بررسی پتانسیل جدایه‌های بومی قارچ‌های بیمارگر حشرات به‌عنوان عامل کنترل بیولوژیک سفیدبالک گلخانه *Trialeurodes vaporariorum*

سعیده جاور، شهرام فرخی، بی‌تا عسگری، فرزانه پارسی
مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران
مسئول مکاتبات: سعیده جاور، پست الکترونیک: sajavar@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۹/۲۵ ۷(۱) ۱۲۷–۱۴۲ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۳/۱۱

چکیده

اولین اقدام برای تولید انبوه و تجاری‌سازی جدایه‌های بومی قارچ‌های بیمارگر حشرات، جمع‌آوری و بررسی میزان تأثیر این جدایه‌ها روی حشره آفت می‌باشد. هدف از انجام این پژوهش، بررسی بیمارگری۳۶ جدایه‌ی قارچی تهیه شده از مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور روی آفت *Trialeurodes vaporariorum* بود. به‌دلیل کثرت جدایه‌ها، در ابتدا پتانسیل بیمارگری این جدایه‌ها روی لارو سن چهارم *Galleria mellonella* به‌عنوان حشره شاخص بررسی شد. جدایه‌ای از جنس *Beauveria bassiana* (کد A1–1) با میانگین تلفات ۷۵ درصد بالاترین و پس از آن جدایه‌های IRAN1787C، IRAN1751C، IRAN1395C، IRAN428C و IRAN441C به ترتیب با ۵۷/۵۰، ۵۵، ۵۲/۵۰، ۵۰ و ۴۵ درصد مرگ‌ومیر، تلفات نسبتا خوبی داشتند. این شش جدایه برای انجام ارزیابی میزان رشد رویشی، اسپورزایی و زیست‌سنجی روی پوره‌های سفیدبالک گلخانه انتخاب شدند.در آزمایش زیست‌سنجی، جدایه‌ها در پنج غلظت 10^4، 10^5، 10^6، 10^7 و 10^8 کنیدی بر میلی‌لیتر روی پوره‌های سن سوم سفیدبالک گلخانه ارزیابی و میزان LC_{50} و LT_{50} این جدایه‌ها محاسبه گردید. بیشترین رشد رویشی به ترتیب در جدایه‌های IRAN428C، IRAN1395C، A1–1، IRAN1787C، IRAN441C و IRAN1751C و بالاترین میزان اسپورزایی به ترتیب در جدایه‌های IRAN1787C، A1–1، IRAN428C، IRAN1395C، IRAN441C و IRAN1751C مشاهده شد. نتایج نشان داد که جدایه A1–1 کمترین میزان LC_{50} و LT_{50} را در همه‌ی غلظت‌های بررسی شده داراست. میزان رشد رویشی و اسپورزایی این جدایه، به ترتیب رتبهٔ سوم و دوم را در بین سایر جدایه‌ها نشان داد. با توجه به نتایج، جدایه A1–1 به‌عنوان مؤثرترین جدایه برای کنترل سفیدبالک گلخانه معرفی می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: قارچ بیمارگر حشرات، سفیدبالک، پروانه موم‌خوار، گلخانه، غربالگری

مقدمه

یکی از آفات عمده و مشکلات تولید محصولات جالیزی، زینتی و صیفی‌جات در گلخانه‌ها، سفیدبالک گلخانه(Westwood) *Trialeurodes vaporariorum* است که با داشتن قطعات دهانی زننده–مکنده، با مکیدن شیره نباتی، ترشح عسلک و انتقال بیماری‌های ویروسی باعث کاهش کیفیت، بازارپسندی و عملکرد محصولات گیاهی می‌شود. سفیدبالک‌ها حشراتی کوچک متعلق به راسته Hemiptera، زیر راسته Sternorrhyncha، بالا خانواده Aleyrodoidea و خانواده Aleyrodidae می‌باشند که بر روی بسیاری از گیاهان زراعی و زینتی دیده می‌شوند (Martin *et al.*, 2000). طیف میزبانی وسیع، چند نسلی بودن، سرعت تکثیر بالا، داشتن قدرت مهاجرت زیاد، تحمل دماهای بالا، توانایی انتقال بیماری‌های ویروسی و توانایی ایجاد مقاومت به حشره‌کش‌ها، کنترل این آفت را در گلخانه‌ها مشکل کرده است. مقاومت این حشره به آفت‌کش‌های شیمیایی (Kapantaidaki *et al.*, 2018) و تاثیر منفی سموم شیمیایی در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات، تحقیقات را به سمت استفاده از روش‌های کنترل جایگزین سوق داده است. حشره‌کش‌های بیولوژیک بر پایه قارچ‌های بیمارگر حشرات از روش‌های کنترل قابل تامل می‌باشد زیرا این قارچ‌ها توانایی نفوذ به درون بدن حشره از طریق کوتیکول را داشته و برای کنترل آفاتی مثل سفیدبالک‌ها که از شیره گیاهی تغذیه می‌کنند مناسب هستند (Fransen, 1990). قارچ‌های مختلف شامل گونه‌های مختلف از جنس *Aschersonia*، *Acremonium*

Isaria ،*Aphanocladium album* (Preuss) W. Gams ،sp. *Paecilomyces* (سابقاً *fumosoroseus*)، *Trichothecium roseum* Link، *Verticillium fusisporum* W. Gams و *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas از روی اجساد سفیدبالک گلخانه جداسازی شده است (Gerling, 1990) و در مورد میزان تاثیر این قارچ‌ها بر روی مراحل مختلف زندگی آفت، تحقیقات آزمایشگاهی و مزرعه‌ای صورت گرفته است. قارچ *Aschersonia aleyrodis* Webber از جمله قارچ‌های بیمارگر حشرات است که از دیرباز نقش بیمارگری آن روی سفیدبالک‌ها شناخته شده است. هنگامی‌که سوسپانسیون اسپور قارچ *A. aleyrodis* با غلظت ۴×۱۰^{۶} کنیدی بر میلی‌لیتر روی برگ‌های حاوی سنین مختلف سفیدبالک گلخانه استفاده شد بعد از ۲۴ ساعت این قارچ تاثیری روی تخم‌ها نداشت ولی پوره‌های خارج شده از تخم را آلوده کرد که نشان‌دهنده این بود که قارچ‌ها حداقل تا یک هفته روی برگ‌ها ماندگار هستند. در این آزمایش پوره‌های سنین بالا و افراد بالغ حساسیت کمتری در مقایسه با پوره‌های سنین پایین نشان دادند (Fransen *et al.*, 1987). در سال‌های اخیر میزان بیمارگری ۴۴ جدایه از قارچ *Aschersonia* روی سفیدبالک گلخانه مورد بررسی قرار گرفت که میزان بیمارگری این جدایه‌ها متفاوت بود و بین ۲ تا ۷۰ درصد آلودگی ایجاد کردند (Meekes *et al.*, 2000). نتایج تحقیقات Bouhous & Larous (2012) نشان داد قارچ *V. lecanii* در کنترل تمام مراحل زیستی سفیدبالک گلخانه موثر است و عواملی چون غلظت قارچ، زمان استفاده و رطوبت محیط در تاثیرگذاری این قارچ تا ۱۰۰ درصد موثر هستند. میزان تاثیر قارچ *V. lecanii* به صورت پودر وتابل Mycotal روی سفیدبالک در گلخانه‌های خیار و گوجه-فرنگی و همین طور روی تریپس *Frankliniella occidentalis* (Pergande) در گلخانه‌های خیار در هلند مورد بررسی قرار گرفت. اسپورپاشی هفتگی با غلظت $۱۰^{۳}$ اسپور در میلی‌لیتر باعث کاهش ۹۰ درصدی جمعیت سفیدبالک گردید و میزان آلودگی تریپس‌ها به قارچ، ۶۰ درصد بود (Schaaf *et al.*, 1999). همچنین Ravensberg *et al.* (1990) نشان دادند که استفاده از حشره‌کش میکروبی Mycotal به صورت هفتگی باعث کاهش ۹۰ درصدی جمعیت سفیدبالک‌ها حتی در شرایط رطوبت ۷۵ درصد می‌گردند.

مطالعات آزمایشگاهی و مزرعه‌ای نشان داده است که برخی از جدایه‌های قارچی از جنس *Beauveria bassiana* (Balsamo)Vuillemin، *I. fumosorosea*، *Lecanicillium muscarium* (Petch) Zare and Gams و *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin تاثیر خوبی در کنترل سفیدبالک‌ها داشته‌اند (Malekan *et al.*, 2015; Oreste *et al.*, 2015; Quesada–Moraga *et al.*, 2006). میزان مرگ ومیر قارچ *M. anisopliae* روی سفیدبالک گلخانه همراه یا بدون مواد افزودنی روغنی با غلظت زیرکشندگی مورد بررسی قرار گرفت. این قارچ بدون مواد افزودنی حدود ۵۰ درصد مرگ‌ومیر روی سفیدبالک گلخانه ایجاد کرد ولی هنگامیکه این قارچ با ۱/۲۰ غلظت توصیه شده از روغن آفتابگردان تجاری Biola همراه شد میزان تاثیر آن حدود صد در صد افزایش یافت. در این تحقیق نه تنها سطح کنترل قارچ افزایش یافت بلکه سرعت تاثیر نیز بیشتر شد (Malsam *et al.*, 2002). بررسی بیمارگری ۲۵ جدایه‌ی قارچ *B. bassiana* در غلظت ۱×۱۰^{۷} کنیدی در میلی‌لیتر روی سفیدبالک گلخانه نشان داد قدرت بیمارگری آنها بین ۳ تا ۸۵ درصد متفاوت است (Quesada–Moraga *et al.*, 2005). در تحقیق دیگری جدایه‌ای از قارچ *M. anisopliae* با ایجاد ۹۶/۶ درصد مرگ‌ومیر بیشترین درصد مرگ‌ومیر را روی پوره‌های سفیدبالک هفت روز بعد از آلودگی ایجاد کرد و آفت‌کش بیولوژیک Naturalis–L با ماده موثره *B. bassiana* میزان ۹۴/۲ درصد مرگ‌ومیر را نشان داد (Oreste *et al.*, 2015).

