند. فرمولاسیون یک نقش حیاتی در رفع این مشکل داشته و می‌تواند راه حل مناسب برای مؤثر بودن این گونه عوامل باشد. به هرحال تهیه این گونه مواد باید به‌گونه‌ای باشد که محصول نهایی از نظر تجاری به صرفه باشد. نتایج تحقیقات نشان داده است که فرمولاسیون می‌تواند کارایی عوامل کنترل میکروبی را در مزرعه ارتقاء دهد (Behle, 2003). امروزه مشخص شده است که جدایه‌های بومی عوامل میکروبی کارایی و سازگاری بهتری با میزبان خود دارند. یکی از موارد خیلی مهم در فرمولاسیون که بایستی به آن توجه شود روابط میان میکروارگانیسم‌ها، محیط و نحوه عملکرد آن‌ها است. برخی از ارگانیسم‌ها مانند باکتری‌ها و ویروس‌های بیمارگر آفات باید خورده شوند تا اثربخشی داشته باشند. برخی مانند قارچ‌های بیوکنترل می‌توانند بیماری‌های گیاهی و علف‌های هرز را کنترل کنند. درخصوص نماتدهای پاتوژن حشرات، آن‌ها بایستی قابلیت جستجوی آفت را داشته باشند. بنابراین یک متخصص فرمولاسیون باید محصولی بسازد که بتواند آفت را نسبت به تغذیه این ارگانیسم‌ها وادار نماید یا بتواند شرایط برخورد با آفت را افزایش دهد و همچنین قدرت جستجوی ارگانیسم‌ها به گونه‌ای باشد که در برخورد محیط جدید امکان استقرار داشته باشند. همچنین موارد دیگری

مانند نوع محصول (گیاه)، آفات هدف و نحوه مصرف باید مورد توجه قرار گیرد. متفاوت بودن مراحل زندگی و میزان سمیت ارگانیسم‌ها روی هر مرحله می‌تواند آن‌ها را از یکدیگر متمایز نماید. به همین دلیل ساخت فرمولاسیون‌ها نسبت به سموم شیمیایی سخت‌تر به نظر می‌رسد. مواد فعال که معمولاً یک ارگانیسم زنده است باید در شرایط مناسب نگهداری شود تا نتیجه دلخواه را داشته باشد، همچنین باید از آسیب‌های شیمیایی یا فیزیکی در زمان فرمولاسیون حفظ شوند. از آنجایی که این ارگانیسم‌ها دوستدار طبیعت هستند موادی که در طی فرمولاسیون به آنها اضافه می‌شود نیز باید به گونه‌ای باشد که این ویژگی را حفظ نماید.

امروزه سعی می‌شود با استفاده از مهندسی ژنتیک، اثربخشی، دوام و میزان پخش شدن ارگانیسم‌ها (ماده فعال) افزایش یابد. چرا که ضعف هرکدام از این موارد نتیجه نهایی کاربرد این ارگانیسم‌ها را به شدت کاهش می‌دهد. علی‌رغم آن که اثربخشی فرمولاسیون ضامن موفقیت عملی و تجاری محصول میکروبی است اما اطلاعات منتشر شده در این خصوص بسیار کم می‌باشد که شاید بخشی از آن به‌دلیل ملاحظات تجاری باشد. مطالعه فرمولاسیون میکروارگانیسم‌ها در سال‌های گذشته از روند سریعی برخوردار نبوده است. بررسی فرمولاسیون آفت‌کش‌های میکروبی توسط موست و کوینلان (Most & Quinlan, 1986) و رودس (Rhodes, 1993) و مطالعات بیشتر هم توسط برجس (Burges, 1998) انجام شده است. این بررسی‌ها بیشتر اصول کلی بوده و هیچ اطلاعات اضافه‌ای در خصوص نحوه فرمولاسیون، مواد افزودنی در بر نداشته است. بیشتر بررسی‌های انجام شده اطلاعات محدودی از روش‌ها و مواد فعال تشکیل دهنده فرمولاسیون در بر دارند. اگرچه میزان اطلاعات علمی و فنی در زمینه فرمولاسیون آفت‌کش‌های میکروبی اندک است اما تکنولوژی‌هایی در دسترس می‌باشد که گزینه‌های مطلوبی را ارائه می‌کند. برای مثال، عوامل میکروبی که اسپور تولید نمی‌کنند به دمای بالا و خشکی حساس بوده و اصولاً برای تولید و تجاری سازی مناسب نیستند. اما فرمولاسیون جدیدی از یک باکتری بدون اسپور به نام *Serratia entomophila* بر پایه زئولیت (Zeolite) و پلیمرهای زیستی ساخته شده (با نام تجاری BioShield®) که عمر انبارداری آن در دمای معمولی به شش ماه می‌رسد (Swaminathan & Jackson, 2011). همچنین، فرمولاسیون‌های حاوی روغن باعث افزایش چسبندگی اسپور قارچ‌ها شده و برای مثال در فرمولاسیونی از *Metarhizium acridium* برای کنترل ملخ‌ها به کار رفته است (Hunter, 2010). فرمولاسیون می‌تواند باعث ارتقای کاربرد آفت‌کش‌های میکروبی شود. برای مثال، فرمولاسیون گرانول با آزادسازی آهسته (slow release granule) از *B. thuringiensis israelensis* برای کنترل پشه‌ها در آب مورد استفاده قرار گرفته است، یا پیشرفت‌هایی در تکنولوژی محلولپاشی مانند بهینه‌سازی اندازه قطرات به‌منظور پوشش کامل عامل زنده روی شاخ و برگ گیاهان به کار گرفته شده است (Peng & Wolf, 2011).

