

## تأثیر باکتری *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* در اختلاط با پودر حنا روی مراحل لاروی شب‌پرهی *Tuta absoluta* (Meyrick) مینوز گوجه‌فرنگی

عدرا هاشمی طسوجی<sup>۱</sup>، شهرام آرمیده<sup>۲\*</sup>، محمدحسن صفرعلیزاده<sup>۳</sup> و زهرا هاشمی طسوجی<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد حشره‌شناسی گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۲- نویسنده مسوول: استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه (Shahramaramideh@gmail.com)

۳- استاد گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۹/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۱/۳۰

### چکیده

شب‌پرهی مینوز گوجه‌فرنگی (*Tuta absoluta* (Meyrick)) یکی از آفات مهم گوجه‌فرنگی است که خسارت شدیدی به آن وارد می‌کند. با توجه به خطرات باقی‌مانده‌ی سموم و آسیب‌های زیست محیطی، استفاده از عوامل کنترل بیولوژیک به‌ویژه باکتری *Bacillus thuringiensis* مورد توجه می‌باشد. در این تحقیق از پودر حنا به عنوان یک ماده‌ی گیاهی افزایش دهنده اثر استفاده گردید. آزمایشات به روش غوطه‌ور سازی برگ گوجه‌فرنگی در محلول‌های تهیه شده انجام شد. سپس، مقادیر  $LC_{50}$  و  $LC_{20}$  حاصل از تأثیر غلظت‌های باکتری و حنا به طور جداگانه روی سنین لاروی طی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تعیین شد. به منظور بررسی اثر توأم باکتری و حنا اثرات تیمارهای  $LC_{50}$  باکتری،  $LC_{50}$  حنا و مخلوط  $LC_{20}$  حنا و  $LC_{20}$  باکتری و تیمار شاهد در قالب طرح کاملاً تصادفی و در محیط برگ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بررسی‌ها نشان داد در هر سه سن لاروی اختلاط باکتری و حنا در مقایسه با تأثیر جداگانه باکتری و حنا اثر سینرژیستی داشته است. به طوری که میانگین درصد تلفات لارو سن یک با مقادیر  $LC_{50}$  حنا،  $LC_{50}$  باکتری و مخلوط  $LC_{20}$  حنا و  $LC_{20}$  باکتری در ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت به ترتیب (۲۰، ۲۶/۶۷ و ۵۰٪)، (۲۳/۳۳، ۳۰ و ۳۳/۳۳٪) و (۲۶/۶۷ و ۳۳/۳۳ و ۶۶/۶۷٪)، در سن دوم لاروی (۲۰، ۲۶/۶۷ و ۵۶/۶۷)، (۲۳/۳۳، ۳۰ و ۶۰٪) و (۲۶/۶۷ و ۳۳/۳۳ و ۶۳/۳۳٪) و در سن سوم لاروی (۲۰، ۲۳/۳۳ و ۵۶/۶۷٪)، (۲۳/۳۳، ۲۶/۶۷ و ۶۳/۳۳٪) درصد به دست آمد. مطالعه اخیر نشان داد کاربرد توأم باکتری و حنا باعث افزایش تلفات در سنین مختلف لاروی شد. بنابراین، تلفیق عوامل بیولوژیک با روش‌های دیگر کنترلی به‌ویژه با عوامل قابل قبول زیست محیطی بهتر است در برنامه مدیریت تلفیقی آفات مورد استفاده قرار گیرد.

کلید واژه‌ها: *Bacillus thuringiensis* حنا، اثر سینرژیستی، شب‌پرهی مینوز گوجه‌فرنگی

### مقدمه

می باشد (بالدین و همکاران<sup>۱</sup>، ۲۰۰۷). یکی از آفات مهم و نو ظهور این گیاه، مینوز گوجه‌فرنگی *Tuta absoluta* (Meyrick) است (صفوی و صفوی، ۱۳۹۰). در چند سال اخیر شب‌پرهی مینوز گوجه‌فرنگی به یک آفت مخرب تبدیل شده و به کلیه قسمت‌های گیاه گوجه‌فرنگی

گوجه‌فرنگی *Lycopersicon esculentum* Miller، گیاهی علفی و یکساله از تیره بادمجانیان، Solanaceae، است. این گیاه بومی امریکای جنوبی بوده و یکی از محصولات اقتصادی مهم در بسیاری از کشورها

حمله می کند؛ این آفت به تمام مراحل رشدی بوته‌های گوجه فرنگی خسارت می‌زند و در تمام سنین لاروی احتمال خسارت به سبب تغذیه این حشره وجود دارد. لاروها، جوانه‌های انتهایی، برگچه‌های نازک، گل‌ها و میوه‌های سبز را برای تغذیه ترجیح می‌دهند. همچنین، لاروها از بافت مزوفیل برگ‌ها تغذیه می‌کنند و مسیر تغذیه آن‌ها به صورت لکه‌های نامنظم در می‌آید و فضولات سیاه لاروها درون دالان‌ها قابل مشاهده است. این لکه‌ها ممکن است بعداً نکروزه شوند. همچنین لاروها ممکن است تونل‌هایی در ساقه ایجاد نمایند. میوه‌ها نیز به محض ظهور روی بوته‌ها در معرض هجوم این آفت قرار می‌گیرند. دالان‌های ناشی از این آفت درون میوه، ممکن است محل ورود عوامل بیماری‌زای ثانویه باشد، که موجب فساد و پوسیدگی میوه می‌شود. این آفت حدود ۶۰ تا ۱۰۰ درصد محصول گوجه فرنگی را از بین می‌برد (گنزالز-کابرا و همکاران<sup>۱</sup>، ۲۰۱۱). خسارت این آفت به طور مستقیم مربوط به کاهش ظرفیت فتوسنتزی و میزان تولید گوجه-فرنگی در مزارع باز و گلخانه‌هاست. علاوه بر این زیان اقتصادی ناشی از عدم بازارپسندی میوه‌های آلوده در شرایطی که امکان فرآوری پس از برداشت (بسته‌بندی، ذخیره‌سازی و حمل و نقل) وجود داشته باشد از اهمیت زیادی برخوردار است.