در ایران نیز جدایه‌های مختلف قارچی از روی حشرات مختلف جدا شده است (Asadalapour *et al.*, 2011; Ghazavi *et al.*, 2005) و میزان حساسیت پوره‌های سنین مختلف سفیدبالک گلخانه نسبت به جدایه‌ای از قارچ *B. bassiana* و *L. muscarium* مورد بررسی قرار گرفته است (Malekan *et al.*, 2015). در این آزمایش برگ‌های

گوجه‌فرنگی حاوی دو گروه پورگی سنین ۱–۲ و ۳–۴ سفیدبالک در داخل ظروف پتری پلاستیکی مرطوب قرار گرفته و با غلظت‌های مختلف قارچی (10^3، 10^4، 10^5 و 10^6 کنیدی بر میلی‌لیتر) محلول‌پاشی شدند. در این آزمایش قارچ *B. bassiana* و *L. muscarium*، به ترتیب ۶۳/۷۴ درصد و ۶۲/۴۹ درصد مرگ‌ومیر روی پوره‌های سنین پایین و ۷۱/۶۸ درصد و ۸۷/۱۳ درصد مرگ‌ومیر روی پوره‌های سنین بالا ایجاد کردند و پوره‌های سنین بالاتر نسبت به پوره‌های سنین پایین حساسیت بیشتری به قارچ نشان دادند.

در حال حاضر چند فرآورده تجاری بر پایه قارچ‌های بیمارگر حشرات برای کنترل سفیدبالک‌ها به ثبت رسیده است. فرآورده‌هایی مثل Naturalis–L™ بر پایه قارچ *B. bassiana*، فرآورده Mycotal® بر پایه قارچ *L. muscarium* و PreFeRal® بر پایه قارچ *I. fumosorosea* که تاثیر خوبی در کنترل سفیدبالک‌ها بخصوص سفیدبالک گلخانه داشته‌اند (Hamdi *et al.*, 2011).

متأسفانه استفاده از این فرآورده‌های بیولوژیک در بین کشاورزان محدود است احتمالا به‌دلیل درک و باور عمومی که در بین کشاورزان برای استفاده از سموم متداول وجود دارد و برخی محدودیت‌هایی که استفاده از این فرآورده‌ها دارند به این صورت که فرآورده‌های قارچی کند عمل می‌کنند و خیلی سریع قدرت تاثیر خودشان را از دست می‌دهند. در محیط گلخانه به دلیل قابل کنترل بودن دما و رطوبت نسبی، قارچ‌ها کارایی بهتر و بیشتری دارند لذا استفاده از حشره‌کش‌های میکروبی قابل توجیه است. در راستای تولید فرآورده‌های قارچی در داخل کشور، نیاز است تا جدایه‌های بومی مختلف قارچی جداسازی و جمع‌آوری گردد و میزان تأثیر آن‌ها روی سفیدبالک‌ها مشخص شود تا جدایه قارچی با بیمارگری بالا شناسایی شود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و پرورش سفیدبالک

سفیدبالک گلخانه (*T. vaporariorum*) از محوطهٔ مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور جمع‌آوری و بعد از شناسایی دقیق، این حشره روی بوته‌های گوجه‌فرنگی و لوبیا در شرایط گلخانه (دما ۵±۳۰ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۰ درصد و دوره نوری طبیعی (۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی) برای تشکیل کلنی، رهاسازی شد. به منظور انجام آزمایش‌ها از برگ‌های لوبیا آلوده به پوره سن سوم سفیدبالک استفاده شد.

پرورش پروانه موم‌خوار *Galleria mellonella*

لارو پروانه موم‌خوار از بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور تهیه ودر شرایط آزمایشگاه (دما ۱± ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت ۱۰± ۵۰ درصد و دوره نوری ۸ : ۱۶ساعت روشنایی، تاریکی در داخل ظروف پلاستیکی روی غذای مصنوعی پرورش داده شد. برای تهیه غذای مصنوعی مطابق روش Ranjbar Aghdam *et al.*, (2015) از ۶۰۰ گرم عسل، ۱۲۰ گرم موم، ۴۹۲ گرم گلیسیرین، ۱۲۰۰ گرم آرد و ۳۰۰ گرم مخمر نان (yeast) استفاده شد بدین صورت که ابتدا موم در داخل آب جوش ذوب شده و سایر مواد به آن‌ها اضافه شد در نهایت خمیری بدست آمد که برای تغذیه لارو استفاده شد. پروانه‌های نر و ماده پس از خروج از پوسته شفیرگی، به داخل قیف‌های تخمگیری منتقل شدند. دهانه قیف با توری پوشانده شده و روی کاغذ قرار گرفتند. تخم‌های گذاشته شده روی کاغذ روزانه جمع‌آوری شده و در ظروف حاوی غذای مصنوعی قرار داده شد تا لاروها بعد از تفریخ تخم از آن تغذیه کنند.

تهیه قارچ‌های بیمارگر حشرات

تعداد ۲۵ جدایه قارچی از جنس‌های مختلف قارچ بیمارگر حشرات، از محل نگهداری کلکسیون قارچ در بخش تحقیقات رستنی‌ها و ۱۰ جدایه‌ی قارچی از بخش تحقیقاتی سن گندم (مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور) تهیه و در روی محیط کشت PDA (Potato Dextrose Agar) تکثیر شد. در انتخاب این جدایه‌ها تلاش شد تا تنوع در جنس قارچ‌های انتخابی و میزبان آن‌ها وجود داشته باشد. همچنین به منظور پیداکردن جدایه‌های بیشتر، نمونه‌های

خاک از جنگل‌ها و گلخانه‌های استان گلستان، مازندران و تهران جمع‌آوری و نسبت به جداسازی قارچ اقدام شد. مشخصات جدایه‌های قارچی استفاده شده در پژوهش حاضر در جدول ۱ ذکر شده است.

برای جداسازی عوامل قارچی از خاک، پس‌از انتقال نمونه‌های خاک به آزمایشگاه، ابتدا نمونه‌ها به تفکیک الک (مش۲ میلی‌متر) شده و سپس از هر نمونه خاک سه نمونه‌ی ۱۰۰ گرمی تهیه و جداگانه به ظروف پلاستیکی منتقل شد. قبل از انتقال لارو به داخل ظروف با اسپری کردن آب مقطر استریل خاک را مرطوب نموده و سپس پنج عدد لارو سن سه و *چهار Galleria mellonella* به هر ظرف اضافه شد. به‌منظور تماس بیشتر خاک با لاروها ظرف‌های حاوی خاک و لارو چند روز یکبار برگردانده شدند(Meyling, 2007). بعد از ۱۰ روز لاروهای مرده به‌طور جداگانه ابتدا با اتانول ۹۸٪ به مدت یک دقیقه شستشو شده، سپس با آب مقطر استریل و بعد با محلول هیپوکلریت سدیم ۳٪ به مدت یک دقیقه شستشو و دو بار با آب مقطر استریل شستشو و گندزدایی سطحی شدند. سپس لاروها به تفکیک به ظروف پتری که کف آن کاغذ صافی مرطوب قرار داشت منتقل و در پتری با پارافیلم مسدود گردید. پتری‌ها به انکوباتور با دمای ۱±۲۴ درجه سلسیوس، رطوبت ۶۰ درصد و ۲۴ ساعت تاریکی منتقل گردید (Francisco *et al*., 2006). بعد از ۱۴ روز در صورت مشاهده قارچ، اسپور آن به محیط کشت PDA منتقل و بعد از رشد، برای تشخیص جدایه از آن اسلاید تهیه و با لاکتوفنل رنگ آمیزی شد. قارچ‌ها با توجه به شکل ظاهری و همچنین با استفاده از کلید شناسایی Humer (1997) تشخیص داده شدند. برای اطمینان بیشتر، نمونه‌های قارچی به بخش رستنی‌ها در موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور ارسال شدند.