تجزیه طبیعی میکروارگانیسم‌ها در محیط و کاهش جمعیت آن‌ها، مشکلات و دغدغه‌های مربوط به باقیمانده آفت‌کش و اثر روی موجودات غیر هدف را رفع می‌کند. از طرف دیگر دوام و بقای عامل میکروبی از حیث کنترل آفت مورد نظر بسیار مهم است. دوام تا ۱۴ روز روی شاخ و برگ تا حدودی واقعی و طبیعی است. دوام تا ۲۱ روز (که برخی فرمولاسیون‌های جدید به آن رسیده‌اند) فوق‌العاده بوده و باید هدف اصلی فرمولاسیون‌های آینده باشد. این نوع فرمولاسیون‌ها برای قارچ‌هایی که روی اندام‌های هوایی محلولپاشی می‌شوند، ارائه شده است (Köhl *et al*., 1998). تحقیقات اکولوژیکی نشان داده است که عوامل کنترل میکروبی در محیط فراریشه گیاهان سازگار هستند. بنابراین، تکنولوژی‌های فرمولاسیون در آینده باید به نحوی باشد که این سازگاری را افزایش دهد. یکی از روش‌های مطلوب برای کاربرد هدفمند به منظور استقرار عامل زنده در ریزوسفر، پوشش‌دهی بذور (seed coating) با آفت‌کش‌های میکروبی است. موفقیت در این روش، مواد پوشش‌دهنده مناسب با کارایی بالا و تکنولوژی دقیق را می‌طلبد. روش کاربرد آفت‌کش‌های میکروبی بی‌شک به فرآیند فرمولاسیون گره خورده است. زیرا روش استفاده از

یک آفت‌کش میکروبی نوع فرمولاسیون را تعیین می‌کند و برعکس. در اغلب موارد، سیستم کاربرد مشابه آفت‌کش‌های شیمیایی بوده و تجهیزات مشابهی نیز می‌تواند در این زمینه مورد استفاده قرار گیرد. آفت‌کش‌های میکروبی به‌صورت محلولپاشی (spray)، خیساندن خاک (drench)، غوطه‌ور کردن ریشه نشاها (root dip)، تیمار و یا پوشاندن بذر (seed coating)، تیمار غده، مخلوط کردن با خاک یا بستر کشت (soil incorporation)، تزریق، تیمار زخم‌های ناشی از هرس، کاربرد مستقیم در ردیف‌های کشت، همراه آب آبیاری و غیره به کار می‌روند.

در فرمولاسیون نماتودهای پاتوژن حشرات (*Steinernema* و *Heterorhabditis*) باید نیازهای آنها مانند رطوبت بالا و هوادهی کافی را مدنظر قرار داد. از طرف دیگر، یکی از مشکلات فرمولاسیون نماتودها، آلودگی توسط میکروارگانیسم‌های قارچی و باکتریایی است که نیاز بالای رطوبتی نماتودها باعث رشد و تکثیر میکروب‌های ناخواسته شده که به نوبه خود باعث مصرف اکسیژن، تولید آمونیاک، دی اکسید کربن و سولفید هیدروژن و تغییر pH شده و حتی ممکن است متابولیت‌های سمّی تولید نمایند. بنابراین موادی مانند نشاسته، شکر و پودر شیر به دلیل مطلوب بودن برای رشد میکروارگانیسم‌ها، نمی‌توانند برای فرمولاسیون نماتودها استفاده شوند. ، نماتودها قبل از فرمولاسیون شسته می‌شوند تا بقایای مواد آلی از بدنشان حذف شود. حتی نماتودهای مرده هم می‌تواند منبع غذایی برای میکروارگانیسم‌ها باشد. استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در فرمولاسیون ممکن است باعث مهار آلودگی‌ها شود اما در عین حال می‌تواند روی خود تماتودها و باکتری‌های همزیست اثر منفی بگذارد. همچنین استفاده از آنتی‌بیوتیک‌ها در کشاورزی ارگانیک منع شده است. رایج‌ترین نوع فرمولاسیون برای نماتودها، پودرهای پخش شونده مرطوب (moist dispersible powder) به همراه سیلیس به عنوان یک ماده همراه می‌باشد. همچنین، از اسفنج و ژل‌های جاذب رطوبت (از جنس پلی‌اکریلات و پلی‌اکریلامید) برای این منظور استفاده می‌شود. روش دیگر فرمولاسیون نماتودها، محصور کردن آن‌ها در دانه‌های آلجینات است. در ادامه رایج‌ترین و کاربردی‌ترین فرمولاسیون آفتکش‌های میکروبی مورد بحث قرار می‌گیرد.

امولسیون (emulsion)

فرمولاسیون متشکل از روغن در آب، از فرمولاسیون‌هایی است که برای عوامل بیوکنترل میکروبی به کار می‌رود. از نمونه‌های این نوع فرمولاسیون می‌توان به امولسیون تهیه شده برای سویه *Trichoderma harzianum* Th2 حاوی روغن نارگیل، روغن سویا، گلیسیرین، موم محلول درآب و توین اشاره کرد (Batta, 2004).