خسارت غیرمستقیم آفت نیز از راه آلودگی‌های ثانویه است که در اثر گسترش پاتوژن‌ها بر روی بافت‌ها و میوه‌ها به وجود می‌آید. در نهایت وجود آفت درون میوه‌های گوجه‌فرنگی همراه با مقاومت آن به دماهای پایین، باعث اختلال شدید در صادرات گوجه‌فرنگی به کشورهای غیرآلوده به آفت می‌شود (گارزیا و همکاران<sup>۲</sup>، ۲۰۱۱). توانایی آفت در زندگی بر روی گونه‌های گیاهی مختلف،

فقدان حشرات مفید کنترل کننده آن در مناطقی که به-تازگی آلوده شده‌اند و حضور دائم حشرات کامل و تخم-های آن و همچنین تداوم آلودگی به دلیل اختلاف در سرعت نشو و نمای لاروها و نیز مدت متفاوت چرخه‌ی زندگی بین جمعیت‌های موجود در مزارع باز و گلخانه‌ها بر مشکلات کنترل آفت می‌افزاید. اما برخی از رفتارهای خاص حشره موجب تسهیل در کنترل آن می‌گردد. لاروهای این آفت مدتی را به صورت سرگردان، خارج از بافت‌های گیاهی سپری می‌کنند که در این زمان‌ها در معرض آفت‌کش‌ها و دشمنان طبیعی واقع می‌شوند. تعدادی از لاروها پس از تفریح تخم و قبل از حفر دالان به صورت سرگردان به سر می‌برند. همچنین در طول دوران رشد هنگامی که لاروها به دلیل کافی نبودن مواد غذایی (به علت تراکم بالای جمعیت یا خشک شدن یا فساد بافت گیاهی) از دالان اولیه به هدف حفر دالانی دیگر خارج می‌شوند و زمانی که لاروهای کامل برای دست‌یابی به مکانی مناسب جهت تبدیل شدن به شفیره از دالان خارج می‌شوند می‌توان بر آنها اثر گذاشت (سانینو و اسپینوزا<sup>۳</sup>، ۲۰۱۰). در بسیاری از کشورهایی که این آفت وجود دارد، روش‌های کنترل بیولوژیکی آفت در حال بررسی و تحقیق است (دیزنوکس و همکاران<sup>۴</sup>، ۲۰۱۰). در جوامع گوناگون بشری میل شدیدی به استفاده از مواد غذایی عاری از پس-مانده‌های ترکیبات و سموم شیمیایی سنتتیک وجود دارد که این گرایش سبب شده تا پژوهش‌ها به سوی دستیابی به ترکیبات حشره‌کش کم‌خطر سوق داده شود (ساید و همکاران<sup>۵</sup>، ۲۰۰۰). استفاده بی‌رویه از سموم شیمیایی در کنترل آفات، سبب افزایش مقاومت آن‌ها در برابر سموم و آلودگی محیط زیست شده و تأثیر سوء بر سلامتی انسان

3- Sannino &amp; Spinosa

4- Desneux *et al.*,5- Sayed *et al.*,1- Gonzalez-Cabrera *et al.*,2- Garzia *et al.*,

این تحقیق به منظور ارزیابی تأثیر اختلاط حنا با باکتری *B. thuringiensis* روی سنین لاروی شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی انجام شد.

### مواد و روش‌ها

#### نحوه‌ی پرورش و نگهداری حشرات

کلنی مینوز گوجه‌فرنگی *T. absoluta*، از مزارع آلوده‌ی گوجه‌فرنگی اطراف ارومیه جمع‌آوری گردید. جهت تکثیر انبوه آفت، حشرات کامل روی بوته‌های رقم (Super strain B) گوجه‌فرنگی کشت شده در گلدان‌های پلاستیکی در گلخانه، همچنین در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، روی گوجه‌فرنگی انتقال داده شدند. به منظور اجرای آزمایشات هر هفته ۱۵ گلدان کشت شد. بذرها به مدت ۲۴ ساعت در آب خیسانده شده و سپس در گلدان‌هایی با قطر دهانه ۱۵ و ارتفاع ۱۳ سانتی‌متر در گلخانه در شرایط دمایی  $25 \pm 2$  درجه سلسیوس و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی  $60 \pm 10$  درصد کشت شدند. لاروهای رشد یافته با استفاده از اندازه‌گیری عرض کپسول سر از سنین دیگر تفکیک گردید (کالتاگی ون و همکاران<sup>۴</sup>، ۱۹۸۳) و روی گلدان‌هایی که با تلق پوشانده شده و دارای تعداد زیادی برگ رشد یافته منتقل شدند.

#### آزمایشات زیست‌سنجی با باکتری و پودر حنا

باکتری *B. thuringiensis* var. *kurstaki* strain PB54 به صورت پودر و تابل ساخت شرکت موریسیا<sup>۵</sup> کشور اسپانیا تهیه گردید. پودر حنای مورد استفاده در زیست‌سنجی، پودر حنای معمولی موجود در بازار بود که بعد از الک (۴۰۰ مش) در زیست‌سنجی به کار رفت. به دلیل ماهیت حشره-کشی هر دو عامل که از طریق گوارشی مؤثر می‌باشند، زیست‌سنجی به روش غوطه‌ور کردن برگ گوجه‌فرنگی در