ارزیابی زهرآگینی جدایه‌های قارچی روی *Galleria mellonella*

برای تعیین جدایه‌های با زهرآگینی بالاتر، قبل از شروع آزمایش‌های زیست‌سنجی روی پوره‌های سفیدبالک گلخانه، ابتدا آزمایش مقدماتی در مورد تاثیر این جدایه‌ها روی لارو پروانه موم‌خوار *G. mellonella* انجام شد. پس از خالص‌سازی و تهیهٔ تک اسپور از جدایه‌های مختلف برای تهیه مایه‌ی تلقیح، تمام جدایه‌های قارچی مورد استفاده در محیط غذایی PDA کشت شده و در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۴–۱۲روز در تاریکی نگهداری شدند. پس از اسپورزایی کامل، سطح تشتک‌های پتری حاوی کنیدیوم‌های قارچ با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون حاوی ۰/۰۵ درصد Tween 80 و به کمک یک میله شیشه‌ای سترون خراش داده شد. به‌منظور جداسازی قطعات هیف، سوسپانسیون حاصله از پارچه ململ سترون عبور داده و بوسیله لام گلبول‌شمار، اسپورها شمارش و سوسپانسیون قارچی با غلظت ۲×۱۰^{۷} کنیدی در میلی‌لیتر تهیه شد. لاروهای سن چهارم پروانه موم‌خوار در این سوسپانسیون به مدت ۷–۵ ثانیه غوطه‌ور شدند و میزان مرگ‌ومیر لاروها روزانه ثبت گردید. این آزمایش در ۴ تکرار و هر تکرار شامل ۱۰ لارو سن چهارم *G. mellonella* بود. در هر تکرار یک تیمار شاهد که با آب مقطر سترون حاوی ۰/۰۵ درصد Tween 80 تیمار شده بودند استفاده شد. در نهایت، جدایه‌هایی که مرگ‌ومیر بیشتری روی لارو *G. mellonella* ایجاد کردند برای انجام آزمایش‌های ارزیابی میزان رشد رویشی، میزان اسپوردهی و زیست‌سنجی روی پوره‌های سفیدبالک گلخانه انتخاب شدند.

ارزیابی میزان رشد رویشی و اسپورزایی قارچ

از کشت‌های هفت روزه جدایه‌های قارچی برای انجام ارزیابی رشد رویشی استفاده شد به این صورت که در پایان روز هفتم، قطعات ۱۰ میلی‌متری از محیط کشت، همراه با میسلیوم به وسط محیط کشت Potato Dextrose Yeast extract Agar (PDYA) جدید در سه تکرار (سه پتری) منتقل شد و در پشت هر ظرف پتری دو خط عمود بر هم ترسیم گردید به طوریکه محل تقاطع دو خط دقیقاً در مرکز قطعات قارچی بود. در ظروف پتری با پارافیلم مسدود و در انکوباتور با دمای ۱± ۲۴ درجه سلسیوس، رطوبت ۵۰ درصد و تاریکی مطلق نگهداری شدند. رشد رویشی قارچ هر دو روز یکبار تا روز چهاردهم اندازه‌گیری شد.کلیه

ظروف پتری در روزهای اول، چهارم، هفتم، دهم و چهاردهم پس از کشت بازدید و میزان رشد کلنی با استفاده از خط کش اندازه‌گیری شد و میانگین دو قطر عمود بر هم در پشت کلنی در جداول مربوطه ثبت گردید. به منظور تجزیه تحلیل رشد شعاعی کلنی‌ها از رگرسیون خطی استفاده شد (Excel 2007, Proc. REG). در این تجزیه و تحلیل، زمان مورد بررسی (روزهای اول، چهارم، هفتم، دهم و چهاردهم) به‌عنوان متغیر مستقل و شعاع اندازه‌گیری شده کلنی به‌عنوان متغیر وابسته است. بنابراین شیب‌خط رگرسیون نشان‌دهنده سرعت رشد روزانه (به میلی‌متر) کلنی هر جدایه می‌باشد (Yeo *et al.*, 2003; Ouedraogo *et al.*, 1997).

برای ارزیابی میزان اسپورزایی قارچ از کشت هفت روزه‌ی قارچ روی محیط کشت PDYA استفاده شد. قطعه دایره‌ای شکل به قطر ۱۵ میلی‌متر از محیط کشت PDYA حاوی میسلیوم و کنیدی قارچ تهیه و در۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون حاوی ۰/۰۵ درصد Tween80 ریخته و با میله شیشه‌ای خوب به هم زده شد تا محیط کشت حاوی میسلیوم و کنیدی در آب مقطر پخش شود سپس با ورتکس به خوبی مخلوط شد تا کنیدی‌ها جدا شوند. سوسپانسیون حاصله از پارچه ململ سه لایه عبور داده شد و میزان اسپورهای قارچی بوسیله لام گلبول‌شمار شمارش شد (Nouriaiin *et al.*, 2014). این آزمایش در چهار تکرار از قارچ‌های کشت شده در پتری‌های جداگانه صورت گرفت و میانگین داده‌ها محاسبه گردید.

آزمایش‌های زیست سنجی

به منظور تهیهٔ حشرات یکسان برای انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی، گلدان‌های لوبیا به مدت ۲۴ ساعت در داخل کلنی پرورش قرار گرفته، پس از تخمریزی افراد بالغ روی برگ‌های لوبیا، گلدان‌ها از کلنی خارج شده و در قفس عاری از هر گونه آلودگی قرار گرفتند. با سپری شدن دوره انکوباسیون تخم و ظهور اکثر پوره‌های سن سوم، قطعات برگی به قطر تقریبی ۶ سانتی‌مترتهیه شد. قطعات برگی حاوی پوره‌های سن سوم با آب‌پاش دستی حاوی سوسپانسیون قارچی محلول‌پاشی شد، سپس برای ۲۰–۳۰ دقیقه روی کاغذ صافی برای جذب رطوبت اضافی قرار گرفته و درون ظروف پتری حاوی آب آگار ۲ درصد قرار گرفته و در انکوباتور با دمای ۱ ± ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت ۷۰ درصد و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. برای تهیه سوسپانسیون قارچی تمام جدایه‌های قارچی مورد نظر در محیط PDA کشت شده و در انکوباتور با دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت ۱۴–۱۲ روز در تاریکی نگهداری شدند. پس از اسپورزایی کامل سطح تشتک‌های پتری حاوی کنیدیوم‌های قارچ با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر سترون حاوی ۰/۰۵ درصد Tween80 و به کمک یک میله شیشه‌ای سترون خراش داده شد. به منظور جداسازی قطعات هیف، سوسپانسیون حاصله از پارچه ململ سترون عبور داده و بوسیله لام گلبول‌شمار، اسپورها شمارش و رقت‌های مورد نظر بدست آمد. زیست‌سنجی در پنج غلظت ۲×۱۰^{۸}، ۲×۱۰^{۷}، ۲×۱۰^{۶}، ۲×۱۰^{۵}، ۲×۱۰^{۴} کنیدی در میلی‌لیتر به همراه شاهد (حاوی آب مقطر سترون حاوی ۰/۰۵ درصد Tween80 بدون کنیدیوم قارچ) در چهار تکرار روی برگ-های حاوی پوره‌های سن سوم اجرا شد و میزان تلفات قارچ روی پوره‌ها روزانه با استفاده از استرئومیکروسکوپ برای ۷ روز بررسی و ثبت شد.

آنالیز آماری

کلیه آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. به منظور بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف جدایه‌های قارچی بر مرگ‌ومیر پوره‌های سفیدبالک، پس از بررسی عادی یا نرمال بودن کشیدگی و یا چولگی توزیع داده‌ها، از آزمون شاپیرو–ویلک یا آزمون کولموگروف–اسمیرنوف استفاده شد تا از نرمال بودن داده‌ها اطمینان حاصل گردد. پس از اطمینان از نرمال بودن داده‌ها از تجزیه واریانس (ANOVA) استفاده شده، درصد مرگ‌ومیر آفات بر اساس فرمول ابوت (1925) Abbott تصحیح و مقایسه میانگین درصد تلفات آفت با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ با نرم افزار IBM SPSS Statistics 25 صورت گرفت. برای تعیین LC_{50} و LT_{50}، از روش آماری آنالیز

رگرسیون پروبیت (SPSS Probit Analysis) استفاده شد. برای ترسیم معادله رگرسیونی و نمودارها از برنامه Excel 2007 استفاده شد.