سوسپانسیون غلیظ (SC)

این فرمولاسیون مخلوطی از ذرات ریز عامل فعال معلق در فاز مایع که معمولاً آب است می‌باشد. ذرات جامد در فاز مایع حل نمی‌شوند. بنابراین این فرمولاسیون قبل از کاربرد بایستی به خوبی همزده شود تا ذرات در فاز مایع پراکنده شوند. ترکیب فرمولاسیون سوسپانسیون غلیظ پیچیده است و شامل عوامل خیس‌شونده، معلق‌کننده، چسباننده، ضدکف و غیره است. این فرمولاسیون معمولاً در یک فرآیند آسیاب تولید می‌شود و اندازه ذرات آن حدود ۱۰-۱ میکرومتر است. در طول فرآیند آسیاب مواد همراه فرمولاسیون جذب سطح ذرات می‌شوند تا مانع چسبندگی مجدد ذرات بهم شوند. این ذرات ریز به خاطر سطح زیادی که دارند می‌توانند تمام بافت گیاه را پوشش دهند که اغلب سبب افزایش کارایی می‌شوند. این فرمولاسیون چون بر پایه آب است مزایایی مانند کاربرد راحت در مزرعه مثل اندازه-گیری راحت‌تر مقدار مصرف، ایمنی برای محیط زیست و کاربران را شامل می‌شود و این که فرمولاسیون‌های اقتصادی بوده و مورد دلخواه کاربران است (Woods, 2003). از مثال‌های این نوع فرمولاسیون که در داخل کشور تولید می‌شود می توان به فرآورده بایولپ حاوی Btk (شرکت فناوری زیستی طبیعت گرا) اشاره کرد.

پودر وتابل (WP)

در فرمولاسیون حشره‌کش‌های بیولوژیک پودر وتابل به عنوان متداول‌ترین روش‌های فرمولاسیون مورد استفاده قرار می‌گیرد. فرمولاسیون پودر وتابل، پودر خشکی است که پس از تعلیق در آب به کار گرفته می‌شود. پودر وتابل ترکیبی از عامل بیولوژیک یا ماده فعال با سورفکتانت، مواد خیس‌کننده، تعلیق کننده و مواد پرکننده است که پس از آسیاب کردن با ذرات حدود پنج میکرومتر آماده می‌شود. این فرمولاسیون در صورتی که اقدامات احتیاطی جدی گرفته نشود، می‌تواند مشکلات تنفسی، سوزش چشم و پوست برای کارگران تولیدکننده ایجاد کند. به این دلایل پودر وتابل معمولاً با فرمولاسیون‌های سوسپانسیون غلیظ و گرانول وتابل جایگزین می‌شود که این فرمولاسیون‌ها، فرمولاسیون‌های معمول در آفت‌کش هستند (Knowles, 2005). در میان فرمولاسیون‌های جامد آفت‌کش‌های زیستی، توجه زیادی به پودرهای وتابل شده که علت آن پایداری در زمان ذخیره‌سازی و انبار، تعلیق در آب و استفاده از تجهیزات معمول آفت‌کش‌ها در زمان استفاده است (Brar, 2006). برای مثال، قارچکش بیولوژیک معروف Trianum-P (حاوی سویه قارچی *T. harzianum* T-22) محصول شرکت Koppert هلند، به صورت فرمولاسیون پودر وتابل عرضه می‌شود. در ایران، پس از فرمانتاسیون جامد سویه‌های آنتاگونیست بومی تریکودرما از دو گونه *T. harzianum* و *T. virens* روی بذور سورگوم جارویی، بستر کلونیزه شده ابتدا با آسیاب به صورت پودر درآمده و سپس فرمولاسیونی بر پایه پودر تالک و کربوکسی متیل سلولز (CMC) تهیه شد. جمعیت قارچ در این فرمولاسیون، بیش از ۱×۱۰^{۱۰} واحد پرگنه‌ساز در هر گرم (CFUs/g) گزارش شد (Naeimi *et al.*, 2019).

گرانول قابل تعلیق در آب (WG)

فرمولاسیون گرانول وتابل جهت غلبه بر مشکلات گرد و غبار فرمولاسیون پودری طراحی و توسعه یافته است. گرانول وتابل جهت تعلیق در آب ساخته شده است. گرانول‌ها در آب شکسته شده و سوسپانسیون یکنواختی شبیه فرمولاسیون پودر وتابل ایجاد می‌کنند. این فرمولاسیون فاقد گرد و غبار بوده و پایداری خوبی در شرایط انبار دارند. فرمولاسیون گرانول وتابل را می‌توان با استفاده از تکنیک‌های مختلفی مانند گرانوله کردن به وسیله اکستروژن، گرانول‌های با بستر سیال، خشک کردن و غیره فرموله کرد. این فرمولاسیون مانند فرمولاسیون پودر وتابل حاوی مواد خیس‌شونده و مواد تعلیق کننده است با این تفاوت که در این فرمولاسیون مواد تعلیق‌کننده با غلظت بیشتری استفاده می‌شود. این فرمولاسیون در مقایسه با فرمولاسیون‌های قدیمی تر مانند گرد و پودر وتابل گران‌تر است اما به خاطر ایمنی و راحتی بیشتر کاربرد هنوز هم مطلوب کاربران است (Knowles, 2005). برای مثال، فرمولاسیون گرانول برای آنتاگونیست معروف *T. harzianum* T-22 با نام تجاری Trianum-G و نیز برای سویه‌ای از قارچ پارازیت سختینه *Coniothyrium minitans* تحت نام تجاری CONTANS® تهیه و به بازار عرضه شده است.