خواهد داشت (بانداری و همکاران<sup>۱</sup>، ۲۰۰۹). در چنین شرایطی نیاز به یافتن روش‌های کنترلی ایمن، مناسب و توجیه‌پذیر از جنبه‌های اقتصادی ضروری است. از جمله این روش‌ها، کنترل آفات با استفاده از حشره‌کش‌های میکروبی و سنتز شده می‌باشد (ملادنوا و شتروا<sup>۲</sup>، ۲۰۰۹). باکتری *B. thuringiensis*، حشره‌کشی میکروبی است که وقتی وارد دستگاه گوارشی حشره می‌شود غشاهای قسمت میانی مجرای هاضمه را متلاشی می‌کند (خدیر و همکاران<sup>۳</sup>، ۲۰۱۳). در حال حاضر این باکتری مهم‌ترین پاتوژنی است که برای کنترل بیولوژیکی آفات از جمله بالپولکداران مورد استفاده قرار می‌گیرد و فرمولاسیون‌های آن ۹۲٪ مصرف حشره‌کش‌های بیولوژیک جهان را به خود اختصاص می‌دهد (قاسمی کهریز و همکاران، ۱۳۸۳). پودر حنای طبیعی از برگ‌های گیاه حنا حاصل می‌شود که بومی ایران و با نام علمی *Lawsonia alba* Linnaeus از تیره‌ی Lythraceae است. برگ حنا دارای ماده‌ی رنگی لائوسون و مواد چربی و تانن‌ها می‌باشد (آینه‌چی، ۱۳۶۵). پودر حنا به عنوان یک ماده‌ی گیاهی بسیار ارزان قیمت و قابل دسترس می‌تواند به دلیل داشتن مقدار زیادی از انواع تانن‌ها و در صورت اختلاط با باکتری *B. thuringiensis* باعث بروز حالت سینترژیسم شود. زیرا تانن‌های موجود در آن می‌توانند در سلول‌های پوششی روده‌ی میانی حشرات زخم‌های ریزی ایجاد نماید و سبب - شوند که اسپوره‌های باکتری که در درون روده‌ی میانی رشد کرده‌اند به مقدار فراوان‌تری وارد حفره‌ی عمومی شده و با افزایش عفونت عمومی، باعث افزایش تلفات لارو شوند (نامور و همکاران، ۱۳۸۲).

1- Bhandari et al.,  
2- Mladenova & Shtereva  
3- Khadir et al.

4- Caltagrone et al.  
5- Murcia

همراه یک درصد توئین ۲۰ تهیه و برگ‌های گوجه‌فرنگی به روش غوطه‌ور کردن آغشته شدند. بعد از خشک شدن برگ‌ها در هر تیمار شامل تیمار باکتری  $LC_{50}$  (Bt)، حنا  $LC_{50}$  (He)، ترکیب باکتری با حنا  $LC_{25}$  (Bt) +  $LC_{25}$  (He) و تیمار شاهد در سه تکرار و در هر تکرار ۱۰ عدد لارو با استفاده از قلم‌مو روی برگ‌های درون پتری دیش‌ها قرار گرفتند و درب پتری دیش‌ها با توری مسدود گردید. تلفات هر سه سن لاروی پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تیمار شمارش شد.

### تجزیه و تحلیل داده‌ها

به منظور محاسبه مقادیر  $LC_{25}$  و  $LC_{50}$  باکتری و حنا داده‌های حاصل از مرگ و میر لاروهای سنین مختلف در نرم‌افزار SPSS 19 تجزیه‌ی پروبیت<sup>۲</sup> گردید. همچنین در ارزیابی خاصیت اختلاط پودر حنا با باکتری مرگ و میر ناشی از تیمارهای مختلف بعد از تبدیل داده‌ها به روش  $\text{Arcsin}\sqrt{\frac{x}{n}}$  تجزیه واریانس یک طرفه<sup>۳</sup> و مقایسه میانگین‌ها به روش توکی<sup>۴</sup> در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام گرفت. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel-2010 استفاده شد.

### نتایج

#### محاسبه مقادیر $LC_{25}$ و $LC_{50}$ باکتری و حنا روی سنین مختلف لاروی شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی

مقادیر  $LC_{50}$  به دست آمده حاصل از تأثیر باکتری و حنا روی لاروهای شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی نشان داد که با گذشت زمان میزان  $LC_{50}$  باکتری و حنا کاهش یافت و میزان کشندگی نیز بیشتر گردید. همچنین سن اول لاروی بیشترین حساسیت کشندگی را نسبت به باکتری و در درجه بعدی حنا نشان داد و با افزایش سن لاروی از میزان حساسیت کشندگی کاسته شد (جدول ۱).

محلول سمی انجام گرفت (معنی نقده، ۱۳۸۲). جهت ارزیابی و تخمین  $LC_{50}$  باکتری و حنا، آزمایشات مقدماتی شامل تأثیر پنج غلظت از عامل بیولوژیک و نیز پودر حنا به همراه تیمار شاهد به منظور تعیین غلظت‌های حداقل و حداکثر (۲۰-۸۰٪) روی لاروهای سنین اول، دوم و سوم انجام گرفت. بعد از تعیین غلظت‌هایی که کمترین و بیشترین مرگ و میر را ایجاد کرده بودند سه غلظت دیگر به روش لگاریتمی محاسبه گردید (مراداسحاقی و پورمیرزا، ۱۳۵۳). غلظت‌های مختلف تهیه و ورتکس شدند و برگ‌های گوجه‌فرنگی در محلول‌های سمی غوطه‌ور شدند. به منظور پخش یکنواخت محلول‌ها در سطح برگ‌ها، به مقدار ۱ درصد از توئین ۲۰ که دارای خاصیت پخش‌کنندگی و چسبندگی است، استفاده شد. پس از آلوده‌سازی، برگ‌ها در دمای آزمایشگاه خشک گردید. در تیمار شاهد از آب مقطر به همراه توئین ۲۰ استفاده شد. پس از تبخیر آب از سطح برگ‌ها، ۱۰ عدد لاروهای سن ۱، ۲ و ۳ با استفاده از قلم موی نرم به طور جداگانه روی برگ‌ها قرار گرفتند. به منظور تبادل هوای درون پتری دیش‌ها، درب آن‌ها با توری مسدود گردید. تلفات لاروها پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت شمارش شد. لاروهای مرده با زدن ضربه توسط قلم‌مو به سر آن‌ها ثبت گردید. به این نحو که در صورت تحرک، لارو زنده و در صورت عدم واکنش به ضربه و تغییر رنگ بدن، مرده محسوب شدند. در این تحقیق برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد.

