

تأثیر باکتری *Bacillus thuringiensis* و ویروس پلی هدرهسته‌ای، اسپینوزاد و امامکتین روی لارو سن سوم پروانه برگ‌خوار چغندر قند *Spodoptera exigua* (Lep.:Noctuidae) در شرایط آزمایشگاهی و صحرایی

مه‌سا عبدالله زاده بوانی^۱، شهرام آرمیده*^۱ و عباس حسین زاده^۲

۱- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ۲- گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مهاباد

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱/۲۴)

چکیده

پروانه برگ‌خوار چغندر قند (*Spodoptera exigua* Hübner (Lep.: Noctuidae) یکی از آفات مهم چغندر قند (*Beta vulgaris* L.) می‌باشد، با توجه به مشکلات ناشی از مصرف سموم شیمیایی علیه این آفت، استفاده از حشره کش‌های زیست پایه در برنامه مدیریت تلفیقی آن قابل توصیه می‌باشد. لذا در این تحقیق، تأثیر باکتری *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*، ویروس *SeNPV*، اسپینوزاد و امامکتین روی لاروهای سن سوم پروانه برگ‌خوار چغندر قند در شرایط آزمایشگاهی و صحرایی مورد بررسی قرار گرفت. در شرایط آزمایشگاهی، شاخص LC_{50} به وسیله تجزیه پروبیت حاصل از تأثیر غلظت‌های مختلف باکتری، ویروس، اسپینوزاد و امامکتین بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت و همچنین ارزیابی تأثیر هر ترکیب در شرایط صحرایی با استفاده از روش هندرسون-تیلتون و آنالیز GLM-U بعد از ۱، ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز محاسبه شد. نتایج تجزیه پروبیت حاصل از غلظت‌های مختلف باکتری، اسپینوزاد و امامکتین بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت به ترتیب (۳۵۸۸/۵۲، ۱/۲۵، ۱/۸۹)، (۱۹۵۴/۸۷، ۰/۹۵، ۱/۳۳) و (۱۸۴۳/۲۵، ۰/۷۸، ۱/۲۰) میلی‌گرم در لیتر و برای ویروس (۵/۳۴×۱۰^۵، ۴/۳۱×۱۰^۵ و ۴/۱۴×۱۰^۵) OBs/lm به دست آمد. در بررسی تأثیر تیمارهای باکتری، ویروس، اسپینوزاد و امامکتین در شرایط صحرایی بعد از ۲۱ روز بیشترین و کمترین تلفات به ترتیب مربوط به تیمار امامکتین (۶۱/۳۳) و ویروس (۳۲/۰۰) گزارش شد. در ارزیابی خسارت، بیشترین خسارت مربوط به تیمار ویروس بعد از شاهد و کمترین در تیمار امامکتین و سپس اسپینوزاد مشاهده شد. بر اساس زیست‌سنجی آزمایشگاهی و صحرایی سموم اسپینوزاد و امامکتین، موثرترین ترکیبات در کنترل این آفت و ویروس و باکتری در مدیریت تلفیقی قابل توصیه می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: برگ‌خوار چغندر قند، مهار زیستی، آفت کش زیستی، خسارت

مقدمه

پروانه برگخوار چغندر قند *Spodoptera exigua* Hübner یک آفت پلی‌فاژ چغندر قند در ایران و بسیاری از کشورهای دنیاست که کشاورزان هر ساله برای کنترل آن اقدام به چندین نوبت سمپاشی می‌کنند (Goodarzi et al., 2015). بیشترین خسارت آن از مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری گزارش شده و قاره آسیا مناسب‌ترین منطقه برای گسترش جمعیت این حشره ذکر شده است (Kheyri, 1999). این آفت علاوه بر کاهش مستقیم محصول افزایش هزینه‌های تولید با کاربرد مکرر حشره‌کش‌ها سبب مرگ دشمنان طبیعی، آلودگی محیط زیست و باقیمانده سم در محصول را موجب می‌شود. این آفت از بیشتر استان‌های کشور به‌ویژه استان آذربایجان غربی گزارش شده است (Darsouei et al., 2018). افزایش آگاهی‌ها از زیان‌های ناشی از مصرف بی‌رویه آفت‌کش‌های شیمیایی منجر به افزایش استفاده از موارد جایگزین این آفت‌کش‌ها شده است. استفاده از حشره‌کش‌های امن با نحوه اثر متفاوت و احتمال کاهش بروز مقاومت، مثل ترکیبات بیولوژیک و تنظیم‌کننده‌های رشد حشرات، در برنامه‌های مدیریت تلفیقی این آفت از جایگاه ویژه‌ای برخوردار است (Sheikhzadeh, 2014). از عوامل مهم کنترل بیولوژیک می‌توان به ویروس‌ها، باکتری‌ها، نامتدها و قارچ‌های بیمارگر حشرات اشاره کرد (Tanada and Kaya, 1993). حساسیت لاروهای کارادرینا به توکسین‌های حاصل از باکتری *Bacillus thuringiensis* توسط محققین علم آسیب‌شناسی حشرات به اثبات رسیده است (Hernandez-Martinez, 2008). نتایج حاصل از تحقیقات انجام شده در چین نشان داد که کریستال پروتئین جدا شده از باکتری *B. thuringiensis* به آلکالین فسفاتاز موجود در معده میانی حشره متصل شده و موجب سمیت و مرگ میزبان می‌شود (Yuana et al., 2017). اثر بخشی ویروس چند وجهی *SeNPV* روی پروانه برگخوار چغندر قند موجب شده که این ویروس به عنوان عامل کنترل بیولوژیک در گلخانه‌های اسپانیا معرفی و مورد استفاده قرار