فرمولاسیون‌های پوششی (coating)

روش‌های متعددی برای تهیه فرمولاسیون‌های پوششی یا ماتریکس‌های مونولیتیک (monolithic matrices) نظیر پِلِت کردن (pelletization)، ساخت گرانول (granulation) و پوشش فیلم (film coating) وجود دارد. برخی از این نوع فرمولاسیون‌ها نیاز به یک بذر یا هسته مرکزی دارند تا لایه‌های مورد نظر روی آن قرار گیرند. یک فرمولاسیون پلت از باکتری بیوکنترل *B. megaterium* با استفاده از سلولز، لاکتوز، کربوکسی متیل سلولز برای کنترل سوختگی غلاف برنج تهیه شد (Wiwattanapatapee *et al.*, 2004).

میکروکپسول (MC)

فرمولاسیون میکروکپسول قابل تعلیق یک سوسپانسیون پایدار از ذرات میکروکپسول در یک فاز پیوسته است که در زمان استفاده با آب رقیق‌شده و به‌کار می‌رود. عامل فعال فرمولاسیون که یک عامل بیولوژیک یا میکروبی است، در پوششی از پلیمرهای طبیعی مانند ژلاتین، نشاسته یا سلولز

محصور می‌شود. در این فرمولاسیون عامل میکروبی به‌عنوان عامل فعال از عوامل مضر محیطی مانند اشعه فرابنفش، باران، دما و غیره محافظت می‌شود. توسعه این نوع فرمولاسیون به خاطر گران بودن و پیچیدگی خیلی آرام و کند است (Chen, 2013). در بین فرمولاسیون‌های ذکر شده، فرمولاسیون میکروکپسول، فرمولاسیون برتر است زیرا فرمولاسیون میکروکپسول باعث عمر طولانی‌تر آفت‌کش میکروبی روی آفت هدف و افزایش بازدهی آن می‌شود به‌طوری‌که برای یک آفت‌کش بیولوژیک، عمر این فرمولاسیون دو یا چهار برابر عمر اموسیون آن آفت‌کش است. غیرفعال شدن آفت‌کش‌های میکروبی بعد از قرارگرفتن در معرض نور خورشید در محدوده طول موج ۳۲۰-۲۸۰ نانومتر از چند دهه گذشته شناخته شده و تلاش زیادی به منظور کاهش اثر آن با استفاده از تکنیک‌های میکروکپسول و یا افزودن مواد محافظ مورد تحقیق قرار گرفته است (Arthurs *et al*., 2006; Danielle *et al*., 2011).

فرمولاسیون میکروکپسول شامل دانه‌های کروی به ابعاد ۲۰-۱۰ میکرومتر است که در آن‌ها عامل میکروبی درون پوششی قرار دارد که عموماً از پلیمرهای طبیعی مانند ژلاتین، نشاسته، آلژینات، سلولز، استات، صمغ عربی، هیدروکسی پروپیل متیل سلولز فتالات، در غلظت‌های مختلف ساخته می‌شوند که مهم‌ترین ویژگی آنها غیرسمی بودن آن‌ها است (Danielle *et al*., 2011; Dankle & Shasha, 1988). خرم‌وطن و همکاران نحوه فرموله کردن Bt به‌صورت میکروکپسول با پلیمر سدیم آلژینات، نشاسته و ژلاتین به روش اموسیون دو فازی را بررسی کردند. زیست‌سنجی فرمولاسیون میکروکپسول باکتری Bt روی لارو سن دوم *Ephestia kuehniella* نشان داد که درصد مرگ‌ومیر لاروها بعد از ۱۰ روز برای فرمولاسیون میکروکپسول اشعه‌دیده با طول موج ۴۰۰نانومتر، نسبت به اشعه‌ندیده، ۱۰٪ کاهش یافت. در حالی‌که در حالت غیر میکروکپسول در برابر طول موج مذکور، ۷۸٪ کاهش یافت. هم‌چنین بازدهی میکروکپسول با قطر ۷ تا ۲۰ میکرومتر، ۸۶٪ به‌دست آمد (Khorramvatan *et al*., 2014; Khorramvatan *et al*., 2013). گیفانی و همکاران نحوه فرموله کردن NPV را به صورت میکروکپسول با پلیمر سدیم آلژینات، نشاسته و ژلاتین به روش اموسیون دو فازی بررسی کردند (Gifani *et al*., 2016; Gifani*et al*., 2015). نقوی و همکاران پایداری فرمولاسیون‌های میکروکپسول Bt و NPV در برابر نور خورشید را بررسی کردند و نتایج حاکی از برتری فرمولاسیون‌های میکروکپسول نسبت به شاهد بود (Naghavi *et al*., 2016).