#### اثرات توأم باکتری و پودر حنا

این آزمایش به منظور بررسی خاصیت اختلاط پودر حنا با باکتری بر مرگ و میر لاروها به منظور بالا بردن تأثیر باکتری و کاهش میزان مصرف ماده‌ی آن طراحی شد. بدین منظور بعد از تعیین مقادیر  $LC_{25}$  و  $LC_{50}$  باکتری و حنا به روش غوطه‌ور سازی برگ در محلول، اثرات توأم آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. مقادیر هر دو ترکیب بر اساس مقدار  $LC_{25}$  و  $LC_{50}$  باکتری و حنا با ترازوی دیجیتالی توزین و محلول‌های هر کدام به

2- Probit  
3- One way ANOVA  
4- Tukey

1- Tween20

جدول ۱. مقادیر  $LC_{25}$  و  $LC_{50}$  تأثیر غلظت‌های مختلف باکتری و پودر حنا روی سنین مختلف لاروی شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی (تعداد لارو در هر آزمایش = ۱۸۰، درجه آزادی = ۳)

غلظت‌های کشندگی (پی پی ام)		LC <sub>25</sub>	LC <sub>50</sub>	Chi-square	SE ± شیب خط	زمان (ساعت)	سن لاروی	ماده آزمایشی
حد بالا - حد پایین	حد پایین							
۱۶۷۵/۶۲۶-۳۶۹۵/۰۵۸	۲۱۴۵/۵۶۱	۱۲۱۶/۴۶۹	۰/۳۹۵	۲/۷۳۷±۰/۶۳۷	۲۴			
۱۶۴۳/۳۷۲-۸۴۷۳/۷۳۶	۱۸۰۴/۵۶۱	۹۸۵/۴۴۰	۰/۴۵۳	۱/۷۵۶±۰/۵۴۵	۴۸	اول		
۱۳۱۵/۴۰۴-۳۰۱۳/۱۵۴	۱۷۰۵/۱۴۹	۷۹۵/۹۶۱	۰/۴۶۲	۲/۰۳۹±۰/۵۳۰	۷۲			
۱۹۶۲/۴۴۳-۲۵۲۴/۷۴۳	۲۲۰۰/۸۰۹	۱۵۵۷/۲۸۹	۲/۰۳۵	۴/۴۹۰±۰/۷۸۳	۲۴			
۱۸۳۴/۳۰۱-۲۴۹۲/۴۷۷	۲۱۰۹/۹۷۸	۱۳۶۸/۲۰۲	۱/۲۲۹	۳/۵۸۵±۰/۷۱۰	۴۸	دوم		باکتری
۱۶۰۱/۴۵۱-۲۱۹۷/۶۰۷	۱۸۷۹/۷۷۹	۱۱۸۴/۷۲۶	۰/۲۷۶	۳/۳۶۴±۰/۶۸۰	۷۲			
۲۴۸۳/۳۶۳-۳۰۰۸/۸۳۹	۲۷۱۰/۵۶۴	۲۰۸۳/۱۶۱	۲/۸۶۰	۵/۸۹۹±۰/۹۹۴	۲۴			
۲۴۵۶/۴۹۱-۳۲۲۹/۲۰۸	۲۷۵۷/۶۵۱	۱۹۱۴/۵۷۴	۰/۰۲۵	۴/۲۵۶±۰/۸۹۷	۴۸	سوم		
۲۲۱۰/۷۵۵-۲۸۸۶/۸۷۷	۲۲۵۳/۱۸۸	۱۵۲۶/۹۴۱	۰/۷۴۷	۳/۹۹۲±۰/۸۵۴	۷۲			
۲۰۷۲/۵۵۴-۳۳۸۶/۶۶۵	۲۴۲۸/۱۳۱	۱۵۵۸/۱۷۹	۳/۶۸۹	۳/۵۰۱±۰/۸۵۳	۲۴			
۱۸۹۱/۱۲۱-۲۸۵۱/۹۵۱	۲۱۸۹/۹۱۲	۱۳۹۲/۳۴۱	۳/۹۵۴	۳/۴۲۹±۰/۸۱۷	۴۸	اول		
۱۷۷۹/۸۰۹-۲۶۲۹/۹۹۷	۲۰۶۳/۳۶۶	۱۲۸۷/۳۲۹	۴/۲۰۲	۳/۲۹۲±۰/۷۹۵	۷۲			
۳۰۴۰/۳۴۷-۳۸۰۷/۱۹۱	۳۲۹۷/۸۸۱	۲۶۱۰/۹۳۷	۲/۷۲۶	۶/۶۴۹±۱/۴۲۹	۲۴			
۲۹۲۳/۶۸۹-۳۵۸۱/۸۰۱	۳۱۶۱/۴۷۹	۲۴۹۱/۳۶۸	۴/۰۰۳	۶/۵۲۰±۱/۳۷۵	۴۸	دوم		حنا
۲۸۰۹/۲۵۱-۳۴۵۷/۲۷۶	۳۰۵۱/۷۰۵	۲۳۴۷/۸۳۳	۲/۴۵۶	۵/۹۲۳±۱/۳۱۷	۷۲			
۵۰۲۸/۷۹۰-۷۲۱۵/۳۶۴	۵۶۵۹/۴۷۴	۴۰۲۸/۲۸۶	۲/۱۲۶	۴/۵۶۸±۱/۱۱۴	۲۴			
۴۶۷۲/۰۶۷-۶۰۷۹/۳۸۰	۵۱۶۹/۲۷۸	۳۷۶۹/۸۷۵	۳/۳۷۵	۴/۹۲۰±۱/۰۹۱	۴۸	سوم		
۴۵۵۲/۵۸۳-۵۹۵۳/۸۶۰	۵۰۵۶/۱۷۹	۳۶۲۲/۹۳۳	۳/۱۲۰	۴/۶۵۹±۱/۰۶۷	۷۲			

زمان ۲۴، ۴۸ و ۴۸ ساعت بزرگ‌تر بوده و P (احتمال) کوچکتر از ۰/۰۵ بود (شکل ۱).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به تلفات لارو سن دوم شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی در اثر مخلوط باکتری و حنا ۲۴ (F<sub>3,11</sub>=۱۵/۷۵, P=۰/۰۰۱)، ۴۸ (F<sub>3,11</sub>=۴۰/۵۰, P=۰/۰۰۱) و ۷۲ (F<sub>3,11</sub>=۱۷/۹۳, P=۰/۰۰۱) ساعت پس از آزمایش نشان داد که با اطمینان ۹۵ درصد بین تیمارها اختلاف معنی داری وجود داشت. در مورد اثر غلظت‌ها، F محاسبه شده از F جدول در سطح احتمال آماری ۹۵ درصد، بزرگ‌تر بوده و P (احتمال) کوچکتر از ۰/۰۵ بود (شکل ۲).