گیرد (Lasa et al., 2007). اثرات کشندگی ویروس چندوجهی جدا شده از پروانه برگخوار چغندر قند در شیگای ژاپن بررسی و به‌عنوان روشی برای مبارزه با این آفت معرفی شده است (Takatsuka and Kunimi, 2002). تحقیقات انجام گرفته در گلخانه‌های هلند روی کنترل بیولوژیک پروانه برگخوار چغندر قند نشان داد که این ویروس قابلیت کنترل این آفت را در سیستم گلخانه‌ای دارد (Felix, 2002). تحقیقات به عمل آمده توسط محققان اثر بخشی ویروس پلی‌هدر را روی لارو پروانه برگخوار چغندر قند نشان می‌دهد (Senthil-Nathan and Kalaivani, 2005; Cai et al., 2010). امامکتین بنزوات حشره‌کش زیست پایه با منشاء طبیعی، تماسی با سازوکار اثر عصبی از گروه گلیکوزیدها بوده و از باکتری *Streptomyce avermitilis* به دست می‌آید (Ishaaya et al., 2002; Reddy, 2013). اسپینوزاد نیز یک حشره-کش میکروبی است که ماده فعال آن از یک نو اکتینومایست خاکزی به نام *Saccharopolyspora spinosa* Yao and Mertz به دست می‌آید که از طریق تماسی و گوارشی روی سیستم عصبی حشرات تأثیر می‌گذارد و باعث فعالیت گیرنده‌های نیکوتینی استیل کولین و گاما آمینو بوتیریک اسید می‌شود که در نتیجه آن تغذیه متوقف شده، مایعات بدن کاهش یافته و حشره فلج می‌شود. این حشره‌کش روی گروه وسیعی از آفات به کار می‌رود (Cleveland et al., 2001). سمیت بالای اسپینوزاد روی لاروهای بال پولکداران اثبات شده است (Wing et al., 2000; Cisneros et al., 2002). اثرات کشندگی ویروس اسپینوزاد روی پروانه برگخوار چغندر قند بررسی شده و به عنوان ترکیب موثر در کنترل جمعیت این آفت معرفی شده است (Wang et al., 2013). اثرات امامکتین در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه‌ای روی آفات *S. exigua*, *Ageratum houstonianum* Mill و *Frankliniella occidentalis* (Pergande) و *Helicoverpa armigera* Hübner بررسی و این ترکیب به عنوان ترکیب موثر در کنترل آنها معرفی شده

ترکیبات مورد استفاده در تحقیق

باکتری *B. thuringiensis* زیرگونه *kurstaki* (Btk) با نام تجاری Belthiral به صورت پودر و تابل، ۳۲۰۰۰ IL/mg ساخت کارخانه Probelete S.A.CTRA، مادرید اسپانیا و ویروس *SeNPV* با غلظت 5×10^8 OBs/L تهیه شده از موسسه تحقیقات گیاهپزشکی و امامکین بنزوات (پروکلیم) ۵٪ ساخت شرکت Syngenta سوئیس و اسپینوزاد ساخت شرکت Dow Agrosciences با محتوای Spinosyn A و Spinosyn D ۰/۰۲٪ استفاده شد.

پرورش میزبان

برای انجام زیست‌سنجی در شرایط آزمایشگاهی، لاروهای پروانه برگخوار چغندرقد روی غذای مصنوعی متشکل از لویا چیتی، آگار، مخمر آبجوی خشک، متیل پراهایدروکسی بنزوات، اسیدسوربیک، اسیدآسکوربیک، فرمالدئید و آب مقطر در دمای 26 ± 2 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی 57 ± 3 با ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی پرورش یافت (Singh and Moore, 2005). سپس لاروسن سوم با اندازه‌گیری عرض کپسول تفکیک و در آزمایش به کار برده شد (Aramideh et al., 2005).

تعیین کشندگی (LC₅₀) در شرایط آزمایشگاهی

به منظور تعیین میزان کشندگی (LC₅₀) باکتری *B. thuringiensis*، اسپینوزاد، امامکین و ویروس *SeNPV* روی سن سوم لاروی، ابتدا در یک سری آزمایش‌های مقدماتی غلظت‌هایی با بیشترین و کمترین تلفات (۲۰ الی ۸۰ درصد) تعیین، سپس در فاصله این دو غلظت، سه غلظت به روش لگاریتمی مشخص شد (Pourmirza, 2005). بدین ترتیب پنج غلظت به همراه یک غلظت آب مقطر و هر غلظت در سه تکرار و تمام غلظت‌ها به همراه یک درصد بخش‌کننده ان یو فیلم-۱۷ روی برگ چغندرقد‌های کشت شده در گلدان که به‌خوبی توسط ظروف بستنی یک کیلویی به ابعاد $5 \times 8 \times 10$ سانتی‌متر محصور شده بود، به وسیله سمپاش دستی پاشیده شد و تعداد ۱۰ عدد لارو سن

است (Ishaaya et al., 2002). معدلی و همکاران (Moadeli et al., 2011) اثر اسپینوزاد و ایندوکساکارپ را روی لاروهای سن اول پروانه برگخوار چغندرقد در شرایط آزمایشگاهی بررسی کردند و به این نتیجه رسیدند که اسپینوزاد اثر کشندگی مطلوبی بعد از ایندوکساکارپ دارد. معقولی‌فرد و همکاران (Magholifard et al., 2018) اثر بخشی سه نوع ویروس پلی‌هدر را روی مراحل زیستی پروانه برگخوار پنبه *S. littoralis* گزارش کردند. هاشمی طسوجی و همکاران (Hashemitassuji et al., 2015) اثر اسپینوزاد و باکتری باسیلوس تورینجینسیس را روی سه سن لاروی مینوز برگخوار گوجه‌فرنگی *Tuta absoluta* بررسی کردند که طبق نتایج هر دو، ترکیب دارای کشندگی روی این آفت بوده، هر چند سم اسپینوزاد اثر کشندگی بهتری نسبت به باکتری باسیلوس تورینجینسیس داشت. در بررسی پارسایان و همکاران (Parsaeyan et al., 2013) در مورد سمیت امامکین بنزوات و سایبرترین روی برگخوار پنبه *H. armigera* نتایج نشان داد که امامکین بنزوات بیشتر از سایبرترین موجب کاهش باروری و تفریح تخم می‌شود.

در این بررسی نیز به منظور کاهش مصرف سموم شیمیایی و اثرات مخرب بر محیط زیست، سلامت انسان و دشمنان طبیعی آفات و همچنین انتخاب یک سم زیست‌پایه به منظور استفاده در مدیریت تلفیقی این آفت، تاثیر باکتری *B. thuringiensis* subsp. *kurstak*، ویروس *SeNPV*، اسپینوزاد و امامکین روی لاروهای سن سوم پروانه برگخوار چغندرقد در شرایط آزمایشگاهی و صحرائی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

بخش آزمایشگاهی تحقیق حاضر در دانشگاه ارومیه، دانشکده کشاورزی و بخش صحرائی آن در مزرعه چغندرقد با واریته توکان واقع در روستای نوشین شهر از توابع شهرستان ارومیه با طول و عرض جغرافیایی $37/732962$ و $45/057320$ در سال ۱۳۹۷ انجام شد.