جدول۱- جدایه‌های قارچی استفاده شده در پژوهش

Table 1. Fungal isolates used in this study

Row	Fungal Isolate	Code	Host/Origin	Place of Storage
1	*Metarhizium anisopliae*	IRAN 715C	Locust	Botany Research Department
2	*Metarhizium anisopliae*	IRAN 2252C	*Galleria mellonella*	
3	*Metarhizium anisopliae*	IRAN 1018C	*Archandra caspia*	
4	*Metarhizium anisopliae*	IRAN 437C	*Chilo suppressalis*	
5	*Beauveria bassiana*	IRAN 428C	*Chilo suppressalis*	
6	*Beauveria bassiana*	IRAN 441C	*Rhynchophorus ferrigineus*	
7	*Beauveria bassiana*	IRAN 789C	*Melolontha melolontha*	
8	*Beauveria bassiana*	IRAN 1217C	*Leptinotarsa decemlineata*	
9	*Beauveria bassiana*	IRAN 1228C	*Ommatissus lybicus*	
10	*Beauveria bassiana*	IRAN 1395C	*Zeuzera pyrina*	
11	*Paecilomyces cinnamomeus*	IRAN 2039C	*Ospheranteria coerulescens*	
12	*Lecanicillium aphanocladii*	IRAN 1030C	Aphids	
13	*Lecanicillium aphanocladii*	IRAN 1032C	Aphids	
14	*Lecanicillium aphanocladii*	IRAN 1750C	*Pulvinaria aurantii*	
15	*Lecanicillium aphanocladii*	IRAN 1751C	*Pulvinaria aurantii*	
16	*Lecanicillium dimorphum*	IRAN 1787C	*Bemisia tabaci*	
17	*Lecanicillium lecanii*	IRAN 1822C	Scale insect	
18	*Lecanicillium lecanii*	IRAN 2796C	Scale insect	
19	*Lecanicillium lecanii*	IRAN 1649C	*Pulvinaria floccifera*	
20	*Lecanicillium muscarium*	IRAN 1352C	*Zeuzera pyrina*	
21	*Lecanicillium muscarium*	IRAN 2795C	*Pulvinaria aurantii*	
22	*Lecanicillium psalliotae*	IRAN 1157C	*Eurygaster integriceps*	
23	*Isaria farinosa*	IRAN 2257C	*Galleria mellonella*	
24	*Isaria tenuipes*	IRAN 1019C	*Lymantria dispar*	
25	*Hirsutella versicolor*	IRAN 2028C	Beetle larva	
26	*Beauveria bassiana*	Kal 1–8	Soil	Sunn Pest Research Department
27	*Beauveria bassiana*	N2	Sunn pest cadaver	
28	*Beauveria bassiana*	V 1–2	Soil	
29	*Isaria farinosa*	Vir 1–5	Soil	
30	*Isaria fumosorosea*	Kh 2–2	Sunn pest cadaver	
31	*Isaria farinosa*	B 3–2	Soil	
32	*Isaria farinosa*	C 1–2	Soil	
33	*Beauveria bassiana*	B 2–3	Soil	
34	*Isaria fumosorosea*	G 1–8	Soil	
35	*Beauveria bassiana*	A 1–1	Soil	
36	*Beauveria bassiana*	IRAN 3642C	Soil	Biological Control Research Department

نتایج

از بین ۳۶ جدایه‌ی جمع‌آوری شده، سه جدایه با کدهای IRAN1032C، IRAN2257C و IRAN2028C کنیدی‌زایی خوبی در محیط کشت PDA نداشتند این جدایه‌ها در محیط SDA (Sabouraud Dextrose Agar) نیز کنیدی‌زایی خوبی نشان ندادند بنابراین از آزمایش‌ها حذف شدند (جدول ۲).

به‌منظور پیدا کردن جدایه‌های جدیدتر، نمونه‌های خاکی از مزرعه برنج استان مازندران، حاشیه جاده شهرستان گنبد استان گلستان و پارک قیطریه تهران جمع‌آوری و نسبت به جداسازی قارچ اقدام شد. از بین این نمونه‌ها فقط

در نمونه خاک پارک قیطریه تهران، لارو *G. mellonella* آلوده به قارچ شده و این قارچ خالص‌سازی شد. این نمونه قارچی در آزمایشگاه *B. bassiana* شناسایی و توسط دکتر رسول زارع در بخش رستنی‌ها نیز تأیید شد که در کلکسیون ملی قارچ‌های زنده ایران با کد IRAN3642C حفظ و نگهداری می‌شود.

بررسی میزان زهرآگینی جدایه‌های مختلف قارچی روی لارو *Galleria mellonella*

تجزیه واریانس یک طرفه (ANOVA) داده‌ها نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین میزان تاثیر جدایه‌های مختلف روی لارو سن چهار *G. mellonella* وجود دارد (df=32, F=15.317, P < 0.001). مقایسه درصد مرگ‌ومیر این جدایه‌ها نشان داد که از بین ۳۳ جدایه قارچی آزمایش شده، ۱۱ جدایه قارچی تاثیری روی لارو *G. mellonella* ندارد (جدول ۲).

جدایه‌ای از جنس *B. bassiana* (کد A1–1) با میانگین تلفات ۷۵ درصد بالاترین درصد مرگ‌ومیر و رتبه a جدول رتبه‌بندی دانکن را به خود اختصاص داد و پس از آن جدایه‌های IRAN1787C (*Lecanicillium dimorphum*)، IRAN1751C (*Lecanicillium aphanocladii*)، IRAN1395C (*B. bassiana*)، IRAN428C (*B. bassiana*) و IRAN441C (*B. bassiana*) به ترتیب با میانگین مرگ‌ومیر ۵۷/۵۰، ۵۵، ۵۲/۵۰، ۵۰ و ۴۵ درصد بیشترین تلفات را روی لارو سن چهار *G. mellonella* نشان دادند و در رتبه b جدول گروه‌بندی دانکن قرار گرفتند. درصد مرگ و میر سایر جدایه ها کمتر از ۴۰٪ بود (جدول ۲).

ارزیابی میزان رشد رویشی و اسپورزایی جدایه‌های قارچی

بر اساس نتایج آزمایش غربالگری جدایه‌های مختلف قارچی روی لارو *G. mellonella* به‌عنوان حشره شاخص و آزمایشگاهی، شش جدایه قارچی شامل IRAN1787C، IRAN1751C، IRAN1395C، IRAN428C، IRAN441C و A1–1 که بیشترین درصد مرگ‌ومیر را نشان دادند برای بررسی میزان رشد رویشی و اسپورزایی و زیست‌سنجی روی پوره‌های سفیدبالک گلخانه انتخاب شدند. میزان رشد رویشی این شش جدایه قارچی در روزهای اول، چهارم، هفتم، دهم و چهاردهم در شکل (۱) نشان داده شده است. معادله رگرسیون خطی آنها در چهارده روز در جدول (۳) مشخص شده است. شیب‌خط رگرسیون نشان‌دهنده سرعت رشد روزانه (به میلی‌متر) کلنی هر جدایه می‌باشد.

مطابق جدول ۳، جدایه IRAN428C با بالاترین شیب خط بیشترین رشد رویشی روزانه و جدایه IRAN1751C با کمترین شیب خط، کمترین رشد رویشی در روز را داشت. نتایج تجزیه واریانس ANOVA رشد رویشی جدایه‌های مختلف در روز چهاردهم نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین رشد قارچ‌ها در روز چهاردهم وجود دارد (df=5, F=5.269, P < 0.001). نتایج رتبه‌بندی دانکن نشان داد که بیشترین رشد رویشی به ترتیب در جدایه‌های IRAN428C، IRAN1395C و A1–1 مشاهده و اختلاف معنی‌داری بین این سه جدایه نبود و در رتبه a جدول رتبه‌بندی دانکن قرار گرفتند (جدول ۳).

میزان اسپورزایی این جدایه‌ها در کشت هفت روزه در محیط PDYA مورد بررسی قرار گرفت. نتایج جدول تجزیه واریانس (ANOVA) نشان داد اختلاف معنی‌داری در میزان اسپورزایی جدایه‌های مختلف وجود دارد (df=5, F=126.851, *P*<0.00). مقایسه میانگین میزان اسپورزایی جدایه‌های مختلف نشان داد که جدایه IRAN1878C با اختلاف معنی‌دار با میانگین اسپور $۱/۳ \times ۱۰^{۷}$ کنیدی در میلی‌لیتر بیشترین مقدار اسپورزایی را دارد و پس از آن جدایه A1–1 با $۲/۸ \times ۱۰^{۶}$ کنیدی در میلی‌لیتر در رتبه بعدی قرار دارد. سه جدایه IRAN1395C، IRAN441C و IRAN1751C کمترین میزان اسپورزایی را داشتند و اختلاف معنی‌داری بین میزان اسپورزایی آنها وجود نداشت و ردیف c جدول دانکن را تشکیل دادند (شکل ۲).

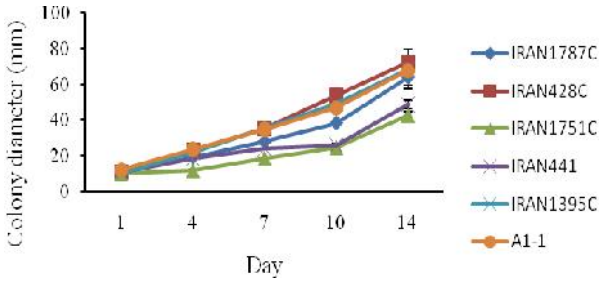
جدول ۲- میانگین درصد مرگ‌ومیر جدایه‌های مختلف قارچی روی لارو سن سوم *Galleria mellonella*.

Table 2. Mean percent mortality of different isolates of entomopathogenic fungi on the third instar of *Galleria mellonella*.

Row	Fungal Isolate (Code)	Mean percent mortality ± SE (Duncan's rankings)
1	IRAN 715C	15 ± 2.88 (efg)
2	IRAN 2252C	0 (g)
3	IRAN 1018C	17.50 ± 4.78 (def)
4	IRAN 437C	0 (g)
5	IRAN 428C	50 ± 5.77 (b)
6	IRAN 441C	45 ± 2.88 (bc)
7	IRAN 789C	0 (g)
8	IRAN 1217C	7.50 ± 2.50 (fg)
9	IRAN 1228C	0 (g)
10	IRAN 1395C	52.50 ± 4.78 (b)
11	IRAN 2039C	0 (g)
12	IRAN 1030C	0 (g)
13	IRAN 1032C	–*
14	IRAN 1750C	0 (g)
15	IRAN 1751C	55 ± 8.66 (b)
16	IRAN 1787C	57.50 ± 8.53 (b)
17	IRAN 1822C	15 ± 6.45 (efg)
18	IRAN 2796C	0 (g)
19	IRAN 1649C	32.50 ± 6.29 (cd)
20	IRAN 1352C	15 ± 2.88 (efg)
21	IRAN 2795C	12.50 ± 2.50 (efg)
22	IRAN 1157C	0 (g)
23	IRAN 2257C	–*
24	IRAN 1019C	17.50 ± 2.50 (def)
25	IRAN 2028C	–*
26	Kal 1–8	20 ± 4.08 (def)
27	N2	27.50 ± 4.78 (de)
28	V 1–2	10 ± 4.08 (fg)
29	Vir 1–5	25 ± 2.88 (de)
30	Kh 2–2	0 (g)
31	B 3–2	17.50 ± 2.50 (def)
32	C 1–2	0 (g)
33	B 2–3	20 ± 4.08 (def)
34	G 1–8	32.50 ± 4.78 (cd)
35	A 1–1	75 ± 9.57 (a)
36	IRAN 3642C	17.50 ± 2.50 (def)

ستون‌های دارای حروف مشترک طبق آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ ٪ ندارند. * کنیدی‌زایی نداشت.