### اثر توأم باکتری و حنا روی سنین لاروی شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به تلفات سن اول شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی در اثر مخلوط باکتری و حنا در زمان‌های ۲۴ (F<sub>3,11</sub>=۳۰/۶۶۷, P=۰/۰۰۱)، ۴۸ (F<sub>3,11</sub>=۱۵/۷۵, P=۰/۰۰۱) و ۷۲ (F<sub>3,11</sub>=۳۰/۶۶۷, P=۰/۰۰۱) ساعت با اطمینان ۹۵ درصد بین تیمارها از نظر کشندگی اختلاف معنی داری وجود داشت. در مورد اثر غلظت‌ها، F محاسبه شده از F جدول در سطح احتمال آماری ۹۵ درصد، در هر سه

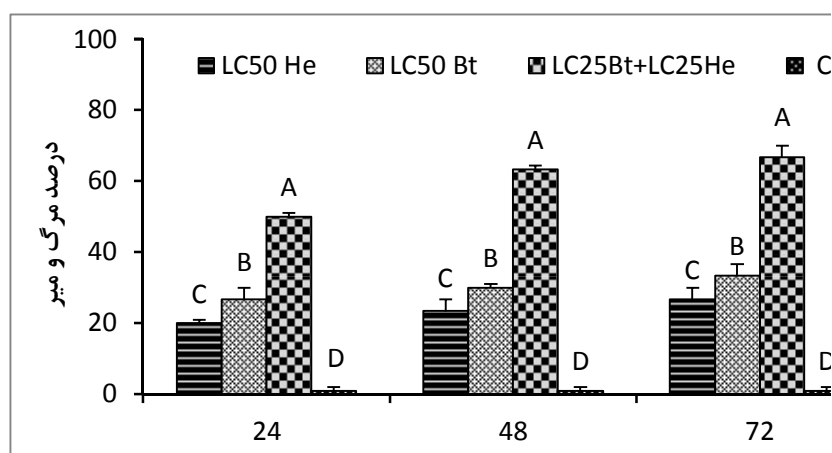
هاشمی طسوجی و همکاران: تأثیر باکتری *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* در...

جدول در سطح احتمال آماری ۹۵ درصد، بزرگ تر بوده و P (احتمال) کوچکتر از ۰/۰۵ بود (شکل ۳).

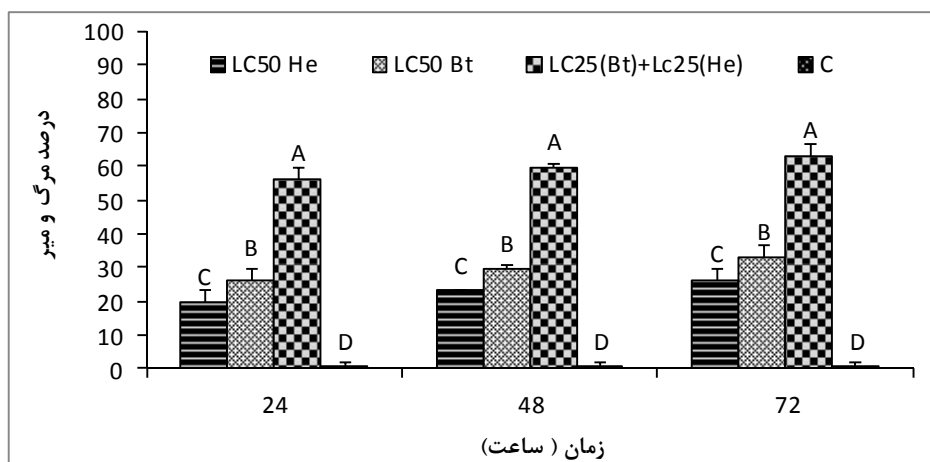
### گروه بندی میانگین تیمارها

گروه بندی میانگین درصد تلفات تیمارها نشان داد تیمار مخلوط دو عامل در هر سه سن لاروی نسبت به تأثیر تک تک تیمارها، اثر سینرژیستی داشت (شکل های ۱ تا ۳).

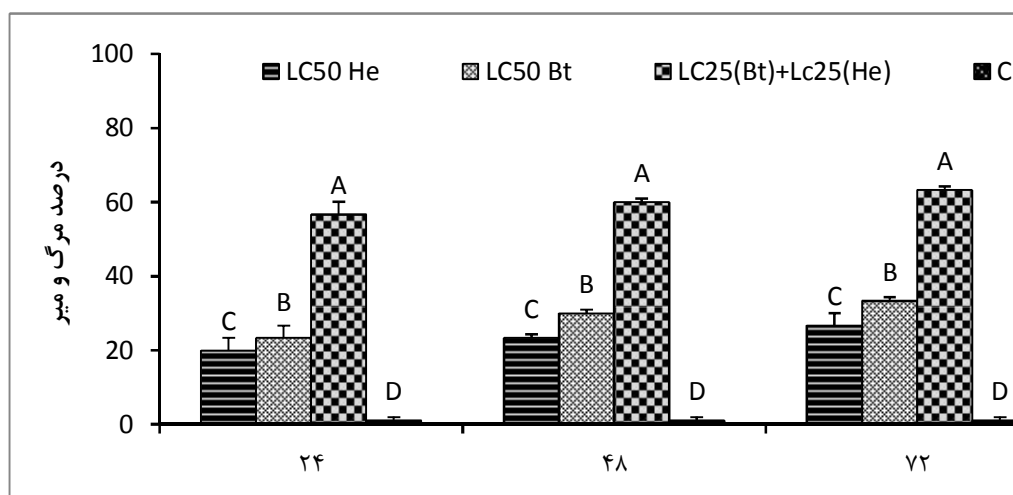
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده های مربوط به تلفات سن سوم شب پره ی مینوز گوجه فرنگی در اثر مخلوط باکتری، و حنا در زمان های ۲۴ ( $F_{3,11} = 15/75, P=0/001$ )، ۴۸ ( $F_{3,11} = 40/50, P=0/001$ ) و ۷۲ ساعت ( $F_{3,11} = 17/93, P=0/001$ ) پس از آزمایش نشان داد که با اطمینان ۹۵ درصد بین تیمارها اختلاف معنی داری وجود داشت. در مورد اثر غلظت ها، F محاسبه شده از



