

افزایش کارایی حشره‌کش میکروبی Bt در تلفیق با عصاره‌ی اتانولی برگ سرو نقره‌ای *Cupressus arizonica* علیه کرم برگ‌خوار چغندر قند *Spodoptera exigua* (Lep.: Noctuidae)

داود محمدی^{۱*}، ناصر عیوضیان کاری^۲ و زهرا شریفی آذر^۳

۱- استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز.

۲- دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز.

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد حشره‌شناسی کشاورزی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز.

*مسئول مکاتبه: mohamadi@azaruniv.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۹/۱/۲۴

تاریخ دریافت: ۹۸/۸/۲۸

چکیده

حشره‌کش میکروبی Bt در سطح وسیع برای کنترل لاروهای کرم برگ‌خوار چغندر قند *Spodoptera exigua* Hb. مورد استفاده قرار می‌گیرد. استفاده از دوزهای بالا برای کنترل موثرتر، احتمال بروز مقاومت را افزایش می‌دهد. تلفیق عوامل کنترلی مختلف به‌عنوان یک ابزار موثر در کاهش دوز مصرفی از اهمیت و جایگاه بالایی در برنامه‌های مدیریت آفات برخوردار است. در این بررسی اثرات کشندگی و زیر کشندگی حشره‌کش میکروبی Bt و تلفیق آن با عصاره‌ی اتانولی برگ‌های سرو نقره‌ای بر مرگ و میر و برخی فراسنجه‌های زیستی کرم برگ‌خوار چغندر قند مورد مطالعه قرار گرفت. غلظت‌های مختلف دو عامل کنترلی به‌صورت مخلوط با غذای مصنوعی در اختیار لاروها قرار گرفتند. نتایج نشان داد که، مرگ و میر، درصد شفیره شدن، طول دوره‌ی لاروی و درصد ظهور حشرات کامل به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر قرار گرفت. مقادیر LC₅₀ حشره‌کش میکروبی Bt در روز اول ۴/۲۵ و در روز هفتم بررسی ۰/۷۶ گرم بر لیتر بدست آمد. در تلفیق غلظت دو گرم بر لیتر Bt با غلظت‌های ۱۲/۵ و ۶/۲۵ گرم بر لیتر عصاره‌ی برگ سرو نقره‌ای، کمترین مقدار کارایی تبدیل غذای خورده شده در مقایسه با شاهد ثبت گردید (به ترتیب ۱۶/۱ و ۱۷/۹ درصد در مقایسه با ۳۸/۹۹ درصد در شاهد مثبت). با توجه به افزایش کارایی Bt در تلفیق با عصاره‌ی گیاهی در مرگ و میر لاروها و همچنین کاهش فراسنجه‌های تغذیه‌ای لاروهای کرم برگ‌خوار چغندر قند، امکان استفاده از تلفیق دو عامل در شرایط گلخانه‌ای و مزرعه‌ای در راستای مدیریت مقاومت و کنترل پایدار جمعیت آفت وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: اثرات سینرژیستی، طول دوره‌ی زیستی، عصاره‌ی اتانولی، فراسنجه‌های تغذیه‌ای، کارایی تبدیل غذای خورده شده.

مقدمه

واسطه‌ی مقاومت به گروه‌های مختلف آفت‌کش‌های شیمیایی شده است (Ahmad et al., 2018; Ishtiaq et al., 2012; Ahmad and Arif, 2010; Su and Sun, 2014; Ishtiaq and Salim, 2011; Zhang et al., 2014). استفاده از روش‌های جایگزین کنترلی مثل کنترل زراعی، کنترل زیستی و میکروبی بخصوص با نماتودها، باکتری‌ها و ویروس‌های بیمارگر حشرات (Luna-Espino et al., 2018) در برنامه‌های مدیریت این آفت مورد توجه قرار گرفته است (Ruberson et al., 1994). تلفیق دو یا چند عامل کنترلی به‌عنوان یک راه‌کار نسبتاً موفق، توجه

کرم برگ‌خوار چغندر قند *Spodoptera exigua* (Lep.: Nuctoidae) آفتی چندخوار می‌باشد که به طیف وسیعی از گیاهان زراعی، سبزی و صیفی خسارت اقتصادی وارد می‌کند (Grenberg et al., 2001). ویژگی‌های زیستی و اکولوژیکی این آفت مانند قدرت زاد و ولد بالا، دیابوز اختیاری، طیف وسیع میزبانی و قدرت سازگاری با شرایط مختلف محیطی، این حشره را به آفتی بسیار مهم تبدیل کرده است (Farahani et al., 2011). فشار مبارزه‌ی شیمیایی با این آفت موجب کاهش کارایی سموم به

گرفته است. هر چند تاثیر بسیار خوب آن بر برخی آفات مهم به اثبات رسیده است ولی گزارشاتی از بروز مقاومت در حشرات، زنگ خطری برای آینده این عامل کنترلی می-باشد (Moar et al., 1995).

مطالعات متعددی برای بهبود کارایی Bt صورت گرفته است (Siegwart et al., 2015). تلفیق Bt با عوامل کنترل دیگر مورد توجه محققین مختلف بوده است و در این بین تلفیق با عصاره‌های گیاهی با توجه به امنیت نسبی بالای آنها در برنامه‌های مدیریت آفات بیشتر مورد توجه بوده است (Rajguru et al., 2011; Gad and Al-Dakhil, 2018). استفاده از ترکیب باکتری Bt با عصاره‌های گیاهی می‌تواند باعث کاهش مصرف این حشره‌کش میکروبی در واحد سطح شود که ضمن کاهش هزینه‌ی کنترل آفات، موجب کاهش اثرات سوء به عوامل کنترل زیستی و کاهش ریسک مقاومت نیز شود. در صورت تاثیر مناسب تلفیق دو عامل کنترل، امکان استفاده از آنها در کشاورزی ارگانیک و عدم استفاده و یا کاهش مصرف سموم شیمیایی پرخطر متداول نیز فراهم خواهد شد (Mhalla et al., 2018).