نتیجه‌گیری و بحث

روند مربوط به نوع فرمولاسیون‌های آفت‌کش‌های میکروبی احتمالاً در مسیری قدم بر می‌دارد که فرمولاسیون‌های پودر وتابل و سوسپانسیون غلیظ جای خود را کم‌کم به فرمولاسیون‌های گرانول قابل‌تعلیق واگذار خواهند کرد که عمده دلایل آن می‌تواند ایمنی بیشتر و گذر از فرمولاسیون‌های یک جزئی به چند جزئی است. علاوه بر این تعدادی از فرمولاسیون‌های با رهاسازی کنترل شده عامل فعال جهت بهینه سازی اثرات بیولوژیک خود مانند نوع جدیدی از فرمولاسیون‌های میکروسوسپانسیون و میکروکپسول پا به عرصه خواهند گذاشت (Glare *et al*., 2012). پیشرفت‌های چشمگیری برای فرمولاسیون آفت‌کش‌های میکروبی و همچنین تکنیک‌های استفاده از آنها صورت گرفته است اما کارهای زیادی نیز هنوز لازم است تا بتوان در توسعه کاربرد آفت‌کش‌های میکروبی برای کنترل آفات گیاهی به‌کار گرفته شوند. بهبود تکنیک‌های فرمولاسیون با بکارگیری تحقیقات مشترک بین شیمیدان‌های فرمولاتور و بیماری‌شناسان گیاهی و حشره-شناسان کشاورزی لازم است تا بتوان فرمولاسیون‌های آفت‌کش‌های میکروبی با کیفیت، مؤثر، ایمن و ارزان در دسترس کاربران قرار دارد (Slavica & Brankica, 2013). در گذشته، کارآیی ناکافی و متناقض، هزینه بالا و غیره، شانس موفقیت آفت‌کش‌های میکروبی را در بازار کاهش می‌داد. اما، امروزه، به لطف پیشرفت‌های فنی و نگرش نوین جامعه به غذا و محیط زیست سالم، چشم انداز روشنی را برای آن‌ها ترسیم کرده است. طی سالیان اخیر، ورود

آفت‌کش‌های میکروبی به بازار افزایش چشمگیری داشته است اما با این حال، سهم آن‌ها در بازار در مقایسه با سموم شیمیایی، هم‌چنان ناچیز است.

پیشرفت‌ها در زمینه اثربخشی، روش‌های کاربرد و افزایش ثبات آفت‌کش‌های زیستی به افزایش سهم آن‌ها در بازار کمک زیادی خواهد کرد. همچنین مقادیر حداکثر مجاز باقیمانده‌های (MRLs) پایین‌تری برقرار شده و دولتمردان از آفت‌کش‌های غیر شیمیایی حمایت ویژه‌ای خواهند کرد. هزینه بالای کشف، توسعه و ثبت سموم جدید و ظهور مقاومت در آفات نیز باعث افزایش علاقمندی به آفت‌کش‌های زیستی می‌شود. فروش آفت‌کش‌های میکروبی در دنیا در حال افزایش است. به رغم این، محدودیت‌ها و مشکلاتی برای پذیرش آن‌ها وجود دارد که می‌توان کند بودن فرآیند تأثیر، مشکلات تولید، فقدان فرمولاسیون‌های مناسب و اثرات بدنامیِ به جا مانده از عدم کارایی کافی آن‌ها در گذشته را بر شمرد. همچنین، تجاری‌سازی آفت‌کش‌های میکروبی و فرآیند رساندن آن‌ها به بازار با مشکلات متعدد قانونی و مالی همراه است. در هر حال، آفت‌کش‌های میکروبی به‌دلیل حجم بالای سرمایه گذاری، وجود محصولات با کیفیت و افزایش تقاضا، آینده درخشانی خواهند داشت. در مجموع، پیش بینی‌ها حاکی از افزایش فروش سالیانه آفت‌کش‌های میکروبی به میزان ۱۵ درصد می‌باشد. ثبت آفت‌کش‌های میکروبی در دنیا در حال افزایش است. در طی سالیان اخیر، شرکت‌های بزرگ تولیدکننده سموم شیمیایی، شرکت‌های کوچک تولید کننده آفت کش های زیستی را خریداری کرده‌اند. برای مثال، می‌توان به خرید شرکت Agraquest و Prophyta توسط Bayer، شرکت Becker Underwood توسط BASF و شرکت Pasteuria Bioscience توسط Syngenta اشاره کرد (Beer, 2012). این موارد خود نشان‌دهنده رشد بازار مصرف آفت‌کش‌های زیستی در جهان است. دلایل دیگر افزایش کاربرد آفت‌کش‌های میکروبی عبارتند از انتخاب درست سویه و فرمولاسیون‌های مؤثر و ارائه روش‌های نوین کاربرد، بهبود روش‌های تولید، تخصص میزبانی بالا، کاربرد در IPM، عدم ظهور مقاومت در میان آفات و بیمارگرها، عدم وجود باقیمانده به مانند سموم، ایمن برای کارگران، ایمن برای محیط زیست و موجودات غیر هدف، ممنوع شدن تعداد زیادی از سموم شیمیایی و کاربرد در کشاورزی ارگانیک. از طرف دیگر برخی از محدودیت‌های موجود که باعث کم شدن پذیرش آفت‌کش‌های میکروبی شده‌اند عبارتند از نبود سویه‌های بسیار مؤثر، آهسته بودن فرآیند کنترل، فقدان مراحل مناسب برای تکثیر و کاربرد، پیچیده بودن چرخه زندگی، تأثیر متغیر و عدم ثبات در کارایی، گران بودن هزینه‌های تولید، هزینه‌های بالای تحقیق و توسعه، سود نداشتن برای شرکت‌ها، مشکلات ثبت، مشکلات فرمولاسیون، مشکلات بازاریابی، انتظار کارایی مشابه سموم شیمیایی.