Mean values followed by the same letter are not significantly different based on Duncan multiple range test at the 5%. *There was no conidiation.



شکل ۱- قطر پرگنه جدایه‌های مختلف قارچی طی چهارده روز در محیط potato dextrose yeast extract agar برحسب میلی‌متر. میله‌ها خطای استاندارد میانگین هستند.

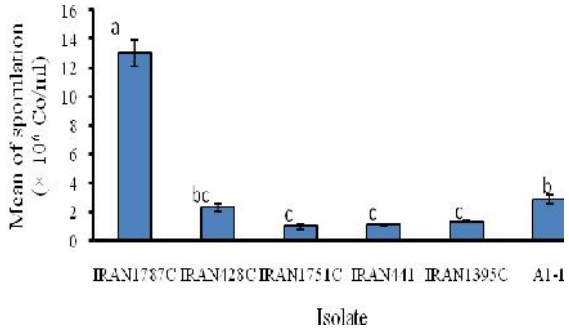
Fig.1. Colony diameters (mm) of different fungal isolates during 14 days on potato dextrose yeast extract agar medium. Vertical bars: standard error.

جدول ۳- معادله رگرسیون خطی (Y)، ضریب تبیین (r^2)، میانگین قطر کلنی جدایه‌های قارچی در روز چهاردهم.

Table 3. Linear regression equation (Y), coefficient of determination (r2) and colony diameter (Mean ± SE) of different fungal isolates after 14 days

Isolate	Y	r^2	Colonies Diameter (mm) (Mean ± SE)*
IRAN1787C	12.534 X – 5.386	0.92	64.16 ± 4.63 ab
IRAN428C	15.383 X – 6.95	0.98	72.50 ± 0.57 a
IRAN1751C	7.58 X – 1.95	0.88	42.83 ± 1.92 c
IRAN441C	8.384 X + 0.547	0.85	49 ± 2.08 bc
IRAN1395C	14.433 X – 6.03	0.99	68.83 ± 10.67 a
A1–1	13.434 X – 3.16	0.97	67.83 ± 4.60 a

*Mean values followed by the same letter are not significantly different based on Duncan multiple range test at the 5%

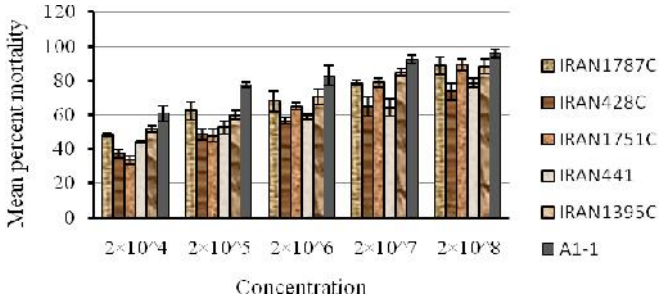


شکل۲- نمودار میزان اسپورزایی (کنیدی بر میلی‌لیتر ۱۰^۶×) جدایه‌های مختلف در محیط Potato dextrose yeast extract agar. ستون‌های دارای حروف مشترک طبق آزمون دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ ٪ ندارند. میله‌ها خطای استاندارد میانگین هستند.

Fig. 2. Mean of sporulation (× 10^6 Conidia/ml) by different fungal isolates on potato dextrose yeast extract agar medium. Mean values followed by the same letter are not significantly different based on Duncan multiple range test at the 5%. Vertical bars: standard error

زیست‌سنجی جدایه‌های مختلف روی پوره سفیدبالک گلخانه و تعیین LC_{50} و LT_{50}

میانگین درصد مرگ‌ومیر شش جدایه قارچی روی پوره‌های سفیدبالک گلخانه در شرایط آزمایشگاهی در غلظت‌های ۲×۱۰^{۴}، ۲×۱۰^{۵}، ۲×۱۰^{۶}، ۲×۱۰^{۷} و ۲×۱۰^{۸} کنیدی در میلی‌لیتر در شکل ۳ نمایش داده شده است. با بررسی نمودار شکل ۳ مشاهده شد که با افزایش غلظت قارچ‌ها، میانگین درصد مرگ‌ومیر پوره‌ها افزایش یافت هرچند در برخی غلظت‌ها اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری وجود نداشت. در این آزمایش جدایه A1–1 بیشترین درصد مرگ‌ومیر را در همه غلظت‌های به کار رفته نسبت به سایر جدایه‌ها داشت. این جدایه در آزمایش زیست‌سنجی روی لارو *G. mellonella* نیز بیشترین درصد مرگ‌ومیر را نشان داد. سایر جدایه‌های مورد مطالعه نیز درصد مرگ‌ومیر بالاتری نسبت به آنچه روی لارو *G. mellonella* نشان دادند (جدول ۲) ایجاد کردند.



شکل ۳- درصد مرگ‌ومیر پوره سن سوم سفیدبالک گلخانه *Trialeurodes vaporariorum* بعد از آلودگی با غلظت‌های مختلف جدایه‌های قارچی. میله‌ها خطای استاندارد میانگین هستند.

Fig. 3. Mean percent mortality of the third instar of greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* after infection by different concentration of fungal isolates.Vertical bars: standard error.

میزان LC_{50} این جدایه‌ها با استفاده از آنالیز پروبیت محاسبه گردید (جدول ۴). کمترین مقدار LC_{50} متعلق به جدایه A1–1 با مقدار $۳/۹\times۱۰^{۳}$ کنیدی بر میلی‌لیتر بود. سپس LC_{50} جدایه‌های IRAN1395C، IRAN1787C، IRAN441C، IRAN1751C و IRAN428C به ترتیب به میزان $۱/۴\times۱۰^{۴}$، $۲/۶\times۱۰^{۴}$، $۱/۰۲\times۱۰^{۵}$، $۱/۸\times۱۰^{۵}$ و $۴/۰۹\times۱۰^{۵}$ کنیدی بر میلی‌لیتر بدست آمد.

جدول ۴- برآورد LC_{50} همراه با محدوده اطمینان ۹۵٪ جدایه‌های مختلف روی پوره سن سوم سفیدبالک گلخانه *Trialeurodes vaporariorum*.

Table 4. The LC_{50} values with 95% confidence intervals of different fungal isolates to the third instar of greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum*

Isolates	LC_{50} (95% confidence interval)	Intercept ± SE	X^2(df)
IRAN1787C	2.6×10^4 ($4.01 \times 10^3 – 8.5 \times 10^4$)	–1.336 ± 0.282	0.781 (3)
IRAN428C	4.09×10^5 ($8.2 \times 10^4 – 1.2 \times 10^6$)	–1.310 ± 0.280	0.190 (3)
IRAN1751C	1.8×10^5 ($6.7 \times 10^4 – 4.1 \times 10^5$)	–2.079 ± 0.301	0.028 (3)
IRAN441C	1.02×10^5 ($6.8 \times 10^3 – 4.4 \times 10^5$)	–1.082 ± 0.301	0.841 (3)
IRAN1395C	1.4×10^4 ($2.02 \times 10^3 – 5.03 \times 10^4$)	–1.248 ± 0.272	1.539 (3)
A1–1	3.9×10^3 ($5.8 \times 10^2 – 1.3 \times 10^4$)	–1.364 ± 0.295	1.787 (3)

میزان LT_{50} جدایه‌های مختلف در غلظت‌هایی که درصد مرگ‌ومیر آنها بالاتر از ۵۰٪ بود محاسبه شده و مقدار آن همراه با محدوده اطمینان ۹۵٪ در جدول ۵ نشان داده شده است. با ملاحظه این جدول مشخص شد که کمترین مقدار

LT_{50} در مقایسه با جدایه‌های دیگر در همه غلظت‌های مطالعه شده متعلق به جدایه A1–1 است. جدایه‌های A1–1 و IRAN1395C در کمترین غلظت بررسی شده (۲×۱۰^{۴} کنیدی بر میلی‌لیتر)، بالاتر از ۵۰ درصد مرگ‌ومیر روی پوره‌های سفیدبالک ایجاد کردند (شکل ۳) و LT_{50} برای آنها قابل محاسبه بود. با نگاه کلی به جدول ۵ می‌توان مشاهده کرد که با افزایش غلظت قارچ‌ها و قدرت بیمارگری آن‌ها میزان LT_{50} نیز کاهش یافته است.

جدول ۵. برآورد LT_{50} همراه با محدوده اطمینان ۹۵٪ بر حسب روز جدایه‌های مختلف در غلظت‌های مختلف روی پوره سن سوم سفیدبالک گلخانه.