گیاهان منابعی غنی از متابولیت‌های مختلف هستند که با توجه به مطالعات مختلف انجام گرفته، مشخص شده است که از پتانسیل بالایی در مبارزه با آفات برخوردار هستند (Alexenizer et al., 2007; Okonkwo, 2004). عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی با اثرات مختلف کشندگی، دورکنندگی، بازدارندگی تخم‌گذاری، ضدتغذیه‌ای (Abdelgaleil and El-Sabrou, 2018; Ebadollahi, 2011) و جلب‌کنندگی و با اثرات سوء زیست‌محیطی کمتر در مقایسه با سموم متداول و امنیت بالا نسبت به دشمنان طبیعی (Amoabeng, 2019) می‌توانند به‌عنوان عوامل کنترل آفت مورد استفاده قرار گیرند (Kortbeek et al., 2012; Khater, 2019). سرو نقره‌ای (*Cupressus arizonica*) گیاهی از تیره Cupressaceae بومی آمریکای شمالی می‌باشد (Adams and Bartel, 2009). مطالعات اندک صورت گرفته حاکی از حضور متابولیت‌های موثر با اثرات کشندگی و رفتاری خوب بر حشرات مختلف می-باشد (Sedagat et al., 2011; Mohammadi et al., 2019).

محققین مختلف را جلب کرده است. استفاده از عوامل با نحوه‌ی اثر متفاوت، می‌تواند ضمن کنترل جمعیت تا حدود زیادی مانعی برای سرعت ظهور افراد مقاوم باشد (Stenberg, 2017). یکی از دلایل موفقیت تلفیق عوامل در کنترل آفات، اثر سینرژیستی آنها می‌باشد که موجب کاهش مصرف نهاده‌های کنترلی شده و با کاهش فشار سمپاشی ضمن جلوگیری از بروز مقاومت و یا حداقل به تاخیر انداختن آن در حشرات، می‌تواند اثرات سوء کمتری به دشمنان طبیعی و محیط زیست نیز داشته باشد (Jansen et al., 2017; Das, 2014). تلفیقی از آفت‌کش‌های شیمیایی با یکدیگر و یا با عوامل بی‌اثر (Khan et al., 2013)، عوامل کنترل زیستی با میکروبی، عوامل کنترل میکروبی با عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی (Shamseldean et al., 2013; Duisembecova et al., 2017)، عصاره‌های گیاهی با آفت‌کش‌های شیمیایی (Maurya et al, 2012; War et al., 2014)، عصاره‌های گیاهی با یکدیگر (Lina et al., 2017)، عوامل میکروبی با مواد معدنی (Salama et al., 1984) و غیره توسط محققین مختلف در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه‌ای علیه آفات مختلف بررسی شده است. اثرات کشندگی و غیرکشندگی این عوامل و تلفیق آنها، بر فراسنجه‌های زیستی و تولید مثلی نیز مورد توجه محققین مختلف بوده است (Abedi et al., 2016; Nouri-Ganbalani et al., 2014). در مجموع به‌نظر می‌رسد تلفیق روش‌های کنترلی و بخصوص استفاده از عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی با توجه به امنیت نسبی آنها، راه‌کاری مناسب در راستای مدیریت آفات و کاهش خطرات زیست‌محیطی آفت‌کش‌های متداول و مهم‌تر از همه مدیریت مقاومت به آفت‌کش‌های متداول نیز باشد (Koppenhöfer and Kaya, 2000; Nawaz et al., 2016).

حشره‌کش میکروبی Bt (*Bacillus thuringiensis*) از عوامل کنترل میکروبی حشرات آفت می‌باشد که نزدیک یک قرن مطالعات مختلفی در راستای جداسازی، شناسایی، فرمولاسیون و سایر ویژگی‌های آن انجام گرفته است (Roh et al., 2007; Chattopadhyay et al., 2017). این حشره‌کش در کنترل بالپولکداران و سایر آفات در سطح وسیع به‌صورت تجاری مورد استفاده قرار

دهنده‌ی چرخشی (مدل Heidolph Hei-VAP) با ۴۰ درجه‌ی سلسیوس و ۱۲۰ دور در دقیقه قرار داده شد. پس از جداسازی کامل حلال، عصاره‌ی غلیظ بدست آمده در ظروف تیره در شرایط دمایی چهار درجه‌ی سلسیوس تا زمان استفاده نگهداری شد (Altemimi, 2017).

زیست‌سنجی

اثرات کشندگی و زیر کشندگی حشره‌کش میکروبی Bt روی لاروهای کرم برگ‌خوار چغندر قند

در این بررسی از فرمولاسیون پودر حشره‌کش میکروبی *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* با اسم تجاری 32% WP Belthirul® ساخت شرکت Probelte اسپانیا استفاده شد. برای بررسی اثرات کشندگی حشره-کش میکروبی، پس از آزمایشات مقدماتی، آزمایشات اصلی در محدوده‌ی غلظت‌های ۱/۱ تا ۲۵ گرم بر لیتر انجام گرفت. غلظت‌های مختلف با غذای مصنوعی مخلوط شده و در داخل پتری‌های شش سانتی‌متری به صورت انفرادی در اختیار لاروها قرار داده شد. در هر تکرار ۳۰ عدد لارو سن اول مورد بررسی قرار گرفته و کل زیست‌سنجی نیز سه بار تکرار شد. طول دوره‌ی رشدی لاروها، درصد شفیره شدن، درصد مرگ و میر شفیره‌ها و درصد ظهور حشرات کامل تا ظهور تمام حشرات کامل در کل تیمارها به صورت روزانه ثبت گردید. همچنین تغییرات وزن لاروها و وزن غذای خورده شده پس از هشت روز تغذیه از غلظت‌های مختلف حشره‌کش میکروبی ثبت شد. پس از هشت روز لاروها بر روی غذای مصنوعی تیمار نشده منتقل و تا ظهور حشرات کامل پرورش یافتند. تمامی آزمایش‌ها در شرایط کنترل شده‌ی 25 ± 2 درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی 50 ± 5 درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی انجام گرفت.