شکل ۱. نمودار مقایسه میانگین درصد مرگ و میر حاصل از تیمارهای مختلف در هر یک از زمان های مورد بررسی روی لارو سن یک شب پره ی مینوز گوجه فرنگی (مقایسه میانگین با آزمون توکی و حروف مشابه در نمودار در سطح احتمال آماری ۰/۰۵ اختلاف معنی داری ندارند). He: حنا، Bt: باکتری، C: کنترل



شکل ۲. نمودار مقایسه میانگین درصد مرگ و میر حاصل از تیمارهای مختلف در هر یک از زمان های مورد بررسی روی لارو سن دو شب پره ی مینوز گوجه فرنگی (مقایسه میانگین با آزمون توکی و حروف مشابه در نمودار در سطح احتمال آماری ۰/۰۵ اختلاف معنی داری ندارند). He: حنا، Bt: باکتری، C: کنترل



شکل ۳. نمودار مقایسه میانگین درصد مرگ و میر حاصل از تیمارهای مختلف در هر یک از زمان‌های مورد بررسی روی لارو سن سه شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی (مقایسه میانگین با آزمون توکی و حروف مشابه در نمودار در سطح احتمال آماری ۰/۰۵ اختلاف معنی داری ندارند). He: حنا، Bt: باکتری، C: کنترل

و همکاران، ۲۰۱۱). در ارزیابی میزان حساسیت سنین مختلف شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی به باکتری توسط دیگر محققین نیز، سن اول لاروی نسبت به این ترکیب بیولوژیک حساس تر بود (راسل و همکاران<sup>۴</sup>، ۲۰۰۰). بر اساس نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر، بیشترین تلفات روی لارو سن یک شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی در برابر *B. thuringiensis* بعد از ۷۲ ساعت ایجاد شده است. نتایج نشان داد میزان تلفات با گذشت زمان افزایش یافت. مولا و همکاران<sup>۵</sup> (۲۰۱۱) نیز در بررسی‌های خود به این نتیجه رسیدند که لارو سن اول شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی نسبت به باکتری *B. thuringiensis* بسیار حساس بود که با نتایج بررسی حاضر مطابقت نشان می‌دهد. شولر و همکاران<sup>۶</sup> در سال ۲۰۰۴ اظهار داشتند سمیت باکتری *B. thuringiensis* در روی (Say) در روی لاروهای سن سوم *Leptinotarsa decemlineata* با گذشت زمان

### بحث

بر اساس نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر، بیشترین تلفات روی لارو سن یک شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی در برابر *B. thuringiensis* بعد از ۷۲ ساعت ایجاد شد. نتایج نشان داد میزان تلفات با گذشت زمان افزایش یافت. ژائو و همکاران<sup>۱</sup> در سال ۱۹۹۸، در روی *Helicoverpa armigera* Hübner و منگ و همکاران<sup>۲</sup> در سال ۲۰۰۳، وو و همکاران<sup>۳</sup> در سال ۲۰۰۳ روی بید کلم *Pieris brassicae* L. باکتری *B. thuringiensis* را به صورت آزمایشگاهی و صحرائی به کار بردند و نتایج آن‌ها نشان داد که باکتری جمعیت لاروهای سن اول آفت را به طور معنی داری کاهش داد. همچنین در بررسی تاثیر باکتری *B. thuringiensis* روی لاروهای سنین مختلف *T. absoluta* لاروهای سن اول حساسیت بالاتری نسبت به سنین دیگر داشتند (گنزالز-کابرا

4- Rausell et al.,  
5- Molla et al.,  
6- Schuler et al.,

1. Zhao et al.,  
2. Meng et al.,  
3. Wu et al.,

هاشمی طسوجی و همکاران: تأثیر باکتری *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* در...

شود که اسپوره‌های رشد کرده درون معده به مقدار بیشتری وارد حفره‌ی عمومی بدن شده و تلفات لاروها را در اثر پدیده‌ی عفونت عمومی افزایش دهد (نامور و همکاران، ۱۳۸۲). همچنین تیمارهای باکتری و پودر حنا که به تنهایی اعمال شده‌اند با یکدیگر دارای اختلاف معنی‌داری بودند، این نتیجه می‌تواند به این دلیل باشد که پودر حنا به تنهایی تأثیر بسیار ناچیزی در کشندگی لاروها داشته است (صلاحی، ۱۳۹۱). قاسمی کهریزه و همکاران در سال ۱۳۸۳ تأثیر توأم پودر حنا و باکتری *B. thuringiensis* تحت عنوان جاکپاد ب.اف.سی<sup>۳</sup> را روی لاروهای سن سوم سوسک کلرادوی سیب‌زمینی بررسی کردند نتایج حاصله نشان‌دهنده‌ی اثر تشدیدکنندگی پودر حنا بود. نامور و همکاران در سال ۱۳۸۲ در جهت افزایش هر چه بیشتر کارایی باکتری *B. thuringiensis* اثر تشدیدکنندگی ترکیب شیمیایی کاربراندوم و پودر حنا را در اختلاط با *B. thuringiensis* به طور جداگانه روی لاروهای سن سوم آفت *Spodoptera exigua* Hubner مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان‌دهنده‌ی اثر فزاینده‌ی مخلوط‌های فوق در مرگ و میر لاروها بود. به طوری که تلفات لاروها پس از گذشت ۲۴ ساعت، از ۱۸ درصد در تیمار ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام باکتری، به ۸۲/۵ درصد در اثر مخلوط باکتری با کاربراندوم و ۹۰ درصد در اثر مخلوط کاربراندوم به اضافه پودر حنا و باکتری *B. thuringiensis* افزایش پیدا کرد. از طرفی دوره‌ی کمون باکتری در حالت مخلوط با پودر حنا و کاربراندوم به کمترین مقدار خود یعنی کمتر از سه روز کاهش پیدا کرد.