1. Nu film-17

میزان خسارت آفت در مزرعه ۲۱ روز بعد از تیمار شامل تعداد بوته‌های آسیب دیده و درصد آلودگی توسط لاروهای آفت در هر بلوک و تیمار با استفاده از معادله زیر محاسبه و مقایسه میانگین انجام شد (معادله ۴).

$$100 \times \left(\frac{\text{خسارت تیمار} - \text{خسارت تیمار شاهد}}{\text{خسارت تیمار شاهد}} \right) = \text{خسارت تیمار}$$

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تیمارهای آزمایشگاهی در قالب کرت کاملاً تصادفی و تیمارهای صحرایی در قالب بلوک‌های کامل تصادفی تجزیه و تحلیل شد. به منظور تعیین کشندگی ترکیبات در آزمایشگاه، داده‌های حاصل از مرگ و میر لارو سن سوم بعد از اصلاح با معادله آبوت (Abbott, 1925) به روش تجزیه پروبیت آنالیز و مقادیر LC_{50} محاسبه شد (معادله ۵).

$$100 \times \frac{\text{تلفات شاهد} - \text{تلفات تیمار}}{\text{تلفات شاهد}} = \text{درصد مرگ و میر}$$

برای تجزیه و تحلیل آزمایش‌های صحرایی بعد از اصلاح مرگ و میر، داده‌ها بر اساس تلفات تیمار شاهد با استفاده از معادله هندرسون-تیلتون درصد کارایی عوامل و همچنین به منظور مقایسه خسارت آفت در اثر تیمارهای مختلف و معنی‌دار بودن تیمارها و مقایسه میانگین به روش $GLM-U^3$ با استفاده از آزمون توکی توسط نرم‌افزار SPSS ver. 22 انجام شد (Talebi-Jahromi, 2008).

نتایج

تعیین کشندگی LC_{50}

تجزیه پروبیت حاصل از تاثیر غلظت‌های مختلف باکتری *B. thuringiensis*، اسپینوزاد، ویروس *SeNPV* و امامکتین بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت روی سن سوم لاروی پروانه برگ‌خوار چغندر قند مطابق جدول ۱ حاصل شد. با توجه به سمیت نسبی و شاخص سمیت بر پایه LC_{50} حاصل از ترکیبات روی سن سوم لاروی پروانه برگ‌خوار چغندر قند بعد از ۲۴ ساعت نتایج نشان داد که اسپینوزاد دارای سمیت بیشتری نسبت به دیگر ترکیبات می‌باشد. در ۴۸ و ۷۲ ساعت نیز نتایج مشابه به دست آمد (جدول ۱).

سوم در هر تکرار رهاسازی شدند. نتایج حاصل از تاثیر غلظت‌های مختلف هر ترکیب بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت یادداشت‌برداری شد و با برنامه پروبیت تجزیه و تحلیل توسط معادله ۱ و ۲ شاخص سمیت و سمیت نسبی به دست آمد: (Sun, 1950)

$$\text{سمیت نسبی} = \left(\frac{\text{LC50 کم اثرترین سم}}{\text{LC50 ترکیب دیگر}} \right)$$

$$100 \times \left(\frac{\text{LC50 قوی‌ترین سم}}{\text{LC50 ترکیب دیگر}} \right) = \text{شاخص سمیت}$$

آزمایش‌های صحرایی

به منظور انجام آزمایش‌های صحرایی سه مزرعه چغندر قند به فواصل یک کیلومتر از همدیگر بعد از بلوک-بندی به ابعاد 10×40 متر مربع به تعداد ۵ تیمار شامل باکتری *B. thuringiensis*، اسپینوزاد، امامکتین، ویروس *SeNPV* و شاهد، هر تیمار در سه تکرار در قالب طرح بلوک کامل تصادفی انتخاب شد. جمعیت لاروهای زنده سن سوم پروانه برگ‌خوار چغندر قند در تمام بلوک‌ها با نمونه‌برداری تعیین شد. سپس محلول‌های ترکیبات تهیه شده و به روش اسپری پاشی با غلظت‌های توصیه شده اسپینوزاد ۲۵۰ میلی‌لیتر در هکتار، امامکتین ۲۰۰ گرم در هکتار، ویروس 10^8 OBs/L و باکتری ۲۰ IBU/ha به کار برده شد و بعد از ۱، ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز از محلول پاشی (DAT) لاروهای زنده به روش تصادفی در تمامی بلوک‌ها تخمین زده شد. برای تعیین درصد کارایی اصلاح شده در کاربرد ترکیبات با توجه به ناهمگن بودن جمعیت در تیمارهای مختلف بررسی و برای شمارش جمعیت افراد از معادله هندرسون-تیلتون استفاده شد (Talebi-Jahromi, 2008) (معادله ۳).

$$1 - \left(\frac{\text{TaCb}}{\text{CaTb}} \right) \times 100 = \text{درصد کارایی}$$

C_a و C_b = میزان آلودگی در بلوک‌های شاهد قبل و بعد از محلول پاشی
 T_a و T_b = میزان آلودگی در بلوک‌های تیمار شده قبل و بعد از محلول پاشی

ارزیابی خسارت

3. General Linear Model-Univariate

2. Day After Treatments

جدول ۱- اثر کشندگی (LC_{50}) باکتری *Bacillus thuringiensis*، ویروس *SeNPV*، امامکتین و اسپینوزاد بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲

ساعت روی سن سوم لاروی پروانه برگخوار چغندر قند

Table 1. Lethal effect (LC_{50}) of *Bacillus thuringiensis*, *SeNPV*, Emamectin and Spinosad on the 3rd larval stage of *Spodoptera exigua* after 24, 48 and 72 hours

Treatments	Dosages	Time (hr.)	Slop± SE	Interseps+5	X ² (df)	LC ₅₀ (95% CLs)	Toxicity index (%)	Relative Potency
<i>Btk</i>	520	24	2.17±0.63	-7.52+5	0.14(3)	3588.52 (2458.54-12707.66)	0.034	1
	990							
	1460	48	3.33±0.64	-10.96+5	0.25(3)	1954.87 (1664.95-2480.60)	0.048	1
	1930							
	2400							
control	72	2.25±0.5	-7.35+5	3.82(3)	1843.25 (1478.51-2628.56)	0.042	1	
Spinosad	0.67	24	3.98±0.81	-0.39+5	1.60(3)	1.25 (1.10-1.46)	100	2870.816
	0.93							
	1.19	48	4.77±0.83	0.09+5	2.60(3)	0.95 (0.83-1.06)	100	2057.757
	1.45							
	1.71							
control	72	4.68±0.88	0.49+5	7.41(3)	0.78 (0.006-1.057)	100	2363.141	
<i>SeNPV</i>	2.30	24	5.00±1.12	-3.63+5	0.4(3)	5.34 (4.70-6.90)	23.408	672.007
	3.05							
	3.80	48	4.33±0.91	-2.75+5	1.70(3)	4.31 (3.84-5.09)	22.0417	453.566
	4.55							
	5.30							
control	72	3.78±0.88	-2.33+5	0.82(3)	4.14 (3.64-4.96)	18.84	445.229	
Emamectin	1.05	24	3.93±0.99	-1.1+5	0.39(3)	1.89 (1.67-2.38)	66.1	1898.687
	1.34							
	1.63	48	3.94±0.97	-0.5+5	3.64(3)	1.33 (1.08-1.51)	71.42	1469.827
	1.92							
	2.20							
control	72	5.09±1.05	-0.41+5	5.37(3)	1.20 (0.22-1.50)	65	1536.041	