اثرات کشندگی و زیر کشندگی تلفیق حشره‌کش میکروبی Bt با عصاره‌ی سرو نقره‌ای روی لاروهای کرم برگ‌خوار چغندر قند

با استفاده از نتایج کشندگی، سه غلظت ۲، ۸/۰ و ۲۰/۰ گرم بر لیتر که تقریباً معادل مقادیر کشنده ۵۰، ۳۰ و ۱۰ درصد افراد در عرض ۴۸ ساعت بودند برای حشره‌کش میکروبی Bt انتخاب شد. در مورد سرو نقره‌ای چون در

با توجه به اهمیت کرم برگ‌خوار چغندر قند به عنوان آفتی جدی که سالیانه در سطح وسیعی کنترل شیمیایی برای کاهش جمعیت آن اعمال می‌شود و با توجه به ویژگی‌های مثبت حشره‌کش میکروبی Bt، در این بررسی امکان افزایش کارایی آن در تلفیق با عصاره‌ی اتانولی برگ سرو نقره‌ای و تاثیر بر برخی فراسنجه‌های زیستی و تغذیه‌ای کرم برگ‌خوار چغندر قند مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

پرورش حشره

از حشرات کامل کرم برگ‌خوار چغندر قند موجود در انسکتاریوم گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان برای تشکیل کلنی استفاده شد. لاروهای سنین پایین به صورت دسته جمعی در مقدار کافی از غذای مصنوعی بر پایه لوبیا با تغییراتی جزئی در روش مورد استفاده توسط Singh (1977) پرورش یافتند. از سن چهارم به صورت انفرادی به ظروف استوانه‌ای به قطر دهانه سه و ارتفاع پنج سانتی‌متر دارای تهویه مناسب انتقال و تا تشکیل شفیره نگهداری شدند. برای تخم‌گیری از حشرات کامل از ظروف استوانه‌ای به ارتفاع ۲۵ و قطر ۱۷ سانتی‌متر استفاده شد. از آب عسل ۱۰ درصد برای تغذیه حشرات کامل استفاده شد. حشرات در شرایط کنترل شده 25 ± 2 درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی 50 ± 5 درصد و دوره‌ی نوری ۸:۱۶ (روشنایی: تاریکی) ساعت پرورش یافتند.

تهیه‌ی عصاره برگ‌های سرو نقره‌ای

برگ‌های تازه سرو نقره‌ای در طی خرداد ماه از درختان موجود در محوطه‌ی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان جمع‌آوری شدند. با آب مقطر شستشو داده و در شرایط سایه، در دمای آزمایشگاه خشک شدند. برای عصاره‌گیری، برگ‌های خشک شده سرو نقره‌ای اندکی پودر شده و در اتانول ۹۶٪ به نسبت یک به پنج در ظروف کدر به مدت دو هفته خیسانده شد. برای افزایش کارایی استخراج روزانه به صورت مکانیکی هم زده شد. حلال حاوی عصاره گیاهی پس از صاف شدن در دستگاه تبخیر

و اگر مقدار عددی D (تفاضل مرگ و میر مشاهده شده و برآورد شده) مثبت باشد، نوع اثر سینرژیستی و در صورت منفی بودن، نوع اثر آنتاگونیستی برآورد گردید (Koppenhöfer et al 2000). برای ترسیم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

نتایج

اثرات مختلف حشره‌کش میکروبی Bt بر لاروهای کرم برگ‌خوار چغندر قند

مقادیر کشندگی غلظت‌های مختلف Bt در روزهای مختلف، بر لاروهای سن اول کرم برگ‌خوار چغندر قند در جدول ۱ خلاصه شده است. همانگونه که مشاهده می‌شود در روز اول پس از در معرض قرارگیری، مقدار عددی LC_{50} برابر با ۴/۲۵ گرم بر لیتر بدست آمده و با گذشت زمان این مقادیر روندی کاهشی داشته و در روز هفتم بررسی به ۰/۷۶ گرم بر لیتر رسیده است. شیب خط غلظت-اثر نیز در تمام روزهای بررسی با تفاوت اندکی نسبت به یکدیگر در محدوده ۱/۰۸ تا ۱/۳۰ متغیر بود. در تمام موارد χ^2 معنی‌دار نبوده و مقادیر برآورد شده با مشاهده شده در هر هفته روز اختلاف آماری نداشتند.

نتایج تجزیه‌ی واریانس تاثیر غلظت‌های مختلف حشره‌کش میکروبی Bt بر فراسنجه‌های زیستی کرم برگ‌خوار چغندر قند نشان داد که طول دوره‌ی رشدی به-طور معنی‌داری تحت تاثیر قرار گرفته است ($F_{7,16}=9.55$), در شکل ۱ مشاهده می‌شود که غلظت‌های بالا (۶/۲۵ و ۳/۲۳ گرم بر لیتر) به‌طور معنی‌داری موجب افزایش طول دوره‌ی رشدی لاروی شده است. این در حالی است که در سه غلظت پایین (۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳۹ گرم بر لیتر) اختلاف آماری معنی‌داری با شاهد مشاهده نشد. درصد تبدیل شدن به شفیره‌ها نیز اختلاف آماری معنی-داری در غلظت‌های مختلف نشان داد ($F_{7,16}=45.77$), بیشترین میزان ظهور شفیره‌ها در تیمار شاهد (۸۰٪) مشاهده شد. با افزایش غلظت Bt درصد ظهور شفیره‌ها کاهش یافت و به ۱۲ درصد در غلظت ۶/۲۵ گرم بر لیتر رسید. درصد مرگ و میر شفیره‌ها در طول زیست‌سنجی اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌ها نشان نداد ($F_{7,16}=0.328$, $p>0.05$) و به‌طور متوسط در تمام غلظت‌ها

روزهای اول زیست‌سنجی، مرگ و میر قابل ملاحظه‌ای برای محاسبه مقادیر کشنده بدست نیامد (نتایج مطالعات مقدماتی، Mohammadi et al., 2019). سه غلظت ۲۵، ۱۲/۵ و ۶/۲۵ گرم بر لیتر برای بررسی اثرات تلفیقی انتخاب گردید. تیمارهای مختلف شامل؛ سه غلظت اشاره شده Bt و عصاره‌ی سرو نقره‌ای و ترکیبات مختلف آنها در نه حالت، مانند روش اشاره شده در بخش قبلی زیست-سنجی شد. طول دوره‌ی رشدی لاروها، درصد شفیره شدن، درصد مرگ و میر شفیره‌ها و درصد ظهور حشرات کامل، تغییرات وزن لاروها و میزان غذای خورده شده ثبت و محاسبه گردید. اثرات مختلف سینرژیستی، آنتاگونیستی و یا جمعی با استفاده از شاخص مورد استفاده توسط Koppenhöfer و همکاران (2000) محاسبه و مقایسه گردید.