بنابراین، با توجه به گران قیمت بودن باکتری *B. thuringiensis* و فرآورده‌های تجاری آن می‌توان این ترکیبات بیولوژیک را همراه ترکیبات امن و بی‌خطر نظیر

افزایش یافت که این روند افزایش تلفات با گذشت زمان، با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. تحقیقات تابش‌ناک و همکاران<sup>۱</sup> در سال ۲۰۰۲ در روی لاروهای سن دوم کرم سرخ پنبه *Pectinophora gossypiell* (Saunders) نشان دادند که میزان تلفات با افزایش غلظت *B. thuringiensis* افزایش می‌یابد که نتایج تحقیق حاضر با نتایج پژوهشگران مذکور مطابقت دارد.

با توجه به نتایج محققین، حشره‌کش‌های سازگار با محیط زیست با منشاء بیولوژیکی و گیاهی به علت کارایی زیاد روی بال‌پولک‌داران آفت و ایمنی نسبتاً بالا برای پستانداران و دشمنان طبیعی می‌توانند جایگزین سموم شیمیایی گردند و با به‌کارگیری صحیح در اختلاط با هم و در مدیریت تلفیقی با باکتری *B. thuringiensis* موجب افزایش تأثیر شوند (برنایس و همکاران<sup>۲</sup>، ۱۹۸۰).

نتایج حاصل از تأثیر تیمارهای مختلف مورد آزمایش بر روی لاروهای سنین اول تا سوم شب‌پره‌ی مینوز گوجه-فرنگی نشان داد که مرگ و میر حاصل از اختلاط باکتری *B. thuringiensis* و پودر حنا بیشتر از تلفات حاصل از تأثیر هر یک از آن‌ها به تنهایی بود. نتایج بررسی تأثیر ترکیب باکتری *B. thuringiensis* و پودر حنا روی لاروهای سن سوم پروانه‌ی سفیده‌ی بزرگ کلم *Pieris brassicae* L. نشان داد درصد مرگ و میر حاصل از اختلاط LC<sub>25</sub> پودر حنا و LC<sub>25</sub> باکتری *B. thuringiensis* بیشتر از تلفات حاصل از LC<sub>50</sub> پودر حنا و LC<sub>50</sub> باکتری به تنهایی بود (صلاحی، ۱۳۹۱). پودر حنا به دلیل داشتن مقدار زیادی از تانن‌ها سبب بروز حالت افزایشی در اختلاط با باکتری *B. thuringiensis* می‌شود، زیرا تانن‌های موجود در پودر حنا می‌تواند باعث بروز زخم‌های ریزی در سلول‌های اپیتلیوم روده‌ی میانی حشرات شوند. این وضعیت سبب می-

1- Tabashnik et al.,

2- Bernays et al.



نمی‌توان انتظار داشت که کنترل سریع صورت بگیرد. به همین منظور برای افزایش اثر حشره‌کش‌هایی نظیر *B. thuringiensis* می‌توان آن‌ها را با مواد تشدیدکننده‌ای مانند حنا که ارزان و تولید داخل و بی‌ضرر برای محیط و گیاهان است مخلوط نمود و باعث افزایش اثر کشندگی و نیز کاهش مقدار سم مصرفی شد.

حنا و سایر ترکیبات به کار برد و موجب افزایش تاثیر و کاهش در میزان مصرف آن‌ها گردید.

### نتیجه‌گیری

کاربرد مکرر حشره‌کش‌ها همیشه خطر باقی‌مانده سموم را به همراه دارد. بنابراین می‌توان بر روی گوجه-فرنگی که مصرف تازه‌خوری دارد، از حشره‌کش‌های بیولوژیک که خطر کمتری برای مصرف‌کنندگان دارد، استفاده کرد. اما این ترکیبات سمیت اولیه پایینی داشته و

### منابع

- آینه‌چی، ی. ۱۳۶۵. مفردات پزشکی و گیاهان دارویی ایران. انتشارات دانشگاه تهران. ۱۱۸۷ ص.
- صفوی، س. ا. و صفوی، س. م. ۱۳۹۰. شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی (شکل‌شناسی، زیست‌شناسی، روش‌های ردیابی و مدیریت). انتشارات خروش تهران. چاپ اول، ۹۶ ص.
- صلاحی، ف. ۱۳۹۱. بررسی اثرات متقابل چند عامل با منشأ طبیعی در اختلاط با باکتری *Bacillus thuringiensis* علیه سفیده‌ی بزرگ کلم (*Pieris brassicae* L.). پایان‌نامه کارشناسی ارشد حشره‌شناسی. دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه مراغه. ش ۱۹، ۱۰۱ ص.
- قاسمی کهریزه، ا، صفرعلیزاده، م. ح. و پورمیرزا، ع. ا. ۱۳۸۳. تاثیر باکتری *B. thuringiensis* var. *kurstaki* روی سنین مختلف لاروی سوسک کلرادوی سیب‌زمینی *Leptinotarsa decemlineata* و نقش سینرژست حنا در افزایش کارایی آن. مجله علوم کشاورزی ایران، ۳۴ (۳): ۵۴۷-۵۳۹.
- مراد اسحاقی، ج. و پورمیرزا، ع. ا. ۱۳۵۳. بررسی مقاومت سنین مختلف لارو شب‌پره هندی *Plodia interpunctella* در برابر حشره‌کش میکروبی *Bacillus thuringiensis*. نامه انجمن حشره‌شناسان ایران، ۲ (۱): ۳۴-۲۵.
- معینی نقده، ا. ۱۳۸۲. بررسی حساسیت مراحل مختلف شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی (Meyrick) (Lep., Gelechiidae) *Tuta absoluta* به چند حشره‌کش شیمیایی و بیورشنال. پایان‌نامه کارشناسی ارشد حشره‌شناسی. دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه رازی. ۱۱۶ ص.
- نامور، پ، صفرعلیزاده، م. ح. و پورمیرزا، ع. ا. ۱۳۸۲. بررسی اثر سیزژیستی کاربراندوم و مخلوط پودر حنا و کاربراندوم با *B.t* روی لاروهای سن سوم برگ‌خوار چغندر قند *Spodoptera exigua* Hubner. مجله علمی پژوهشی علوم کشاورزی، ۹ (۱): ۵۳-۶۲.