اگرچه اکثر پیش‌بینی‌ها نشان‌دهنده افزایش سهم آفت‌کش‌های میکروبی در بازار آفت‌کش‌ها می‌باشد، اما هنوز آن‌ها به پتانسیل اصلی خود نرسیده‌اند. آینده آفت‌کش‌های میکروبی روشن است. البته به شرطی که تحقیق و صنعت وسیع‌تر فکر کرده و با هم متحد شوند و ارتباط مؤثری با هم برقرار کنند. سرمایه‌گذاری بیشتری در زمینه تحقیق و توسعه و نیز همکاری بیشتر بین محققین، موسسات و تولیدکنندگان لازم است. درک سودمندی آفت کش‌های زیستی به‌عنوان بخشی از کشاورزی پایدار منجر به برداشتن گام‌های رو به جلو برای پذیرش گزینه آفت‌کش بیولوژیک در کشاورزی خواهد شد. باتوجه به وضعیت فعلی آفت‌کش‌های میکروبی در کشور که زمینه تولید تجاری آنها شروع شده است. همواره یکی از عوامل محدودکننده، دانش و تکنولوژی تولید است، که خصوصا در بازیافت فرآورده پس از تولید و فرمولاسیون آنها این مسئله نمایان‌تر است. امروزه دانش فرمولاسیون آفت‌کش‌های میکروبی که غیرقابل دسترس است پاشنه آشیل تولید آفت‌کش‌های بیولوژیک و میکروبی است. اگر قرار باشد به سمت ساخت فرمولاسیون آفت‌کش‌های میکروبی برویم شایسته است راه را میانبر زده و به سمت دانش روز آن که همانا فرمولاسیون میکروکپسول است حرکت کنیم. ساخت فرمولاسیون میکروکپسول جهت افزایش پایداری آفت‌کش‌های میکروبی در برابر شرایط

محیطی، بخصوص اشعه ماوراء بنفش میتواند باعث کاهش مصرف و دفعات محلول پاشی و راه‌گشای مشکلات کنترل میکروبی آفات کشاورزی باشد. با توجه به عدم وجود فرمولاسیون میکروکپسول آفت‌کش‌های میکروبی در داخل و نیاز به آن و همچنین در راستای کاهش مصرف آفت‌کش‌های شیمیائی در کشور برای ایمن سازی محیط زیست و کاهش باقیمانده سموم روی محصولات کشاورزی، مطالعه فرمولاسیون میکروکپسول آفت‌کش‌های میکروبی از اهداف مهم پژوهشی در داخل و حتی مجامع علمی بین‌المللی است.

References

Andrew M., Whitford, F. & Jordan, T. 1995. Pesticides and formulation Technology. Purdue Agriculture, 16 pp.

Arthurs, S.P., Lacey, L.A. & Behl, R.W. 2006. Evaluation of spray-dried lignin-based formulations and adjuvants as solar portectans for the granulovirus of the codling moth *Cydia pomonella* (L). Journal of Invertebrate Pathology, 93(2): 88–95.

Bailey, A., Chandler, D., Grant, W.P., Greaves, J., Prince, G. & Tatchell, M. 2010. Biopesticides: Pest Management and Regulation. CABI. 232 pp.

Bailey, K.L. & Falk, S. 2011. Turning research on microbial bioherbicides into commercial products – A *Phoma* story. Pest Technology, 5 (Special Issue 1), 73–79.

Batta, Y.A. 2004. Effect of treatment with *Trichoderma harzianum* Rifai formulated in invert emulsion on postharvest decay of apple blue mold. International Journal of Food Microbiology, 96: 281–288.

Beegle, C.C. & Yamamoto, T. 1992. Invitation paper (C.P. Alexander Fund): history of *Bacillus thuringiensis* Berliner reseach and development. Canadian Entomologist, 124: 587–616.

Beer, A. 2012. Company mergers, acquisitions and crop protection deals in 2012. Agrow Annual Review, Xi–Xiii.

Bloemberg, G.V. & Lugtenberg, B.J.J. 2001. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. Current Opinion in Plant Biology, 4: 343–350.

Bohm, H.A. & Friend, D.R. 1990. Microencapsulated insecticidal pathogens. United States Patent 4,948,586.

Brar, S.K., Verma, M., Tyagi, R.D. & Valero, J.R. 2006. Recent advances in downstream processing and formulations of *Bacillus thuringiensis* based biopesticides. Process Biochemistry, 41(2): 323–342.

Burges, H.D. 1998. Formulation of Microbial Biopesticides. Dodrecht, the Netherlands: KluwerAcademic Publisher. pp. 7–27.

Chandler, D., Bailey, A.S., Tatchell, G.M., Davidson, G., Greaves, J. & Grant, W.P. 2011. The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 366:1987–1998

Cohen, E., Joseph, T. & Wassermann-Golan, M. 2001. Photostabilization of biocontrol agents by berberine. International Journal of Pest Management, 47:63–67

Cote Vincent, C., Son, K.H. & Bok, S.H. 2001. Persistance of insecticidal activity of novel bio encapsulated formulations of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* against *Choristoneura rosaceana*. Phytoprotection, 82(2): 73–82.