Table 5. The LT_{50} values with 95% confidence intervals (day) of different fungal isolates to the third instar ofgreenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum*

Isolate	Concentration	LT_{50} (95% confidence interval)	Intercept ± SE	X^2 (df)
IRAN1787C	10^4	—	—	—
	10^5	4.71 (4.43 – 5.05)	– 3.325 ± 0.309	6.41 (4)
	10^6	4.54 (4.29 – 4.84)	– 3.138 ± 0.266	4.52 (4)
	10^7	3.74 (3.52 – 3.96)	– 2.504 ± 0.202	5.14 (4)
	10^8	2.75 (2.33 – 3.15)	– 1.917 ± 0.194	6.84 (4)
IRAN428C	10^4	—	—	—
	10^5	—	—	—
	10^6	5.20 (4.46 – 6.88)	3.957 ± 0.354–	16.80 (4)
	10^7	4.74 (3.90 – 6.54)	2.700 ± 0.254–	13.80 (4)
	10^8	3.50 (2.37 – 5.49)	1.474 ± 0.154–	21.45 (4)
IRAN1751C	10^4	—	—	—
	10^5	5.72 (4.99 – 7.67)	4.316 ± 0.431–	11.54 (4)
	10^6	4.79 (4.52 – 5.12)	4.040 ± 0.423–	5.26 (4)
	10^7	4.66 (4.34 – 5.03)	5.098 ± 0.389–	7.53 (4)
	10^8	4.27 (3.92 – 4.63)	5.791 ± 0.523–	7.87 (4)
IRAN441C	10^4	—	—	—
	10^5	5.42 (5.07 – 5.93)	3.927 ± 0.417–	3.99 (4)
	10^6	5.19 (5.40 – 6.71)	4.314 ± 0.476–	11.55 (4)
	10^7	4.63 (4.35 – 4.96)	3.711 ± 0.389–	6.71 (4)
	10^8	4.18 (3.70 – 4.72)	4.069 ± 0.396–	8.95 (4)
IRAN1395C	10^4	5.67 (5.24 – 6.47)	5.840 ± 0.581–	6.79 (4)
	10^5	5.31 (4.95 – 5.80)	3.222 ± 0.293–	2.33 (4)
	10^6	4.28 (4.07 – 4.50)	3.925 ± 0.341–	3.36 (4)
	10^7	3.95 (3.45 – 4.49)	3.329 ± 0.306–	9.21 (4)
	10^8	3.50 (3.29 – 3.70)	2.753 ± 0.236–	2.42 (4)
A1–1	10^4	4.80 (4.01 – 6.30)	1.955 ± 0.159–	9.25 (4)
	10^5	3.73 (2.91 – 4.97)	1.817 ± 0.150–	19.05 (4)
	10^6	2.77 (1.82 – 3.70)	1.427 ± 0.152–	21.63 (4)
	10^7	2.18 (1.21 – 2.96)	1.328 ± 0.148–	32.33 (4)
	10^8	1.92 (1.09 – 2.58)	1.347 ± 0.145–	38.86 (4)

بحث

کاربرد حشره‌کش‌های بیولوژیک بر پایه قارچ‌های بیمارگر حشرات از روش‌های کنترل قابل تامل آفات می باشد زیرا این قارچ‌ها توانایی نفوذ به درون حشره از طریق کوتیکول را دارند و برای کنترل آفاتی مثل سفیدبالک‌ها که از شیره گیاهی تغذیه می‌کنند مناسب هستند. سفیدبالک گلخانه یکی از آفات مهم محیط‌های گلخانه‌ای است که علاوه بر تغذیه مستقیم، ناقل بسیاری از بیماری‌های ویروسی هم می‌باشد. این آفت در حال حاضر به بسیاری از سموم رایج مقاومت نشان داده، لذا استفاده از قارچ‌های بیمارگر حشرات به‌عنوان یکی از روش‌های موثر در کنترل آفات زننده–مکنده‌ای چون سفیدبالک گلخانه حائز اهمیت است.

در حال حاضر دو فرآورده بیولوژیک وارداتی شامل Naturalis–L™ با عامل فعال *B. bassiana* برای کنترل آفت سفیدبالک، شته و تریپس و فرآورده بیولوژیک Mycotal® با عامل فعال *L. muscarium* برای کنترل سفیدبالک گلخانه در لیست اعلام شده از سوی سازمان حفظ نباتات کشور در سایت این سازمان وجود دارد (http://ppo.ir /tabid/811/Default.aspx) آفت‌کش‌های غیرشیمیایی و بیولوژیک.

با توجه به اینکه هزینه‌های واردات حشره‌کش‌های میکروبی قارچی به کشور بالاست واز طرف دیگر تحقیقات علمی نشان داده است که قارچ‌های بومی تاثیر بهتری روی آفات بومی دارند (Sayed *et al.*, 2019; Zayed, 2003). این نیاز احساس شد تا جدایه‌های بومی قارچ‌های عامل بیمارگر حشرات جمع‌آوری شده و برای مشخص شدن جدایه موثر برای تولید انبوه و تجاری‌سازی، میزان تاثیر این جدایه‌ها روی سفیدبالک گلخانه مورد ارزیابی قرار گیرد.

لارو *G. mellonella* به‌عنوان آفت مدل در بسیاری از تحقیقات علمی به ویژه در زمینه قارچ‌های بیمارگر حشرات مورد استفاده قرار گرفته است (kavanagh & Fallon, 2010; Keppanan *et al.*, 2017; Khan *et al.*, 2016). از دیرباز از لارو *G. mellonella* به‌عنوان طعمه برای جداسازی این قارچ‌ها در داخل خاک استفاده شده است (Zimmermann,1986). نتایج آزمایش غربالگری روی لارو *G. mellonella* نشان داد که جدایه‌های مختلف از قارچ حتی جدایه‌هایی که متعلق به یک جنس و گونه هستند شدت بیمارگری متفاوتی دارند. جدایه‌های قارچی به‌دلیل اینکه از مکان‌هایی با شرایط اقلیمی مختلف و یا از میزبان‌های متفاوت جدا شده‌اند شدت بیمارگری آن‌ها نیز متفاوت است (Bidochka *et al.*, 2000) و این نتایج لزوم آزمایش‌های غربالگری را برای شناسایی جدایه‌های برتر نشان می‌دهد.

به‌دلیل اینکه هدف اصلی این پژوهش معرفی جدایه با بیمارگری بالا روی آفت سفیدبالک گلخانه بود ۶ جدایه قارچی متعلق به جنس‌های *B.bassiana*، *L.dimorphum* و *L. aphanocladii* که تاثیر بالایی روی لارو *G. mellonella* داشتند برای ارزیابی میزان رشد رویشی، اسپورزایی و همچنین انجام آزمایش زیست‌سنجی و تعیین LC_{50} و LT_{50} روی پوره‌های سفیدبالک مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج نشان داد که میزان بیمارگری این جدایه‌ها روی پوره‌های سفیدبالک در مقایسه با درصد مرگ‌ومیر آن‌ها روی لارو *G. mellonella* حتی در غلظت‌های مشابه (۲ ×۱۰^{۷} کنیدی بر میلی‌لیتر) بالاتر است. این تفاوت می‌تواند به میزان حساسیت میزبان آفت به قارچ‌ها و همینطور به رطوبت محیط انجام آزمایش برگردد زیرا رطوبت نسبی محیط انجام زیست سنجی‌ها روی سفیدبالک (۵ ±۷۰ درصد) بالاتر از رطوبت نسبی محیط در زیست سنجی‌های انجام شده روی *G. mellonella* (۱۰±۵۰ درصد) است. نتایج تحقیقات محققین قبلی نیز نشان داده است که افزایش رطوبت نسبی محیط باعث بالا رفتن قدرت بیمارگری قارچ بیمارگر می‌شود (Luz & Fargues, 1997; Mishra *et al.*, 2015; Sharififard *et al.*, 2012).

نتایج آزمایش‌های زیست‌سنجی روی پوره‌های سفیدبالک گلخانه نشان داد که جدایه‌ای از جنس *B. bassiana* (کد A1–1) بالاترین درصد مرگ‌ومیر را نسبت به جدایه‌های دیگر در همه‌ی غلظت‌های آزمایش شده دارا است. درصد مرگ‌ومیر پوره سن سوم سفیدبالک گلخانه بعد از آلودگی با غلظت‌های مختلف این جدایهٔ قارچی بین ۶۰ تا ۹۵ درصد بود (شکل ۳).نتایج آزمایش‌های محققین دیگر بابررسی بیمارگری ۲۵ جدایه از قارچ *B. bassiana* در غلظت ۱۰^{۷} × ۱ کنیدی در میلی‌لیتر روی سفید بالک گلخانه نشان داد که قدرت بیمارگری آنها بین ۳ تا ۸۵ درصد متفاوت است (Quesada–Moraga *et al.*, 2005). با بررسی میزان بیمارگری جدایه‌ای از قارچ *B.bassiana* روی پوره‌های سنین مختلف سفیدبالک گلخانه مشخص شد که این جدایه در غلظت ۱۰^{۶} کنیدی در میلی‌لیتر ۶۳/۷۴ درصد تلفات روی پوره‌های سنین یک و دو و ۷۱/۶۸ درصد تلفات روی پوره‌های سنین سه و چهار ایجاد کرده وپوره‌های سنین بالا حساسیت بیشتری به قارچ دارند (Malekan *et al.* 2015). جدایه‌ای از قارچ *B. bassiana*، در غلظت ۱۰^{۸} کنیدی در میلی‌لیتر، ۸۴/۶ درصد تلفات روی