8. Baldin, E. L., Vendramim, J. D., and Lourencao, A. L. 2007. Interaction between resistant tomato genotypes and plant extracts on *Bemisia tabaci* (GENN.) biotype B. *Journal of Agricultural and Science*, 64 (5): 476-481.
9. Bernays, E. A., Chamberlain, D., and McCarthy, P. 1980. The differential effects of ingested tannic acid on different species of Acridoidea. *Entomological Experimental et Applicata*, 28: 158-166.
10. Bhandari, K., Sood, P., Mehta, P.K., Choudhary, A., and Prabhakar, C.S. 2009. Integrative model for binding of *Bacillus thuringiensis* toxins in susceptible and resistant larvae of the *Plutella xylostella* (Lep. Plutellidae). *Journal of Agricultural and Science*, 35: 1413-1419.
11. Caltagrone L.E., Getz W., and Meals, D.W. 1983. Head capsule width as an index of age in larvae of navel orange worm, *Amyelois transitella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Environmental Entomology*, 12: 219-221.
12. Desneux, N., E. Wajnberg, K.A. Wyckhuys, G. Burgio, S. Arpaia, C.A. Narvaez-Vasquez, J. GonzalezCabrera, D.C. Ruescas, E. Tabone, and J. Vasquez. 2010. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. *Journal of Pest Science*, 83: 197-215.
13. Garzia, T.G., Siscaro, G., Biondi, A., and Zappala, L. 2011. Distribution and damage of *Tuta absoluta*, an exotic invasive pest from South America. In: International symposium on management of *Tuta absoluta* (Tomato borer) Proceeding. Agadir, Morocco, November, 16-18.
14. Gonzalez-Cabrera, J., Molla, O., Monton, H., and Urbaneja, A. 2011. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) in controlling the tomato borer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *International Organization of Biological Control (IOBC)*, 56: 71-80.
15. Khadir, A.A., Gaffar, S. A., Maha, S, Nada, Taman, A.A. and Fathia, A, S. 2013. New approaches for controlling tomato leaf miner in tomato fields in Egypt. *Egyptian Journal of Agricultural Research*, 91 (1), 335-348.
16. Meng, F.X., Shen, J.L. and Zhu, Z.P. 2003. Temporal- spatial variation in efficacy of *B. thuringiensis* cotton leaves against *Helicoverpa armigera* (Hubner) and effect of weather conditions. *Acta Entomologica Sinica*, 46: 299-304.
17. Mladenova, R., and Shtereva, D. 2009. Pesticide residues in apples grown under a conventional and integrated pest management system. *Journal Food Additives and Contaminants-Part A: Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 26: 854-858.

18. Molla, O., Gonzalez-Cabrera, J., and Urbaneja, A. 2011. The combined use of *Bacillus thuringiensis* and *Nesidio coristenuis* against the tomato borer *Tuta absoluta*. *Bio-Control*, 56: 883-891.
19. Rausell, C., Martı́nez-Ramı́rez, A.C., Garcı́a-Robles, I., and Real, M.D. 2000. A binding site for *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin is lost during larval development in two forest pests. *Applied and Environmental Microbiology*, 66: 1553–1558.
20. Sannino, L., and Espinosa, B. 2010. *Tuta absoluta*. Guida alla conoscenza e recenti acquisizioni per unacorretta, Verona, Italy, L'Informatore Agrario 66(46) Supplement 1: 1-113.
21. Sayed, A.H., Haward, R., Herrero, S., Ferre, J., and Wright, D.J. 2000. Genetic and biochemical approach for characterization of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry 1Ac in a field population of the diamond back moth, *Plutella xylostella*. *Applied and Environmental Microbiology*, 66:1509-1516.
22. Schuler, T.H., Denholm, I., Clark, S.J., Stewart, C.N., and Poppy, G.M. 2004. Effects of *Bacillus thuringiensis* plants on the development and survival of the parasitoid *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae) in susceptible and *Bacillus thuringiensis* resistant larvae of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Insect Physiology*, 50: 435-443.
23. Tabashnik, B.E., Dennehy, T.J., Sims, M.A., Larkin, K., Head, G.P., Moar, W.J., and Carriere, Y. 2002. Control of resistant pink bollworm (*Pectinophora gossypiella*) by transgenic cotton that produces *Bacillus thuringiensis* toxin Cry2Ab. *Applied and Environmental Microbiology*, 68: 3790-3794.
24. Wu, K., Guo, Y., Lv, N., Greenplate, J.T., and Deaton, R. 2003. Efficacy of transgenic cotton containing a Cry1Ac gene from *Bacillus thuringiensis* against *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in northern China. *Journal of Economic Entomology*, 96: 1322–1328.
25. Zhao, J.Z., Zhao, K.J., Lu, M.G., Fan, X.L., and Guo, S.D. 1998. Interaction between transgenic *Bacillus thuringiensis* cotton and *Helicoverpa armigera* in North China. *Scientia Agricultural Sinica*, 31: 1-6.