Danielle, M.T., Kyle, S., Wayneb, B.H. & Black, B. 2011. Delivery system using sodium alginate virus loaded pellets to red imported fire ants (*Solenopsisinvicta*, Hymenoptera: formicidae). Journal of Florida Entomologist, 94(2): 237.

Downes, A. & Blunt, T.P. 1877. The influence of light upon the development of bacteria. Nature, 216:218.

Dubey, S.C., Bhavani, R. & Singh, B. 2009. Development of Pusa 5SD for seed dressing and PusaBiopellet 10G for soil application formulations of *Trichoderma harzianum* and their evaluation for integrated management of dry root rot of mung bean (*Vigna radiata*). Biological Control, 50: 231–242.

Fulekar, M.H. 2010. Environmental Biotechnology.CRC Press, Taylor & Francis Group, London.

Gifani, A., Marzban, R., Seifkordi, A., Ardjmand, M. & Dezianian, A. 2015. Ultraviolet protection of nucleopolyhedrovirus through microencapsulation with different polymers. Biocontrol Science and Technology, 25(7): 814–827.

Gifani, A., Marzban, R., Seifkordi, A., Ardjmand, M. & Dezianian, A. 2016. Evaluation of some polymers combinations in improvement of HaNPV stability against ultraviolet radiation. BioControl in Plant Protection, 3(1): 1–8. (In Persian with English summary)

Glaeser, B. 2010. The green revolution revisited: critique and alternative. Routledge Taylor & Francis Group, London.

Glare, T.R., Caradus, J., Gelernter, W., Jackson, T., Keyhani, N., Kohl, J., Marrone, P., Morin, L. & Stewart, A. 2012. Have biopesticides come of age? Trends in Biotechnology, 30: 250–258.

Glare, T.R. & Moran-Diez, M.E. 2016. Microbial-Based Biopesticides-Methods and Protocols. Springer Protocols. Humana Press, New York, NY. 224 pp.

Griego, V.M. & Spence, K.D. 1978. Inactivation of *Bacillus thuringiensis* spores by ultraviolet and visible light. Journal of Applied and Environmental Microbiology, 35: 906–910.

Holick, M.F. 1995. Environmental factors that influence the cutaneous production of vitamin D. The American Journal of Clinical Nutrition, 61(3): 6385–6455.

Holker, U., Hofer, M. & Lenz, J. 2004. Biotechnological advantages of laboratory scale solid-state fermentation with fungi. Applied Microbiology and Biotechnology, 64:175–186.

Hunter, D.M. 2010. Credibility of an IPM approach for locust and grasshopper control: the Australian example. Journal of Orthoptera Research, 19: 133–137.

Hynes, R.K. & Boyetchko, S.M. 2006. Research initiatives in the art and science of biopesticide formulations. Soil Biology and Biochemistry, 38: 845–849.

Kalantari, M., Marzban, R., Imani, S. & Askari, H. 2013. Effects of *Bacillus thuringiensis* isolates and Single Nuclear Polyhedrosis Virus in combination and alone on *Helicoverpa armigera*. Archives of Phytopathology and Plant Protection, http://dx.doi.org/10.1080/03235408.2013.802460.

Khorramvatan, S., Marzban, R., Ardjmand, M., Seifkordi, A. & Askary, H. 2014. Preparation concentrated suspension of microencapsulated formulation of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*. BioControl in Plant Protection, 2 (1): 81–89. (In Persian with English summary)

Khorramvatan, S., Marzban, R., Ardjmand, M., Seifkordi, A. & Askary, H. 2013. The effect of polymers on the stability of microencapsulated formulations of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (Bt-KD2) after exposure to Ultra Violet Radiation. Biocontrol Science and Technology, 24(4): 462–472.

Köhl, J., Gerlagh, M., De Haas, B.H. & Krijger, M.C. 1998. Biological control of *Botrytis cinerea* in cyclamen with *Ulocladium atrum* and *Gliocladium roseum* under commercial growing conditions. Phytopathology, 88: 568–575.

Magda, A., Bendary, E.L. 2006. *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus sphaericus* biopestisides production. Journal of Basic Microbiology, 46(2): 158–170.

Magholli, Z., Marzban, R., Abbasipour, H., Shikhi, A. & Karimi, J. 2013. Interaction effects of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* and single nuclear polyhedrosis virus on Plutellaxylostella. Journal of Plant Diseases and Protection, 120(4): 173–178.

Marzban, R. & Askari, H. 2010. Microbial pest control achievements, challenges and vision. Congress on Half a Century of the Pesticide Usage in Iran. P 9. (In Persian with English summary)

Marzban, R. & Salehi, J.G. 2006. Distribution of *Bacillus thuringiensis* in the agricultural soils of Iran. In: Zaikov, G.E. (eds), Biotechnology, Agriculture and food Industry. Nova Science Publishers, New York, pp. 95–100.

Montesinos, E. 2003. Development, registration and commercialization of microbial pesticides for plant protection. International Microbiology, 6:245–252.

Most, B.H. & Quinlan, R.J. 1986. Formulation of biological pesticides, in fundamental and applied aspects of invertebrate pathology, proceedings of IV international colloquium on invertebrate pathology, Wageningen, Society for Invertebrate Pathology, pp. 624–627.