برای بررسی کارایی غذای خورده شده از فرمول زیر استفاده شد (Waldbauer, 1968):

=کارایی تبدیل غذای خورده شده (ECI)

$\times 100$ (افزایش وزن لارو/غذای خورده شده)

در تمامی آزمایشات در صورت نیاز از شاهد منفی به-صورت تیمار با آب مقطر و یا شاهد مثبت به-صورت تیمار با حلال بجای عصاره و یا Bt استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری

با استفاده از نرم افزار SPSS آزمون کولموگروف-اسمیرنوف (نسخه ۱۳، ۲۰۰۴)، تست نرمال بودن داده‌ها انجام شد و در صورت نیاز تبدیل داده‌ی مناسب انجام گرفت. نتایج در قالب طرح کاملاً تصادفی آنالیز شدند. برای مقایسه‌ی میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. از رگرسیون پروبیت برای بررسی اثرات کشندگی Bt در روزهای مختلف استفاده شد. برای محاسبه‌ی اثرات مختلف تلفیق Bt با عصاره‌ی اتانولی سرو نقره‌ای (سینرژیستی، آنتاگونیستی و جمعی)، مقادیر مرگ و میر مشاهده شده به-صورت انفرادی و تلفیق با عامل دیگر با مقادیر برآورد شده با محاسبه کیدو با درجه‌ی آزادی "یک" محاسبه و مقایسه گردید. در صورت معنی‌دار بودن آزمون کیدو، اثر غیر جمعی بوده

غلظت‌های ۳/۲۳ و ۶/۲۵ گرم بر لیتر ثبت گردید. حتی غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۲ گرم بر لیتر (پایین‌ترین غلظت بررسی شده) اختلاف آماری با شاهد داشت و درصد ظهور کمتری نشان داد (شکل ۲).

کمتر از ۸٪ از کل شفیره‌ها از بین رفتند. درصد ظهور حشرات کامل به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر غلظت‌های مختلف Bt قرار گرفت ($F_{7,16}=53.65, p<0.01$). با افزایش غلظت، مرگ و میر حشرات کامل افزایش داشت و بیشترین میزان مرگ و میر بدون اختلاف آماری معنی‌دار در

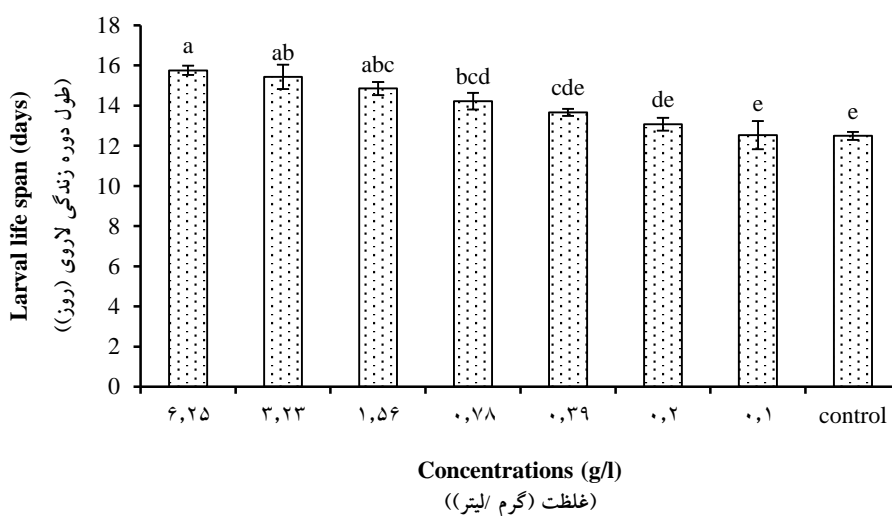
جدول ۱- سمیت حشره‌کش میکروبی Bt بر لاروهای کرم برگ‌خوار چغندر قند در روزهای مختلف در معرض قرارگیری.

Table 1-Toxicity of Bt on *S. exigua* larvae in different exposure times (Days).

| LC ₉₀ (g/l) (CI*) (حدود اطمینان) | LC ₅₀ (g/l) (CI) (حدود اطمینان) | LC ₃₀ (g/l) (CI) (حدود اطمینان) | LC ₁₀ (g/l) (CI) (حدود اطمینان) | Slope ±se (شیب خط) | χ ² Parameters (فراسنجه کیدو) | | | Day (روز) |
|---|--|--|--|-----------------------|---|----|----------------|--------------|
| | | | | | P | df | χ ² | |
| 65.06 (32.23-191.22) | 4.25 (2.93-6.54) | 1.39 (0.90-2.01) | 0.28 (0.13-0.47) | 1.08±0.13 | 0.90 | 7 | 2.8 | 1 |
| 25.32 (14.57-56.54) | 2.11 (1.50-2.99) | 0.76 (0.49-1.08) | 0.18 (0.08-0.29) | 1.19±0.13 | 0.98 | 7 | 1.49 | 2 |
| 24.88 (13.93-61.52) | 2.04 (1.39-2.95) | 0.73 (0.42-1.10) | 0.17 (0.06-0.31) | 1.18±0.15 | 0.98 | 6 | 1.03 | 3 |
| 14.64 (8.90-30.08) | 1.46 (1.03-2.04) | 0.57 (0.35-0.82) | 0.14 (0.07-0.25) | 1.28±0.14 | 0.97 | 7 | 1.69 | 4 |
| 11.33 (7.01-22.65) | 1.18 (0.83-1.64) | 0.47 (0.29-0.68) | 0.12 (0.06-0.21) | 1.30±0.15 | 0.69 | 7 | 4.76 | 5 |
| 10.66 (6.41-22.45) | 0.92 (0.63-1.30) | 0.34 (0.19-0.51) | 0.08 (0.03-0.15) | 1.20±0.14 | 0.81 | 7 | 3.77 | 6 |
| 9.58 (5.71-20.55) | 0.76 (0.50-1.08) | 0.27 (0.15-0.41) | 0.06 (0.02-0.11) | 1.16±0.13 | 0.89 | 7 | 2.98 | 7 |

*حدود اطمینان ۹۵٪

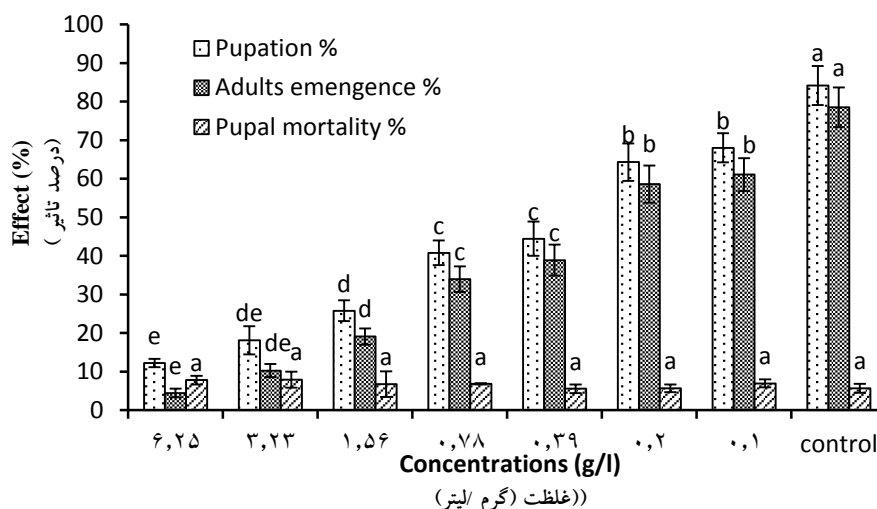
Confidence limits 95%*



شکل ۱- میانگین طول دوره‌ی لاروی کرم برگ‌خوار چغندر قند تحت تاثیر غلظت‌های مختلف Bt.