mg/L and OBS/lm× 10⁵ Toxicity Index and Relative Potency based on LC₅₀

آزمایش‌های صحرائی

تجزیه واریانس حاصل از تاثیر باکتری *B.*

thuringiensis، اسپینوزاد، ویروس *SeNPV* و امامکتین در

شرایط صحرائی در ارزیابی ۱، ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز بعد از

محلول پاشی به ترتیب با ($F_{2, 6}=0.750$; Sig=0.512).

($F_{2, 6}=2.574$; Sig=0.156) ($F_{2, 6}=0.750$; Sig=0.512)

($F_{2, 6}=0.450$; Sig=0.658) و ($F_{2, 6}=4.294$; Sig=0.070)

عدم معنی‌داری بلوک و فرض همگنی واریانس‌ها محقق

شد ($P=0.05$).

با توجه به معنی‌داری تیمارها مقایسه میانگین تاثیر تیمارها

روی لارو سن سوم پروانه برگخوار چغندر قند با استفاده از

آزمون توکی در سطح احتمال ۹۵ درصد مطابق جدول ۲

حاصل شد. در تمام روزهای بعد از محلول پاشی، بیشترین و

کمترین تلفات روی لارو سن سوم مربوط به تیمارهای

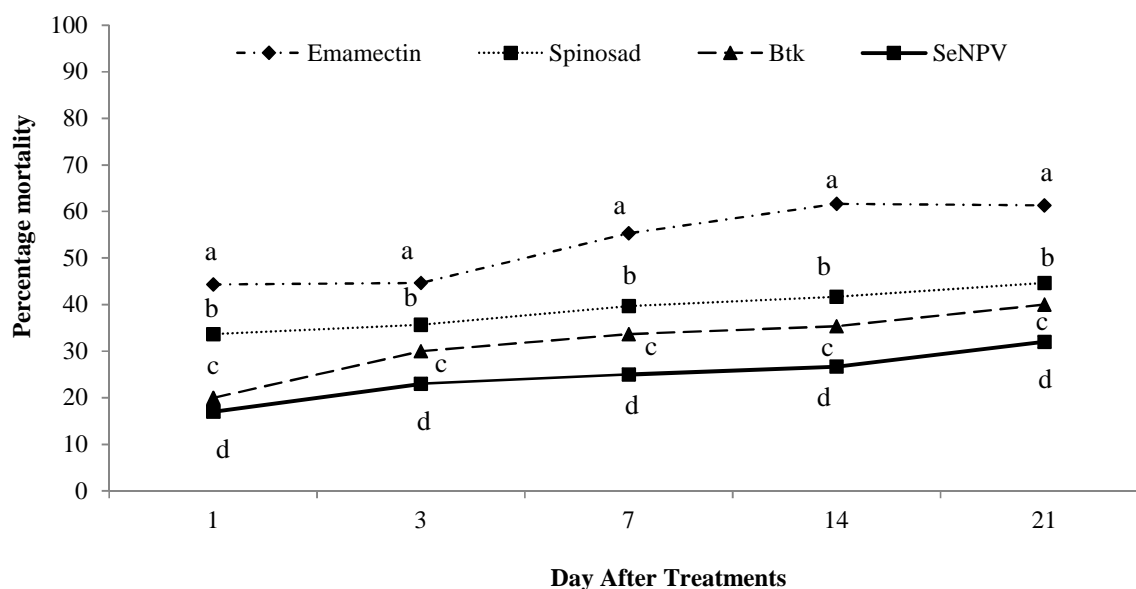
امامکتین و ویروس می‌باشد (شکل ۱).

جدول ۲- مقایسه میانگین تاثیر تیمارها روی لارو سن سوم پروانه برگ‌خوار چغندر قند با استفاده از آزمون توکی بعد از ۱، ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز در شرایط صحرایی (P=0.05)

Table 2. Mean comparison of treatments against 3rd larval instar of *Spodoptera exigua* by Tukey test at one, three, seven, fourteen and twenty-one DAT under field conditions (P=0.05)

Treatments	Recommen ded rate	Percentage (DAT) day after treatment± SE					Average
		1	3	7	14	21	
Emamectin	200 gr/ha	44.33±0.66 ^a	44.67±0.77 ^a	55.30±1.20 ^a	61.67±0.69 ^a	61.33±0.86 ^a	53.46
Spinosad	250ml/ha	33.67±0.66 ^b	35.67±0.77 ^b	39.67±1.20 ^b	41.67±0.69 ^b	44.67±0.86 ^b	39.07
Bt	20 IBU/ha	20.00±0.66 ^c	30.00±0.77 ^c	33.67±1.20 ^c	35.33±0.69 ^c	40.00±0.86 ^c	31.80
SeNPV	OBs/L5×10 ⁸	17.00±0.66 ^d	23.00±0.77 ^d	25.00±1.20 ^d	26.67±0.69 ^d	32.00±0.86 ^d	24.73
F _{3,6}	-	420.936	141.625	706.910	469.176	206.950	-
Sig	-	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	-

Means with different letters in each column (DAT) are significantly different at 5% level (Tukey test).