Naeimi, S., Khosravi, V., Nouri, M.Z., Hoda, H., Vágvölgyi, C. & Kredics, L. 2019. Biological control of rice sheath blight disease with formulation of indigenous *Trichoderma* strains under paddy field condition. Acta Biologica Szegediensis, 63(1): 37–43.

Naghavi, S., Marzban, R. & Imani, S. 2013. Stability of *Bacillus thuringiensis* and NPV microencapsulated formulation under sunlight. International Journal of Advanced Biotechnology and Research, 7: 2224–2230.

Oerke, E.C. & Dehne, H.W. 2004. Safeguarding production – losses in major crops and the role of crop protection. Crop Protection, 23: 275–285.

Peng, G. & Wolf, T.M. 2011. Improving spray deposition on vertical structures: the role of nozzle angle, boom height, travel speed, and spray quality. Pest Technology 5 (Special Issue 1), 67–72.

Pimentel, D. 2005. Environmental and economic costs of the applicationof pesticides primarily in the United States. Environment, Development and Sustainability, 7:229–252.

Ravensberg, W.J. 2011. Roadmap to the successful development and commercialization of microbial pest control products for control of arthropods. Springer Science & Business Media, New York.

Rhodes, D.J. 1993. Formulation of biological control agents. p. 411–439. In: “Exploitation of Microorganism” (D.G. Jones, ed.). Chapman and Hall, London.

Sabery, F., Marzban, R. & Rahimzade, H. 2013. A mini review on formulation of *Bacillus thuringiensis* as a Biopesticide. First National Conference on Strategies for Achieving Sustainable Development in Agriculture, Natural Resources and Environment, Tehran, Iran. (In Persian with English summary)

Salamouny, S.E.I., Shapiro, M., Ling, K.S. & Shepard, B.M. 2009. Black tea and lignin as ultraviolet protectants for the beet armyworm nucleopolyhedrovirus. Journal of Entomology Science, 44(1): 1–9.

Satinder, K., Brar, M., Verma, R.D. & Tyagi, J.R. 2006. Recent advances in downstream processing and formulation of *Bacillus thuringiensis* based biopesticides. Process Biochemistry, 41: 323–342.

Sexana, D., Ben-Dov, E., Manasherob, R., Barak, Z. & Boussiba, S. 2002. A UV tolerant mutant of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* producing melanin. Current Microbiology, 44: 25–30.

Swaminathan, J. & Jackson, T.A. 2011. Agent stabilisation and delivery process and product. NZ Patent 560574 27/04/11.

Tadros, F. 2005. Applied surfactants, principles and applications. Wiley-VCHVerlag GmbH and Co. KGaA.pp.187–256.

Tamez-Guerra, P., McGuire, M.R., Behle, R.W., Shasha, B.S. & Glan Wong, L.J. 2000. Assessment of microencapsulated formulation for improved residual activity of *Bacillus thuringiensis.* Journal of Economic Entomology, 93(2): 219–225.

Wiwattanapatapee, R., Pengnoo, A., Kanjanamaneesathian, M., Matchavanich, W., Nilratana. L. & Jantharangsri, A. 2004. Floating pellets containing bacterial antagonist for control sheath blight of rice: formulations, viability and bacterial release studies. Journal of Controlled Release, 95: 455–462.

Wiyono, S., Schulz, D.F. & Wolf, G.A. 2008. Improvement of the formulation and antagonistic activity of *Pseudomonas fluorescens* B5 through selective additives in the pelleting process. Biological Control, 46:348–357.

Yang, C.C., Pan, I.H., Chen, M.H., Kao, S.S. & Tsai, Y.S. 1995. Anti-ultraviolet biocidal composition. United States Patent 5,427, 787.

Zhang, W., Wolf, T.M., Bailey, K.L., Mortensen, K. & Boyetchko, S.M. 2003. Screening of adjuvants for bioherbicide formulations with *Colletotrichum* spp. and *Phoma* spp. Biological Control, 26: 95–108.

A review on the formulation of microbial-based biopesticides

Rasoul Marzban and Shahram Naeimi

Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran.

Corresponding author: Rasoul Marzban: r.amarzban@areeo.ac.ir

Received: Oct., 09, 2019 7(1) 39-55 Accepted: March., 10, 2020

Abstract

Concerning the adverse effects of the indiscriminate use of chemical pesticides on the environment and human health, today, biopesticides as a safe and effective alternative are necessary for pest control in sustainable agriculture programs. The biopesticides discuss here is restricted to the products containing live microorganisms. Although, the considerable number of effective biocontrol strains have been identified, but one of the main reason in their unsuccessful commercialization is the lack of suitable formulation. There are many scientific and technical challenges in the process of biopesticide formulation. Nevertheless, due to technological advances and new social outlook toward safe food and environment, biopesticide market is growing and it is predicted that its share increases in the near future. In this review, we present an introduction about the necessity of the biopesticides application as a proper alternative to chemical pesticides and their role in modern agriculture. Then, we discuss general challenges in production, formulation and commercialization of microbial-based biopesticides. The procedures before formulation including selecting the effective strains and their preservation as well as the fermentation methods were briefly described. After that, the two types of formulation *i.e.* liquid and solid, their advantages and disadvantage, a various ranges of carriers and adjuvants and important environmental factors affecting the formulations were also outlined. Finally, different types of common formulation were separately introduced and exemplified.

Keywords: beneficial microorganisms, biological control, commercialization, microbial biopesticides.