حروف مشابه نشان دهنده‌ی عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

Figure 1- Larval life span of *S. exigua* after exposure to different concentrations of Bt. Means followed by the same letter are not significantly different at the 5% level of significance.



شکل ۲ - فراسنجه‌های زیستی کرم برگ‌خوار چغندر قند در غلظت‌های مختلف Bt.

حروف مشابه در هر فراسنجه نشان دهنده‌ی عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

Figure 2-Biological parameters of *S. exigua* affects by different concentrations of Bt.

Means with the same letter in each parameter are not significantly different at the 5% level of significance.

حالی که در شاهد این مقدار بیش از ۸۸ درصد ثبت شد. درصد ظهور حشرات کامل نیز به‌طور معنی‌داری در تلفیق دو عامل، بیشتر از شاهد ($F_{16,34}=26.21$ $p<0.01$) و حالت انفرادی دو عامل کاهش نشان داد و به ۲۱ درصد در تلفیق غلظت‌های بالا در مقایسه با ۵۷ درصد در تلفیق دو غلظت پایین هر دو عامل کاهش یافت در حالی که در تیمار شاهد میزان ظهور حشرات کامل بیش از ۸۰ درصد بود. درصد مرگ و میر شفیره‌ها نیز در تلفیق دو عامل به‌طور معنی‌داری ($F_{16,34}=3.71$ $p<0.01$) بیشتر از شاهد بود (شکل ۴). ولی در تیمار غلظت دوم Bt و تلفیق دو غلظت دوم هر دو عامل میزان مرگ و میر به ترتیب ۱۶/۴۴ و ۱۳/۲ درصد بود که در مقایسه با شاهد (۸/۲۲ درصد) بیشتر بود.

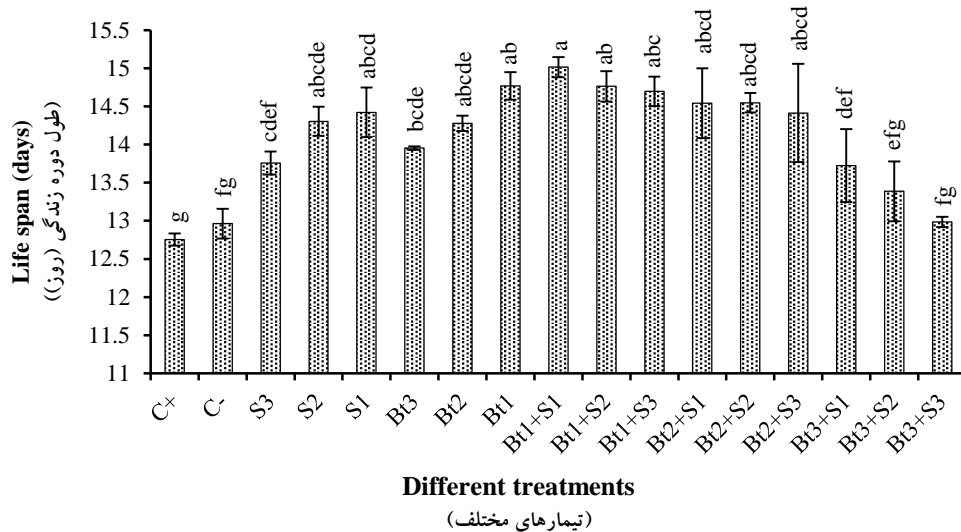
اثرات سینرژیستی تلفیق غلظت‌های مختلف عصاره‌ی اتانولی برگ سرو نقره‌ای با حشره‌کش میکروبی Bt بر مرگ و میر لاروهای کرم برگ‌خوار چغندر قند

تلفیق عصاره‌ی اتانولی برگ سرو نقره‌ای با حشره-کش میکروبی Bt اثرات سینرژیستی خوبی بر مرگ و میر لاروها داشت (جدول ۲). تلفیق غلظت بالای Bt (۲ گرم بر لیتر) با سه غلظت ۲۵، ۱۲/۵ و ۶/۲۵ گرم بر لیتر عصاره‌ی سرو نقره‌ای در طول دوره‌ی بررسی شش روزه، اثر سینرژیستی نشان داد.

اثرات مختلف تلفیق حشره‌کش میکروبی Bt و عصاره‌ی برگ سرو نقره‌ای بر فراسنجه‌های زیستی کرم برگ‌خوار چغندر قند

طول دوره‌ی لاروی به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارهای مختلف قرار گرفت ($F_{16,34}=6.07$ $p<0.01$). همانگونه که در شکل ۳ مشاهده می‌شود در تیمار انفرادی و تلفیق Bt با عصاره‌ی برگ سرو نقره‌ای (بجز غلظت سوم هر دو عامل) طول دوره‌ی لاروی بیشتر از شاهد بود. تلفیق غلظت اول Bt با غلظت اول عصاره‌ی برگ سرو نقره‌ای بیشتر از بقیه‌ی تیمارها طول دوره‌ی لاروی را افزایش داده است (۲/۵ روز). تلفیق غلظت سوم هر دو عامل طول دوره‌ی لاروی را کمتر از حالت انفرادی تحت تاثیر قرار داده است و به نظر می‌رسد در غلظت‌های پایین، تلفیق دو عامل اثر آنتاگونیستی بر یکدیگر داشته و طول دوره‌ی لاروی کاهش یافته و با تیمار شاهد اختلاف آماری معنی‌داری ندارد.