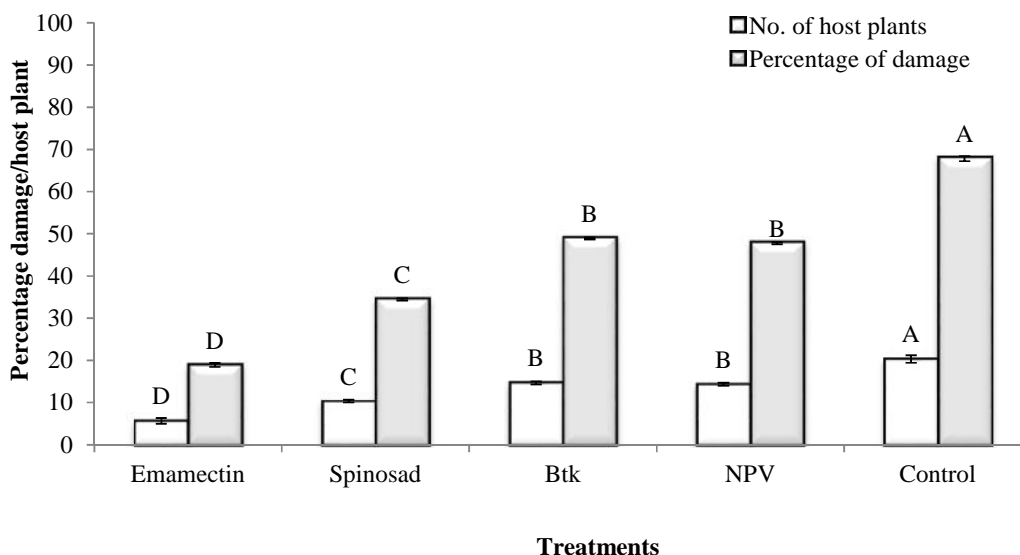
شکل ۱- درصد تلفات لارو سن سوم پروانه برگ‌خوار چغندر قند توسط تیمارهای مختلف طی ۱، ۳، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز بعد از محلول پاشی

Figure 1. Percentage mortality of third larval instar of *Spodoptera exigua* by different treatments during one, three, seven, fourteen and twenty days after spraying

تیمارها با ($F_{2, 8}=137.2$; Sig=0.001; P=0.05) و ($F_{2, 8}=137.54$; Sig=0.001; P=0.05) مشاهده شد. مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۹۵ درصد مطابق شکل ۲ بود. با توجه به میانگین تیمارها، بیشترین خسارت در تیمار کنترل و کمترین خسارت در تیمار امامکتین مشاهده شد.

ارزیابی خسارت و مقایسه میانگین تیمارها

تجزیه واریانس حاصل از تاثیر تیمارها روی تعداد بوته‌های آلوده و درصد خسارت بعد از ۲۱ روز، عدم معنی‌داری در بلوک در هر دو صفت تعداد بوته و برگ آلوده به ترتیب با ($F_{2, 8}=3.179$; Sig=0.096; P=0.05) و ($F_{2, 8}=3.179$; Sig=0.096; P=0.05) و معنی‌داری



شکل ۲- مقایسه میانگین تعداد بوته آلوده و درصد خسارت پروانه برگخوار چغندر قند به وسیله تیمارهای مختلف بعد از ۲۱ روز در سطح احتمال ۹۵٪ با آزمون توکی. ستون‌های باحروف یکسان اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

Figure 2. Mean comparison of the number of infested host plants and percentage of damage of *Spodoptera exigua* by different treatments after 21 days with 95% probability level by Tukey test. The columns with the same letters indicate non-significant difference between treatments

میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد که تقریباً ۱۰ برابر میزان حاصل از این تحقیق می‌باشد که این تفاوت می‌تواند ناشی از شرایط محیطی، سن لاروی یا نوع فرمولاسیون باشد. در مطالعه الطاف صبری (Altaf Sabri *et al.*, 2016) ارزیابی کشندگی آفت‌کش‌های متوکسی فنوزاید، اسپینوزاد، امامکتین بنزوات، ایندوکساکارپ و لوفنورون در شرایط آزمایشگاهی روی لارو سن سوم پروانه برگخوار، امامکتین از لحاظ کشندگی بعد از اسپینوزاد قرار گرفت که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. سانتیس و همکاران (Santis *et al.*, 2012) در بررسی تاثیر سمیت اسپینوزاد روی مراحل لاروی پروانه برگخوار چغندر قند به این نتیجه رسیدند که لارو سن سوم حساس‌ترین سن لاروی به این ترکیب می‌باشد. معدلی و همکاران (Moadeli *et al.*, 2014) اثرات کشندگی پروکسی‌فن، اسپینوزاد و اندوکسی‌کارپ و زیرکشندگی پیروکسی‌فن را روی لارو سن اول پروانه برگخوار چغندر قند در آزمایشگاه مورد بررسی قرار دادند که مقدار LC_{50} سم اسپینوزاد بعد از ۴۸ ساعت معادل ۰/۰۹۶ محاسبه شد و در آزمایش حاضر روی

بحث

پروانه برگخوار چغندر قند یکی از آفات کلیدی و مهم گیاه چغندر قند در ایران و جهان می‌باشد و تحقیقات بسیار زیادی در کنترل شیمیایی و بیولوژیک آن صورت گرفته است (Hu *et al.*, 2016; Liburd *et al.*, 2000; Lin *et al.*, 2007)، اما با توجه به اثرات سوء ترکیبات شیمیایی توجه و بررسی‌ها به سوی ترکیبات بیولوژیک معطوف شده است. در این بررسی در شرایط آزمایشگاهی، سم اسپینوزاد و در شرایط مزرعه‌ای، سم امامکتین بیشترین تاثیر را روی لاروهای سن سوم آفت داشت و در هر دو شرایط این دو ترکیب کمترین اختلاف کشندگی را نسبت به سایر ترکیبات داشتند، این اختلاف می‌تواند ناشی از نوع ماده غذایی مورد تغذیه یا تاثیر شرایط محیطی ناشی شده باشد. ونکاتس واری و همکاران (Venkateswari *et al.*, 2008) اثر زیستی امامکتین بنزوات و ابامکتین را علیه لارو سن چهارم برگخوار چغندر قند بررسی و LC_{50} امامکتین بنزوات ۱۹/۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر به دست آمد، که در تحقیق حاضر مقدار LC_{50} علیه لارو سن سوم معادل ۱/۸۹