پوره‌های سفیدبالک گلخانه در شرایط گلخانه و ۴۵/۳ درصد تلفات در شرایط مزرعه‌ای نشان داد (Kim *et al.*, 2014). محقق دیگری گزارش داد که جدایه‌ای از قارچ *M. anisopliae* در غلظت $۱۰^{۶} \times ۲$ کنیدی در میلی‌لیتر، ۹۶/۶ درصد تلفات روی پوره‌های سنین سه و چهار سفیدبالک گلخانه هفت روز پس از استفاده در شرایط آزمایشگاهی ایجاد کرده است (Oreste *et al.*, 2015). در گزارش دیگر، پنج جدایه از قارچ متعلق به جنس *Paecilomyces* از میان ۱۰ جدایه قارچی بررسی شده، بیشتر از ۷۰ درصد مرگ‌ومیر روی پوره‌های سفیدبالک گلخانه شش روز پس از استفاده نشان داد (Gökçe & Kubilay Er, 2005). افزودن مواد روغنی نیز در میزان بیمارگری قارچ بیمارگر روی سفیدبالک گلخانه موثر است. قارچ *M. anisopliae* بدون مواد افزودنی حدود ۵۰٪ مرگ‌ومیر ر روی سفیدبالک گلخانه ایجاد کرد ولی هنگامی‌که این قارچ با ۱/۲۰ غلظت توصیه شده از روغن آفتابگردان تجاری Biola همراه شد میزان تاثیر آن حدود صد در صد افزایش یافت. در این تحقیق نه تنها سطح کنترل قارچ افزایش یافت بلکه سرعت تاثیر نیز بیشتر شد (Malsam *et al.*, 2002).

در مطالعه حاضر، کمترین میزان LC_{50} ($۳/۹ \times ۱۰^{۳}$) برای جدایه A1–1 نسبت به جدایه‌های دیگر برآورد شد. محقق دیگری میزان LC_{50} جدایه‌هایی از جنس *B. bassiana* که قدرت بیمارگری بالاتری روی سفیدبالک گلخانه داشتند را بین ۱×۱۰^{۵} تا $۶/۲ \times ۱۰^{۶}$ کنیدی بر میلی‌لیتر بدست آورد (Quesada–Moraga*etal*. 2006). در حالی‌که Malekan *et al.* (2015) میزان LC_{50} جدایه ای از قارچ *B. bassiana* را $۰/۲۵ \times ۱۰^{۶}$ کنیدی بر میلی‌لیتر روی پوره‌های سنین یک و دو و $۲/۶ \times ۱۰^{۴}$ کنیدی بر میلی‌لیتر روی پوره‌های سنین سه و چهار سفیدبالک گلخانه گزارش دادند. محقق دیگر میزان LC_{50} جدایه‌ای از جنس *V. lecanii* روی پوره‌های سفیدبالک گلخانه را $۰/۵ \times ۱۰^{۳}$ اسپور در میلی‌لیتر بدست آورد (Bouhous & Larous, 2012). روی پورهٔ سن دوم سفیدبالک پنبه *Bemisia tabaci*، میزان LC_{50} موثرترین جدایه ازقارچ *P. fumosoroseus* بعد از شش روز $۲/۷۷ \times ۱۰^{۵}$ کنیدی در میلی‌لیتر به‌دست‌آمد (Eslamizadeh *et al.*, 2015). جدایه A1–1 همچنین کمترین LT_{50} را نسبت به سایر جدایه‌ها در همه‌ی غلظت‌های مورد مطالعه داشت این میزان در غلظت‌های ۲×۱۰^{۴} ، ۲×۱۰^{۵} ، ۲×۱۰^{۶} ، ۲×۱۰^{۷}، ۲×۱۰^{۸} کنیدی در میلی‌لیتر به ترتیب برابر با ۱/۹۲ ، ۲/۱۸، ۲/۷۷، ۳/۷۳ و ۴/۸۰ روز محاسبه گردید. مطابق یافته‌های Quesada–Moraga*et al.* (2006) متوسط زمان زنده‌مانی پوره‌های سفیدبالک آلوده به جدایه‌هایی از جنس *B. bassiana* که قدرت بیمارگری بالاتری روی سفیدبالک گلخانه داشتند بین ۵/۹ تا ۷/۴ روز بود. به طور کلی می‌توان گفت که قدرت بیمارگری، مقدار LC_{50} و LT_{50} جدایه قارچی بسته به نوع جدایه قارچی، غلظت بکار رفته، نوع میزبان، سن میزبان و شرایط محیطی انجام زیست‌سنجی متفاوت خواهد بود.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که جدایه A1–1 با وجود زهرآگینی بیشتر و کمتر بودن مقدار LC_{50} و LT_{50}، میزان رشد رویشی آن کمتر از برخی جدایه‌ها است و در ردیف سوم در مقایسه با سایر جدایه‌ها قرار گرفت (شکل ۱). میزان اسپورزایی آن نیز در ردیف دوم قرار داشت (شکل ۲). با توجه به اینکه رشد رویشی و اسپورزایی جدایه A1–1 از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری با جدایه‌هایی که میزان رشد رویشی و اسپورزایی بالاتری داشتند نداشت این جدایه به‌عنوان جدایه موثر روی سفیدبالک گلخانه معرفی می‌شود همچنین جدایه IRAN1787C از جنس *L. dimorphum* که میزان رشد رویشی و اسپورزایی بالایی را نشان داده و از لحاظ میزان تلفات روی سفیدبالک گلخانه جزو سه جدایه‌ی برتر بوده و با توجه به اینکه از روی عسلک پنبه *B. tabaci* جدا شده است می‌تواند به‌عنوان گزینه دوم معرفی گردد. بررسی منابع نشان داد که آزمایش‌های بیمارگری و تولید انبوه قارچ *L. dimorphum* برای کنترل سفیدبالک‌ها صورت نگرفته است ولی به‌عنوان عامل بیمارگر حشرات مکنده به‌خصوص شپشک‌های گیاهی گزارش شده است (Asensio *et al.*, 2005).

تحقیق حاضر یک پروژه مقدماتی بود تا مؤثرترین جدایه قارچی برای کنترل سفیدبالک گلخانه مشخص شود نتیجه آزمایش‌های زیست‌سنجی روی لارو *G. mellonella*

و همچنین پوره‌های سفیدبالک گلخانه نشان داد که جدایه‌ای از جنس *B. bassiana* (کد A1–1) زهرآگینی بیشتری نسبت به سایر جدایه‌های مطالعه شده دارد. پیشنهاد می‌شود در راستای تجاری‌سازی این جدایه به صورت فرآورده بیولوژیک قارچی، تحقیقات بیشتر روی نحوه تولید، تکثیر و فرمولاسیون آن انجام شود.

سپاسگزاری

تحقیق حاضر قسمتی از یک پروژه تحقیقاتی مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور است، بدین‌وسیله از این مؤسسه که امکانات اجرای این پژوهش را فراهم کرد سپاسگزاری می‌شود. از جناب آقای دکتر حسن عسکری به‌دلیل مشاوره در اجرای این پژوهش، صمیمانه تقدیر می‌شود.

References

Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomolgy, 18(2): 265–267.

Asadalapour, M., Zafari, D. & Zare, R. 2011. Hyphomycetous fungi isolated from insects and their pathogenic effect on colorado beetle in Hamedan province. Journal of Plant Protection (Agricultural Science and Technology), 24(4): 465– 470. (In Persian with English summary).

Asensio, L., Lopez–Llorca, L.V. & López–Jiménez, J.A. 2005. Use of light, scanning electron microscopy and bioassays to evaluate parasitism by entomopathogenic fungi of the red scale insect of palms (*Phoenicococcus marlatti* Ckll., 1899). Micron, 36(2): 169–175.

Bidochka,M.J.,Kamp, A.M. & De Croos, J.N.A.2000. Insect pathogenic fungi: from genes to populations.pp. 171–193. In: Kronstad, J.W. (ed.), Fungal Pathology. Springer Science.

Bouhous, M. & Larous, L. 2012. Efficiency of the entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii* in the biological control of *Trialeurodes vaporariorum*, (Homoptera: Aleyrodidae), a greenhouse culture pest. African Journal of Microbiology Research, 6(10): 2435–2442.

Eslamizadeh, R., Sajap, A.S.S., Omar, D.B. & Adam, N.A.B. 2015. Evaluation of different isolates of entomopathogenic fungus, *Paecilomyces fumosoroseus* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) against *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). Biocontrol in Plant Protection. 2(2): 82–91.

Fransen, J.J., Winkelman, K. & van Lenteren, J. 1987. The differential mortality at various life stages of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae), by infection with the fungus *Aschersonia aleyrodis* (Deuteromycotina: Coelomycetes). Journal of Invertebrate Pathology, 50: 158–165.

Fransen, J.J. 1990. Natural enemies of whiteflies, Fungi. In: Gerling, D. (Eds.), Whiteflies: Their Bionomics, Pest Status and Management Intercept. Andover, UK, 187–210 pp.

Francisco, E.A., Mochi, D.A., Correia, A.D.C.B. & Monteiro, A.C. 2006. Influence of culture media in viability test of conidia of entomopathogenic fungi. Ciência Rural, 36(4): 1309–1312.