درصد ظهور شفیره‌ها نیز در تلفیق دو عامل بیشتر از حالت انفرادی و تیمار شاهد تحت تاثیر قرار گرفته است و کاهش معنی‌داری در ظهور شفیره‌ها بخصوص در تلفیق غلظت‌های بالای Bt مشاهده می‌شود ($F_{16,34}=18.88$ $p<0.01$) (شکل ۴). کمترین میزان ظهور شفیره در تلفیق دو غلظت بالای هر دو عامل و حدود ۳۳ درصد بوده در



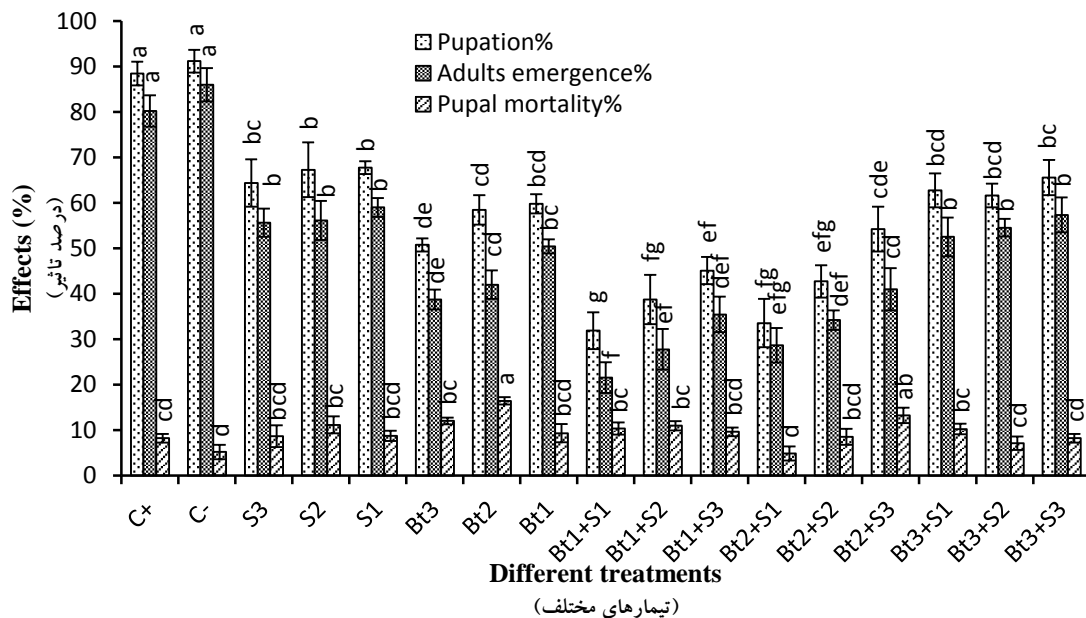
شکل ۳- تاثیر تلفیق عصاره ای اتانولی برگ سرو نقره ای و Bt بر طول دوره ی لاروی کرم برگ خوار چغندر قند.

C+ شاهد مثبت، C- شاهد منفی، S1، S2 و S3 به ترتیب غلظت های ۲۵، ۱۲/۵ و ۶/۲۵ گرم بر لیتر عصاره ی برگ سرو نقره ای، Bt1، Bt2 و Bt3 به ترتیب غلظت های ۲، ۰/۸ و ۰/۲ گرم بر لیتر حشره کش Bt. حروف مشابه نشان دهنده ی عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد می باشد.

Figure 3- Combination effects of *C. arizonica* extract with Bt, on larval life span of *S. exigua*.

C+: Positive control, C-: Negative control, S1, S2 and S3: 25, 12.5 and 6.25 g/l of extract, Bt1, Bt2 and Bt3: 2, 0.8 and 0.2 g/l of Bt.

Means followed by the same letter are not significantly different at the 5% level of significance.



شکل ۴- فراسنجه های زیستی کرم برگ خوار چغندر قند در تلفیق غلظت های مختلف Bt و عصاره ی برگ سرو نقره ای.

C+ شاهد مثبت، C- شاهد منفی، S1، S2 و S3 به ترتیب غلظت های ۲۵، ۱۲/۵ و ۶/۲۵ گرم بر لیتر عصاره ی برگ سرو نقره ای، Bt1، Bt2 و Bt3 به ترتیب غلظت های ۲، ۰/۸ و ۰/۲ گرم بر لیتر حشره کش Bt.

حروف مشابه در هر پارامتر نشان دهنده ی عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد می باشد.

Figure 4- Combined effects of Bt with *C. arizonica* extract on biological parameters of *S. exigua*.

C+: Positive control, C-: Negative control, S1, S2 and S3: 25, 12.5 and 6.25 g/l of extract, Bt1, Bt2 and Bt3: 2, 0.8 and 0.2 g/l of Bt. Means followed by the same letter in each parameter are not significantly different at the 5% level of significance.

تأثیر تلفیق عصاره‌ی اتانولی سرو نقره‌ای و حشره-کش میکروبی Bt بر شاخص‌های فیزیولوژیک تغذیه‌ای کرم برگ‌خوار چغندر قند

میانگین افزایش وزن لاروهای کرم برگ‌خوار چغندر قند در تغذیه از غلظت‌های زیرکشنده حشره‌کش میکروبی Bt و عصاره‌ی اتانولی برگ سرو نقره‌ای و همچنین تلفیق این غلظت‌ها در جدول ۳ آورده شده است. از نظر آماری اختلاف معنی‌داری در تیمارهای مختلف مشاهده می‌شود، در $(F_{16,163}=3.44, p<0.01)$ ، همانگونه که مشاهده می‌شود، در تلفیق غلظت اول حشره‌کش میکروبی Bt با سه غلظت عصاره‌ی برگ سرو نقره‌ای، کمترین میانگین وزن لاروی ثبت گردید. به نظر می‌رسد تلفیق غلظت‌های مختلف دو عامل اثرات سینرژیستی بر کاهش وزن لاروها داشته است.