2017, *al.*) اثرات اسپینوزاد را در اختلاط با نیمارین علیه پروانه برگخوار پنبه و چغندرقدن مورد بررسی قرار دادند و نتایج نشان داد که سم نیمارین به دلیل جلوگیری از تابش مستقیم اشعه ماوراء بنفش روی اسپینوزاد میزان سمیت روی آفت را افزایش می‌دهد. بنگوچی و همکاران (Bengochea *et al.*, 2014) اثر امامکتین بنزوات را روی مراحل رشدی پروانه برگخوار چغندرقدن بررسی کردند و میزان LC_{50} امامکتین روی سن چهارم لاروی معادل $0/81$ به دست آمد، ولی در تحقیق حاضر روی لارو سن سوم مقدار LC_{50} محاسبه شده معادل $1/89$ میلی گرم بر لیتر است که از میزان تحقیق فوق، بیشتر است که دلیل آن می‌تواند به دلیل تفاوت فرمولاسیون سم و شرایط بررسی باشد. ربیعه و همکاران (Rabiya *et al.*, 2005) اثرات ویروس *SeNPV* و سم ایندوکساکارب را روی لاروهای پروانه برگخوار چغندرقدن در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند که سم ایندوکساکارب نسبت به ویروس کشندگی بیشتری نشان داد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. مولتون و همکاران (Moulton *et al.*, 2000) حساسیت لاروهای پروانه برگخوار چغندرقدن را به اسپینوزاد بررسی و مقدار LC_{50} را برای لارو سن سوم معادل $0/589$ تا 14 میلی گرم بر لیتر به دست آوردند که مقدار LC_{50} محاسبه شده برای اسپینوزاد در تحقیق حاضر معادل $1/255$ میلی گرم بر لیتر می‌باشد که در محدوده فوق است. در مطالعه شارما و پاتانیا (Sharma and Pathania, 2015) به منظور بررسی سمیت حشره‌کش‌های آلفامترین، اندوسولفان، فلوبندیامید، اندوکساکارب و نووالورون و همچنین سموم زیست پایه امامکتین بنزوات و اسپینوزاد به دو روش غوطه‌ور کردن و کاربرد موضعی علیه لارو سن سوم پروانه برگخوار پنبه، در روش اول سم فلوبندیامید و در روش دوم اسپینوزاد اثر بهتری نشان داد که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. ال سید و همکاران (El-Sayed *et al.*, 2014) اثر امامکتین و اسپینوزاد را در کنترل پروانه *S. littoralis* و همچنین مصطفی و همکاران (Moustafa *et al.*, 2016) در کنترل پروانه *Mamestra brassicae* L. مورد بررسی

لارو سن سوم معادل $0/956$ میلی گرم بر لیتر به دست آمد که علت این اختلاف می‌تواند ناشی از تفاوت سن لاروی مورد بررسی یا نوع فرمولاسیون باشد. ریچنباخ (Reichenbach, 1985) اثر ویروس *SeNPV* را روی لاروهای پروانه *Choristoneura Walsingham occidentalis* با اثر دو سم مالاتیون و دیفلوبنزورون مقایسه کرده و سم مالاتیون را از نظر اثر، سریع‌تر از دیفلوبنزورون و ویروس *SeNPV* اعلام کرد. در این تحقیق نیز در بررسی اثر ویروس *SeNPV*، امامکتین، باکتری باسیلوس تورینجنسیس و اسپینوزاد روی لاروهای سن سوم پروانه برگخوار چغندرقدن، سم امامکتین بیشترین اثر کنترلی را روی این آفت داشت که با نتایج ریچنباخ همخوانی دارد. در بررسی هوانگ و همکاران (Huang *et al.*, 2018) روی تاثیر باکتری باسیلوس تورینجنسیس علیه پروانه لارو برگخوار چغندرقدن، نتایج نشان داد که در بیشترین غلظت معادل 10^6 CFU/ml، میزان کشندگی 55 درصد حاصل شد. در تحقیق حاضر در شرایط مزرعه بعد از 7 روز $33/67$ درصد با غلظت 20 IBU/ha به دست آمد. در بررسی نامور و همکاران (Namvar, *et al.*, 2003) در تاثیر باکتری باسیلوس تورینجنسیس روی لاروهای سن دوم و سوم پروانه برگخوار چغندرقدن بعد از 48 ساعت، مقدار LC_{50} معادل $1356/95$ و $2708/27$ میلی گرم در لیتر به دست آمد، در این تحقیق میزان LC_{50} روی سن سوم لاروی معادل $0/87$ - 1954 میلی گرم در لیتر به دست آمد که نشان از موثر بودن فرمولاسیون این تحقیق می‌باشد. ریحان و شعیب (Rehan and Shoaib, 2014) در بررسی سازوکار مقاومت لاروهای پروانه برگخوار پنبه به سموم اسپینوزاد، امامکتین بنزوات، متوکسی فنوزاید، فیرونیل، اندوکساکارب، پروفنفوس، لوفنورون و دلتامترین، نشان داد که مقاومت به سموم دیگر نسبت به سم اسپینوزاد بعد از چندین مرحله سمپاشی بیشتر می‌باشد. در این تحقیق نیز سم اسپینوزاد کشندگی مطلوبی نسبت به سایر ترکیبات نشان داد که با توجه به عدم مقاومت آفت، می‌تواند قابل توصیه و کاربرد در سطح وسیع باشد. ساکیرنو و همکاران (Sukirno *et*

کمترین اثر سوء و باقیمانده در محیط زیست و سمیت کم برای پستانداران، سموم مذکور در کنترل و مدیریت تلفیقی آفت اقتصادی برگخوار چغندرقد قابل توصیه می‌باشند.

قرار دادند. نتایج نشان داد که هر دو سم قابلیت کنترل بالایی نسبت به سایر ترکیبات دارند که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. با توجه به اثر کشندگی هر دو سم زیستی اسپینوزاد و امامکتین در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه‌ای روی لاروهای سن سوم آفت برگخوار چغندرقد، و