Gerling, D. 1990. Whiteflies: their bionomics, pest status and management (Volume 18 of International congress of entomology). Intercept, Andover, Hants, UK, 348 pp.

Ghazavi, M., Zangeneh, S. & Abaii, M. 2005. New records of some entomopathogenic fungi from Iran. Rostaniha, 6: 119–130. (In Persian with English summary).

Gökçe, A. & Kubilay Er, M. 2005. Pathogenicity of *Paecilomyces* spp. to the Glasshouse Whitefly, *Trialeurodesvaporariorum*, with Some Observations on the Fungal Infection Process. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 29: 331–339.

Hamdi, F., Fargues, J., Ridray, G., Jeannequin, B. & Bonato, O. 2011. Compatibility among entomopathogenic hyphocreales and two beneficial insects used to control *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleurodidae) in Mediterranean greenhouses. Journal of Invertebrate Pathology, 108: 22–29.

Humber, R. 1997. Fungi: Identification, 153–185pp. In: Lacey, L.A., & Lacey, L.A. (eds.). Biological Techniques Manual of Techniques in Insect Pathology, chapterV–1. Academic Press.

Kapantaidaki, D.E., Sadikoglou, E., Tsakireli, D., Kampanis, V., Stavrakaki, M., Schorn, C., Aris Ilias, A., Riga, M., George Tsiamis, G., Nauen, R., Skavdis, G., Vontas, J., & Tsagkarakou, A. 2018. Insecticide resistance in *Trialeurodes vaporariorum* populations and novel diagnostics for kdr mutations. Pest Management Science, 74: 59–69.

Kavanagh, K &Fallon, J.P. 2010. *Galleria mellonella* larvae as models for studying fungal virulence. Fungal Biology Reviews, 24(1–2): 79–83.

Keppanan, R., Sivaperumal, S.D.C., Akutse, K.S. & Wang, L. 2017. Molecular docking of protease from *Metarhizium anisopliae* and their toxic effect against model insect *Galleria mellonella*. Pesticide Biochemistry and Physiology, 138: 8–14.

Khan, S., Nadir, S., Lihua, G., JianchuXu, J., Keith A., 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.

Kim, C.S., Lee, J.B., Kim, B.S., Nam, Y.H., Shin, K.S., Kim, J.W., Kim, J.E. & Kwon, G.S. 2014. A technique for the prevention of greenhouse whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) using the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* M130. Journal of Microbiology and Biotechnology, 24(1): 1–7.

Luz, C. & Fargues, J. 1997. Temperature and moisture requirements for conidial germination of an isolate of *Beauveria bassiana*, pathogenic to *Rhodnius prolixus*. Mycopathologia, 138(3): 117–125.

Malekan, N., Hatami, B., Ebadi, R., Akhavan, A. & Radjabi, R. 2015. Evaluation of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Lecanicillium muscarium* on different nymphal stages of greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* in greenhouse conditions. Biharean Biologist, 9(2): 108–112.

Malsam, O., Kilian, M., Oerke, E. & Dehne, H.W. 2002. Oils for increased effcacy of *Metarhizium anisopliae* to control whiteflies. Biocontrol Science and Technology, 12: 337–348.

Martin, J.H., Mifsud, D. & Rapisarda, C. 2000. The whiteflies (Hemiptera: Aleyrodidae) of Europe and the Mediterranean Basin. Bulletin of Entomological Research, 90: 407–448.

Meekes, E.T.M., Fransen, J.J. & van Lenteren, J.C. 2000. Pathogenicity of *Aschersonia* spp. against whiteflies *Bemisia argentifolii* and *Trialeurodes vaporariorum*. Journal of Invertebrate Pathology, 81: 1–11.

Meyling, N.V., & Eilenberg, J. 2007. Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystems: potential for conservation biological control. Biological control, 43(2): 145–155.

Mishra, S., Kumar, P. & Malik, A. 2015. Effect of temperature and humidity on pathogenicity of native *Beauveria bassiana* isolate against *Musca domestica* L. Journal of Parasitic Diseases, 39(4): 697–704.

NouriAiin, M., Askary, H., Imani, S. & Zare, R. 2014. Isolation and characterization of entomopathogenic fungi from hibernating sites of Sunn Pest (*Eurygaster integriceps*) on Ilam Mountains, Iran. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 3(12): 314–325.

Oreste, M., Giovanni Bubici, G., Michele Poliseno, M. & Eustachio Tarasco, E. 2015. Effect of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on the *Trialeurodes vaporariorum–Encarsia formosa* system. Journal of Pest Science, DOI 10.1007/s10340–015–0660–4.

Ouedraogo, A., Fargues, J., Goettel, M.S. & Lomer, C.J. 1997. Effect of temperature on vegetative growth among isolates of *Metarhizium anisopliae* and *M. flavoviride*. Mycopathologia, 137: 37–43.

Quesada–Moraga, E., Maranhao, E.A.A., Valverde–Garcıa, P. & Santiago–Alvarez, C. 2006. Selection of *Beauveria bassiana* isolates for control of the whiteflies *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum* on the basis of their virulence, thermal requirements, and toxicogenic activity. Biological Control, 36: 274–287.

Ranjbar Aghdam, H., Yousefi Porshokouh, A. & Sedighi, L. 2015. Temperature–dependent life table parameters of *Galleria mellonella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Crop Protection, 4 (Supplementary): 727–738.

Ravensberg, W.J., Malais, M. & Schaaf, D.A. 1990. *Verticillium lecanii* as a microbial insecticide against glasshouse whitefly. Brighton Crop Protection Conference, Pests and Diseases. Vol. 1: 265–268.

Sayed, S.M., Ali, E.F. & Al–Otaibi, S.S. 2019. Efficacy of indigenous entomopathogenic fungus, *Beauveria bsiana* (Balsamo) Vuillemin, isolates against the rose aphid, *Macrosiphum rosae* L. (Hemiptera: Aphididae) in rose production. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 29 (19). https://doi.org/10.1186/s41938–019–0123–y.

Schaaf, D.A., Malais, M. & Ravensberg, W.J. 1999. The use of *Verticillium lecanii* against whitefly and thrips in glasshouse vegetables in the Netherlands. Conference paper : Proceedings and abstracts, Vth International Colloquium on Invertebrate Pathology and Microbial Control, Adelaide, Australia, 20–24 August 1990. 391 pp.

Sharififard, M., Mossadegh, M.S. & Vazirianzadeh, B. 2012. Effects of temperature and humidity on the pathogenicity of the entomopathogenic fungi in control of the house fly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) under laboratory conditions. Journal of Entomology, 9(5): 282–288.

Yeo, H., Pell, J.K., Alderson, P.G., Clark, S.J. & Pye, B.J. 2003. Laboratory evaluation of temperature effects on the germination and growth of entomopathogenic fungi and on their pathogenicity to two aphid species. Pest Management Science, 59: 156–165.

Zayed, A. 2003. Pathogenecity of two *Beauveria bassiana* indigenous isolates towards the greater wax moth *Galleria mellonella* L. larvae in Egypt. Efflatounia, 3: 10–14.

Zimmermann, G. 1986. The '*Galleria* bait method' for detection of entomopathogenic fungi in soil. Journal of Applied Entomology, 102(1–5): 213–215.

Investigating on the potential of local isolates of entomopathogenic fungi as biological control agents against greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum*

Saeedeh Javar, Shahram Farrokhi, Bita Asgari, Farzaneh Parsi

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

Corresponding author: Saeedeh Javar: sajavar@gmail.com

Received: Dec., 15, 2019 7(1) 127–142 Accepted: May, 31, 2020

Abstract

The initial step to mass production and commercialization of native entomopathogenic fungal isolates includes collection as well as evaluation of their pathogenesis on the pest. This research aims to investigate the pathogenicity of 36 local fungal isolates collected from the Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran against greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum*. Due to the variation of the collected isolates volume, a preliminary screening test carried out on the fourth instars of a model insect *Galleria mellonella*. Based on the obtained results, the *Beauveria bassiana* A1–1 isolate showed the highest mortality with an average of 75%, followed by IRAN1787C, IRAN1751C, IRAN1395C, IRAN428C and IRAN441C with mean mortality rates of 57.50, 55, 52.50, 50 and 45%, respectively. Subsequently, the isolates were selected for evaluation of vegetative growth, sporulation and bioassay tests on greenhouse whitefly. In the bioassay test, five concentrations of the isolates (10^4, 10^5, 10^6, 10^7 and 10^8 conidia/ml) were tested on the third–instar of whitefly nymphs, and then the parameters LC_{50} and LT_{50} of the isolates were calculated. The highest vegetative growth rate belonged to IRAN428C, IRAN1395C, A1–1, IRAN1787C, IRAN441C and IRAN1751C isolates while the highest sporulation rate belonged to IRAN1787C, A1–1, IRAN428C, IRAN1395C, IRAN441C and IRAN1751C, respectively. The results showed that the A1–1 isolate indicated the lowest LC_{50} and LT_{50} values among all used concentrations. Moreover, its vegetative growth and sporulation ranked third and second among all the collected isolates, respectively. Therefore, the A1–1 isolate is being introduced as the most effective biocontrol agent to control greenhouse whitefly.

Keywords: entomopathogenic fungi, whitefly, greater wax moth, greenhouse, screening