جدول ۲- اثرات سینرژیستی تلفیق غلظت‌های مختلف Bt با عصاره‌ی برگ سرو نقره‌ای، بر مرگ و میر لاروهای کرم برگ‌خوار چغندر قند در روزهای مختلف.

| | | Bt (g/l) | | | | | | | | | | |
|------------|------------|----------------------------|--------------------|--------------------|-------------|--------------------|--------------------|------------|------------|--------------------|----------------------|--|
| | | غلظت‌های Bt، گرم /لیتر) | | | | | | | | | | |
| | | Extract (g/l) | | | | | | | | | | |
| | | غلظت‌های عصاره، گرم /لیتر) | | | | | | | | | | |
| 2 | 2 | 2 | 0.8 | 0.8 | 0.8 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | Mortality±se | Day 1 | |
| 25 | 12.5 | 6.25 | 25 | 12.5 | 6.25 | 25 | 12.5 | 6.25 | 6.25 | χ^2 | (روز اول) | |
| | | | | | | | | | | D (Effect) | | |
| 38.58±4.59 | 39.50±3.09 | 37.46±2.11 | 31.52±3.10 | 24.20±1.33 | 27.17±2.42 | 18.85±0.58 | 13.78±1.83 | 12.09±2.30 | 10.09±2.30 | 1.57 ^{ns} | Day 1 (روز اول) | |
| 6.55* | 13.81** | 17.24** | 2.48 ^{ns} | 0.81 ^{ns} | 5.66* | 1.05 ^{ns} | 2.03 ^{ns} | 5.22(A) | 5.22(A) | | | |
| 12.95 (S) | 17.45(S) | 18.21(S) | 7.69(Ad) | 4.04(Ad) | 9.89(S) | -5.00(A) | -6.41(A) | -5.22(A) | -5.22(A) | | | |
| 57.10±7.82 | 62.33±10.4 | 52.00±5.67 | 60.48±8.60 | 55.28±3.41 | 53.12±10.04 | 38.79±4.04 | 41.73±6.80 | 35.58±4.49 | 35.58±4.49 | 4.52* | Day 2 (روز دوم) | |
| 8.60** | 31.75** | 17.77** | 17.59** | 28.95** | 30.38** | 0.38 ^{ns} | 8.30** | 4.52* | 4.52* | | | |
| 18.27(S) | 31.36(S) | 22.78(S) | 24.99(S) | 28.07(S) | 27.76(S) | 3.65(Ad) | 14.92(S) | 10.62(S) | 10.62(S) | | | |
| 79.18±8.43 | 82.38±3.14 | 74.56±2.98 | 76.89±7.23 | 67.35±2.86 | 65.73±10.12 | 57.16±5.20 | 58.20±5.30 | 47.63±6.11 | 47.63±6.11 | 12.88** | Day 3 (روز سوم) | |
| 19.31** | 57.75** | 45.93** | 24.72** | 43.51** | 47.43** | 4.15** | 25.23** | 12.88** | 12.88** | | | |
| 30.62(S) | 45.90(S) | 39.90(S) | 32.95(S) | 36.59(S) | 36.95(S) | 13.46(S) | 27.73(S) | 19.15(S) | 19.15(S) | | | |
| 78.62±8.96 | 82.07±3.30 | 78.03±3.19 | 77.77±6.32 | 66.77±3.34 | 64.92±10.88 | 56.49±5.22 | 65.31±5.61 | 46.74±6.52 | 46.74±6.52 | 6.82** | Day 4 (روز چهارم) | |
| 10.72** | 26.63** | 23.94** | 24.43** | 27.83** | 29.69** | 3.87* | 28.87** | 6.82** | 6.82** | | | |
| 24.16(S) | 35.29(S) | 32.87(S) | 33.06(S) | 31.38(S) | 31.50(S) | 12.98(S) | 31.33(S) | 14.76(S) | 14.76(S) | | | |
| 82.32±8.82 | 85.87±3.28 | 77.93±3.25 | 81.48±6.18 | 72.83±4.25 | 68.74±10.94 | 56.34±5.22 | 69.09±5.70 | 54.19±6.43 | 54.19±6.43 | 8.00** | Day 5 (روز پنجم) | |
| 8.29** | 19.97** | 10.11** | 22.34** | 27.29** | 18.04** | 3.05 ^{ns} | 32.31** | 8.00** | 8.00** | | | |
| 22.30(S) | 32.61(S) | 23.47(S) | 32.93(S) | 32.98(S) | 27.33(S) | 11.67(Ad) | 33.78(S) | 17.21(S) | 17.21(S) | | | |
| 86.11±8.51 | 89.58±3.33 | 77.64±3.35 | 81.32±6.12 | 76.47±3.81 | 76.58±10.62 | 67.20±4.00 | 68.64±5.99 | 66.15±7.88 | 66.15±7.88 | 18.55** | Day 6 (روز ششم) | |
| 11.55** | 20.56** | 7.57** | 21.39** | 24.47** | 21.74** | 13.15** | 25.75** | 18.55** | 18.55** | | | |
| 26.28(S) | 33.85(S) | 20.75(S) | 32.36(S) | 32.72(S) | 31.35(S) | 23.87(S) | 31.09(S) | 26.96(S) | 26.96(S) | | | |

Table 2-Synergistic effects of combination of Bt with *C. arizonica* extracts on *S. exigua* larval mortality in different days after exposure.

*, ** و ^{ns} به ترتیب نشان دهنده‌ی اختلاف آماری در سطح ۵، ۱ درصد و غیر معنی‌دار می‌باشد.

S, A و Ad به ترتیب نشان دهنده‌ی اثر سینرژیستی، آنتاگونیستی و جمععی می‌باشد. D: مرگ و میر مشاهده شده- مرگ و میر برآورد شده.

*, ** and ns indicates significancy in 5%, 1% and non-significant.

S, A and Ad Indicates, synergistic, antagonistic and additive effect respectively. D: Mortality observed-Mortality expected.

دوم و سوم عصاره‌ی برگ سرو نقره‌ای (به ترتیب ۱۲/۵ و ۶/۲۵ گرم بر لیتر) کمترین مقدار برای کارایی تبدیل در حشرات ثبت گردید (به ترتیب ۱۶/۱ و ۱۷/۹ درصد) ولی در تیمارهای مربوط به تلفیق غلظت ۰/۲ گرم بر لیتر با سه غلظت عصاره‌ی برگ سرو نقره‌ای اختلاف معنی‌داری با شاهد مشاهده نگردید. بالاترین کارایی تبدیل مربوط به تلفیق غلظت ۰/۸ گرم بر لیتر Bt با ۱۲/۵ گرم بر لیتر عصاره‌ی برگ سرو نقره‌ای با مقدار ۴۶/۶ درصد ثبت گردید که با شاهد منفی و مثبت اختلاف آماری نداشت (جدول ۳).

میانگین وزن غذای خورده شده به ازای هر لارو در تیمارهای مختلف دو عامل و تلفیق غلظت‌های مختلف آنها از نظر آماری اختلاف معنی‌دار نشان دادند ($F_{16,163}=2.06$, $p<0.05$). میانگین غذای خورده شده توسط هر لارو در تلفیق غلظت‌های مختلف به‌طور معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد و حالت انفرادی تیمارها بود (جدول ۳). کارایی تبدیل غذای خورده شده نیز در ترکیبات تیماری مختلف اختلاف آماری معنی‌داری نشان داد ($F_{16,34}=54.85$, $p<0.01$) (جدول ۳). همانگونه که مشاهده می‌شود در تیمارهای تلفیق غلظت اول Bt (۲ گرم بر لیتر) با غلظت

جدول ۳- تاثیر تلفیق عصاره‌ی برگ سرو نقره‌ای با حشره‌کش میکروبی Bt بر برخی فراسنجه‌های تغذیه‌ای کرم برگ‌خوار چغندر قند.