References

- Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology** 18: 265-267.
- Altaf Sabri, M., Sajid Aslam, M., Hussain, D. and Saleem, M. 2016. Evaluation of lethal response of biorational insecticides against *Spodoptera litura* (Lep.: Noctuidae). **Journal of Entomology and Zoology Studies** 4: 270-274.
- Aramideh, Sh., Safaralizadeh, M. H., Pourmirza, A. A. and Parvizi, R. 2005. Investigation of susceptibility of larval instar, pupa and prepupa of *Spodoptera exigua* H. (Lep.: Noctuidae) to *Steinernema carpocapsae* nematodes in laboratory conditions and on sugar beet. **Journal of Agricultural Science and Natural Resources of Gorgan** 12: 159-166. (In Persian)
- Bengochea, P., Sánchez-Ramos, I., Saelices, R., Amor, F., del Estal, P., Viñuela, E., Adán, Á., López, A., Budia, F. and Medina, P. 2014. Is emamectin benzoate effective against the different stages of *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lep.: Noctuidae). **Irish Journal of Agricultural and Food Research** 53: 37- 49.
- Cai, Y., Cheng, Z., Li, C., Wang, F., Li, G. and Pang, Y. 2010. Biological activity of recombinant *Spodoptera exigua* multicapsid nucleopolyhedrovirus against *Spodoptera exigua* larvae. **Biological Control** 55: 178–185.
- Cisneros, J., Goulson, D., Derwent, L. C., Penagos, D. I., Hernandez, O. and Williams, T. 2002. Toxic effects of spinosad on predatory insects. **Biological Control** 23: 156–163.
- Cleveland, C. B., Mayes, M. A. and Cryer, S. A. 2001. An ecological risk assessment for spinosad use on cotton. **Pest Management Science** 58: 70-84.
- Darsouei, R., Karimi, J., Ghadamyari, M. and Hosseini, M. 2018. Natural enemies of the sugar beet army worm, *Spodoptera exigua* (Lep.: Noctuidae) in Northeast Iran. **Bulletin of Iranian Entomological Society** 127: 446-464. (In Persian)
- El-Sayed, A. and El-Sheikh. 2014. Comparative toxicity and sublethal effects of emamectin benzoate, lufenuron and spinosad on *Spodoptera littoralis* Boisd. (Lep.: Noctuidae). **Crop Protection** 67: 228-234.
- Felix, J. J. A. Bianchi, Just, M., Vlak R. R., and van der Werf W. 2002. Biological control of beet armyworm, *Spodoptera exigua*, with Baculoviruses in greenhouses: development of a comprehensive process-based model. **Biological Control** 23: 35-46.
- Goodarzi, M., Fathipour, Y. and Talebi, A. A. 2015. Antibiotic resistance of canola cultivars affecting demography of *Spodoptera exigua* (Lep.: Noctuidae). **Journal of Agricultural Science and Technology** 17: 23–33
- Hernandez-Martinez, P., Ferre, J. and Escriche, B. 2008. Susceptibility of *Spodoptera exigua* to 9 toxins from *Bacillus thuringiensis*. **Journal of Invertebrate Pathology** 97: 245–250.
- Hu, J., Wang, X., Zhang, Y., Zheng, Y., Zhou, S. and Huang, G. H. 2016. Characterization and growing development of *Spodoptera exigua* (Lep.: Noctuidae) larvae infected by *Heliothis virescens* ascovirus 3h (HvAV-3h). **Journal of Economic Entomology** 109: 2020–2026.
- Hashemitassuji, A., Hassan, M., Safaralizadeh, Aramideh, Sh. and Hashemitassuji, Z. 2015. Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* and Spinosad on three larval stages 1st, 2nd and 3rd of tomato borer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lep.: Gelechiidae) in laboratory conditions. **Archives of Phytopathology and Plant Protection** 48: 377–384.
- Huang, S., Li, X., Li, G. and Jin, D. 2018. Effect of *Bacillus thuringiensis* CAB109 on the growth, development, and generation mortality of *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lep.: Noctuidae). **Egyptian Journal of Biological Pest Control** 28: 1-5.

- Ishaaya, I., Kontsedalov, S. and Horowitz, A. R. 2002. Emamectin, a novel insecticide for controlling field crop pests. Japan-Israel Workshop: **Pest Management Science** 58: 1091-1095.
- Kheyri, M. 1999. The most important pest of sugar beet in Iran and their control. **Agricultural Research, Education Organization** 34: 1-14. (In Persian)
- Lasa, R., Aki, I., Itxaso, P., Jose, I., Belda, E., Williams, T. and caballero, P. 2007. Efficacy of *Spodoptera exigua* multiple nucleopolyhedrovirus as a biological insecticide for beet armyworm control in greenhouses of southern Spain. **Biocontrol Science and Technology** 17: 221-232.
- Liburd, O. E., Funderburk, J. E. and Olson, S. M. 2000. Effect of biological and chemical insecticides on *Spodoptera* species (Lep.: Noctuidae) and marketable yields of tomatoes. **Journal of Applied Entomology** 124: 19-25.
- Lin, H. F., Yang, X. J., Gao, Y. B. and Li, S. G. 2007. Pathogenicity of several fungal species on *Spodoptera litura*. **Journal of Applied Ecology** 48: 284-292.
- Liu, Y., Li, X., Chao, Z., Liu, F. and Wei, M. 2016. Toxicity of nine insecticides on four natural enemies of *Spodoptera exigua*. **Scientific Reports** 6: 1-9.
- Magholifard, Z., Hesami, S. H., Marzban, R. and Salehi Jouzani, G. H. 2018. Pathogenic effects of three Nucleopolyhedrovirus, *Spodoptera littoralis* NPV, *Helicoverpa armigera* NPV, *Spodoptera litura* NPV on life stages of Egyptian cotton leaf worm *Spodoptera littoralis*. **Entomology and Phytopathology** 58: 203-218. (In Persian)
- Moadeli, T., Hejazi, M. J. and Golmohammadi, G. 2014. Lethal effects of pyriproxyfen, spinosad and indoxacarb and sublethal effects of pyriproxyfen on the 1st instars larvae of beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hubner) (Lep.: Noctuidae) in the Laboratory. **Journal of Agriculture Science and Technology** 16: 1217-1227.
- Mostafa, M. A. M., Kákai, Á., Awad, M. and Fónagy, A. 2016. Sublethal effects of spinosad and emamectin benzoate on larval development and reproductive activities of the cabbage moth, *Mamestra brassicae* L. (Lep.: Noctuidae). **Crop Protection** 90: 197-204.
- Moulton, J. K., Pepper, D. A. and Dennehy, T. J. 2000. Beet armyworm (*Spodoptera exigua*) resistance to spinosad. **Pest Management Science** 56: 842-848.
- Namvar, P., Safaralizadeh, M. H. and Pourmirza, A. A. 2003. Studies on the susceptibility of *Spodoptera exigua* (Hubner) larvae to *Bacillus thuringiensis* under greenhouse conditions. **Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources** 7: 215-221. (In Persian).
- Parsaeyan, E., Saber, M. and Bagheri, M. 2013. Toxicity of emamectin benzoate and cypermethrin on biological parameters of cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) in laboratory conditions. **Journal of crop protection** 2: 477-485.
- Pourmirza, A. A. 2005. Local variation in susceptibility of Colorado potato beetle (Col.: Chrysomelidae) to insecticide. **Journal of Economic Entomology** 98: 2176-80.
- Pourmirza, A. A. and Kamali, S. A. 2003. Production *Nucleopolyhedrovirus* on beet army worm (Lep.: Noctuidae). **Journal of Agricultural Science** 26(1): 79-90. (In Persian).
- Rabiya, M. M., Seraj, A. A., Talaei Hasanloee, R. and Rahimi, H. 2005. Effects of *MbNPV* and Indoxacarb on larvae of *Spodoptera exigua* (Lep.: Noctuidae), Beet armyworm. **Journal of Agricultural Science** 34: 89-81. (In Persian).
- Reddy, P. P. 2013. Recent advances in crop protection: avermectins. New Delhi: Springer, India. 13-24
- Rehan, A. and Shoab, F. 2014. Selection, mechanism, cross resistance and stability of spinosad resistance in *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lep.: Noctuidae). **Crop Protection** 56: 10-15.
- Reichenbach, N. G. 1985. Response of the western spruce budworm to temperature and dose of a virus, a growth regulator, and an organophosphate. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 38: 57-63.
- Santis, E. L., Hernandez, L. A., Martinez, A. M., Campos, J., Figueroa, J. I., Lobit, P., Chavarrieta, J. M., Vinuela, E., Smagghe, G. and Pineda, S. 2012. Long-term foliar persistence and efficacy of spinosad against beet armyworm under greenhouse conditions. **Pest Management Science** 68: 914-921.
- Senthil-Nathan, S. and Kalaivani, K. 2005. Efficacy of nucleopolyhedrovirus and azadirachtin on *Spodoptera litura* Fabricius (Lep.: Noctuidae). **Biological Control** 34: 93-98.

- Sharma, P. C. and Pathania, A. K.** 2015. Toxicity of some insecticides and biopesticides to *Spodoptera litura* (fabricius). **Indian Journal of Science and Technology** 3: 43-50.
- Sheikhzadeh, B., Hejazi, M. J. and Karimzadeh, R.** 2014. Effects of Methoxyfenozide, Lufenuron and Flufenoxuron on beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Lep.: Noctuidae) in laboratory conditions. **Journal of Entomological Society of Iran** 34: 1-8. (In Persian)
- Singh, P. and Moore, R. F.** 2005. Handbook of Insect Rearing. Elsevier Science Publishers 7: 575-576.
- Sukirno, T., Muhammad, R., Khawaja, G., Salamouny, S. E., Koko, D. S. and Saad Aldawood, A.** 2017. The effectiveness of spinosad and neem extract against *Spodoptera littoralis* (Boisd.) and *Spodoptera exigua* (Hubner) exploring possibilities to enhance the bio-pesticide persistence with natural UV protectants. **Pakistan Journal of Agricultural Science** 54: 743-751.
- Sun, Y. P.** 1950. Toxicity indexes an improved method of comparing the relative toxicity of insecticides. **Journal of Economic Entomology** 43: 45-53.
- Takatsuka, J. and Kunimi, Y.** 2002. Lethal effects of *Spodoptera exigua* nucleopolyhedrovirus isolated in Shiga prefecture, Japan, on larvae of *Spodoptera exigua* (Lep.: Noctuidae). **Applied Entomology and Zoology** 37: 93-101.
- Talebi-Jahromi, K.** 2008. Pesticide Toxicology. Tehran University Press. 4th ed. 507 pp. (In Persian)
- Tanada, Y. and Kaya, H. K.** 1993. Insect Pathology. Academic Press, London. 666 pp.
- Venkateswari, G., Krishnayya, P. V., Rao, P. A. and Murthy, K. V. M. K.** 2008. Bio-efficacy of abamectin and emamectin benzoate against *Spodoptera litura* (Fab.). **Pesticide Research Journal** 53: 37-49.
- Wang, D., Wang, Y. M., Liu, H. Y., Xin, Z. and Xue, M.** 2013. Lethal and sublethal effects of spinosad on *Spodoptera exigua* (Lep.: Noctuidae). **Journal of Economic Entomology** 106: 1825-31.
- Wing, K. D., Sacher, M., Kagaya, Y., Tsurubuchi, Y., Mulderig, L., Connair, M. and Schnee, M.** 2000. Bioactivation and mode of action of the oxadiazine indoxacarb in insects. **Crop Protection** 19: 537-545
- Yuana, X., Zhaoa, M., Wei, J., Zhang, W., Wang, B., Khaing, M. and Liang, G.** 2017. New insights on the role of alkaline phosphatase from *Spodoptera exigua* (Hübner) in the action mechanism of *Bt* toxin *Cry2Aa*. **Journal of Insect Physiology** 98: 101-107.

Effect of *Bacillus thuringiensis*, *SeNPV*, Spinosad and Emamectin on third larval instar of *Spodoptera exigua* (Lep.: Noctuidae) in laboratory and field conditions

M. Abdollahzadeh Bavani¹, Sh. Aramideh^{1*} and A. Hosseinzadeh²

1. Department of Plant Protection, Agricultural Faculty, Urmia University, Iran, 2. Department of Plant Protection, Mahabad Branch, Islamic Azad University, Mahabad, Iran

(Received: February 17, 2019- Accepted: April 13, 2019)

Abstract

The beet armyworm, *Spodoptera exigua* Hübner is one of the most important pests of sugar beet. Due to the problems associated with the use of chemical pesticides against of this pest, the use of bio-pesticides in integrated management program is recommended. Therefore, in this research, effects of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, *SeNPV* virus, Spinosad and Emamectin on 3rd larval instar of beet armyworm in laboratory and field conditions were evaluated. In laboratory experiments, LC₅₀ values of different concentrations of *B. thuringiensis*, *SeNPV* virus, Spinosad and Emamectin after 24, 48 and 72 hours were determined by probit analysis. Also, the effects of each compound using Henderson- Tilton method and GLM analysis after 1, 3, 7, 14 and 21 days were evaluated in field conditions. The results of probit analysis of different concentrations of *Bt.*, Spinosad and Emamectin after 24, 48 and 72 hours were (3588.5, 1.25, 1.89), (1954.87, 0.95, 1.33) and (1843.25, 0.78, 1.20) mg/L, and for *SeNPV* (5.34×10^5 , 4.31×10^5 , 4.14×10^5) OBs.ml, respectively. Also, the highest and lowest mortality due to *Bt.*, *SeNPV*, Spinosad and Emamectin in field conditions after 21 days were related to Emamectin (61.33) and *SeNPV* virus (32.00) %. The highest and lowest percentages of damage were observed in the *SeNPV* virus, control and the Emamectin and Spinosad, respectively. Based on laboratory and field bioassay, Spinosad and Emamectin, as the most effective compounds for controlling this pest and virus and *Bt* for integrated pest management are recommended.

Key words: Beet armyworm, Biological control, Bio-pesticides, Damage

*Corresponding author: Shahramaramideh@gmail.com