Table 3-Effects of Bt and *C. arizonica* extract combination on some nutritional parameters of *S. exigua*.

| Control- (شاهد مثبت) | 0.2 | | | 0.8 | | | 2 | | | - | | | Bt (g/l) (غلظت‌های Bt، گرم لیتر) | | | | |
|--------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------|----------------------------|----------------------------|-------------------------------------|---------------------------|----------------------------|--|---------------------------------------|
| | 6.25 | 12.5 | 25 | 6.25 | 12.5 | 25 | 6.25 | 12.5 | 25 | - | - | - | 6.25 | 12.5 | 25 | Ext. (g/l) (غلظت‌های عصاره، گرم لیتر) | |
| 0.08±0.011 ^a | 0.072±0.011 ^{ab} | 0.073±0.008 ^{ab} | 0.065±0.008 ^{ab} | 0.059±0.009 ^{abc} | 0.046±0.01 ^{abcd} | 0.043±0.008 ^{cde} | 0.03±0.01 ^{de} | 0.015±0.002 ^e | 0.014±0.005 ^e | 0.015±0.004 ^e | 0.062±0.008 ^{abc} | 0.053±0.01 ^{abc} | 0.039±0.005 ^{cde} | 0.068±0.007 ^{ab} | 0.063±0.005 ^{abc} | 0.06±0.007 ^{abc} | LWG (g) (افزایش وزن لارو) (گرم) |
| 0.199±0.012 ^a | 0.188±0.021 ^{ab} | 0.187±0.021 ^{ab} | 0.155±0.025 ^{abc} | 0.136±0.023 ^{bcd} | 0.104±0.03 ^{bcd} | 0.088±0.02 ^{cd} | 0.09±0.03 ^{bcd} | 0.104±0.027 ^{bcd} | 0.117±0.029 ^{bcd} | 0.069±0.003 ^d | 0.161±0.016 ^{abc} | 0.157±0.024 ^{abc} | 0.146±0.024 ^{abc} | 0.178±0.03 ^{abc} | 0.185±0.023 ^{abc} | 0.166±0.018 ^{abc} | IFW (g) (وزن غذای خورده شده) (گرم) |
| 41.24±0.72 ^b | 38.99±0.46 ^{bc} | 38.94±0.09 ^{bc} | 41.21±0.39 ^b | 42.62±0.44 ^b | 42.48±1.02 ^b | 46.6±1.22 ^a | 34.66±0.45 ^d | 17.91±1.67 ^f | 16.1±2.35 ^f | 26.91±2.95 ^e | 38.93±0.35 ^{bc} | 34.74±0.61 ^d | 28.35±0.73 ^e | 37.26±0.402 ^{cd} | 33.97±0.056 ^d | 36.79±0.224 ^{cd} | ECI (کارایی تبدیل غذای خورده شده) |

حروف مشابه در هر پارامتر نشان دهنده‌ی عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

Means followed by the same letter in each parameter are not significantly different at the 5% level of significance.

جنبه‌های با ارزش استفاده از عوامل کنترل میکروبی تاثیر دوزهای زیر کشنده‌ی آنها بر جمعیت آفت در طی زمان می‌باشد (Kakde et al., 2014; Luna-Espino et al., 2018). مطالعات متعددی در قالب جداول زیستی اثرات این آفت‌کش‌ها را بر پویایی جمعیت حشرات مختلف نشان داده است (Desneux et al., 2007; Abdelgaleil and El-Sabrou, 2018; Jafarbeigi et al., 2012). مرگ و میر در زمان کوتاه‌تر در تلفیق عصاره‌ی برگ سرو نقره‌ای با Bt از نتایج قابل توجه در بررسی حاضر می‌باشد. هر چند

بحث

کنترل میکروبی کرم برگ‌خوار چغندر قند به‌دلیل تاثیر مناسب بر مرگ و میر مرحله‌ی لاروی حشرات هدف، امنیت نسبی بالای آنها در مقایسه با حشره‌کش‌های مصنوعی متداول، زیست‌سازگار بودن، تخصص میزبانی، زیست‌تخریب پذیری آسان و همچنین در بحث مدیریت مقاومت با آفت‌کش‌ها به‌دلیل نحوه‌ی اثر متفاوتی که دارند، مورد توجه است (Moar et al., 1986; Shahid et al., 2019; Hosseinzadeh and Aramideh, 2016). یکی از

از اثرات دوزهای زیرکشندهی Bt می‌توان به افزایش طول دوره‌ی لاروی اشاره کرد که توسط محققین مختلف روی حشرات مختلف بررسی و اثبات شده است (Singh et al., 2007; Abedi et al., 2014; Nouri-Ganbalani et al., 2016; Younes et al., 2018). تطویل دوره‌ی لاروی با تاثیر بر اکولوژی زیستی حشره، با اختلال در بیولوژی آفت در راستای زمستانگذرانی، غیرهمزمانی با مرحله‌ی حساس گیاه، تاثیرپذیری بیشتر از عوامل کنترل زیستی و کاهش تعداد نسل حشره می‌تواند در امر کاهش جمعیت حشره موثر باشد (Thomas, 1999). همچنین از مزایای آن می‌توان به تاثیر کمتر بر دشمنان طبیعی را نیز ذکر کرد (Jansen et al., 2017).

مطالعات متعددی اثرات سینرژیستی عصاره‌های گیاهان مختلف را بر کارایی Bt نشان داده است. در بررسی تاثیر استفاده‌ی همزمان Bt و حشره‌کش گیاهی آزادیراکتین نتایج مشابهی بدست آمد. تلفیق غلظت‌های زیر کشنده‌ی هر دو عامل اثر سینرژیستی بخصوص در مقادیر LC_{50} نشان داد. همچنین در لاروهای تیمار شده با تلفیق دو عامل میزان پروتئین، گلیکوژن و حتی لیپید کل بدن که منابع انرژی و رشد حشره هستند در مقایسه با تک عوامل و شاهد، کاهش معنی‌داری ثبت گردید. فعالیت آنزیم‌های آلفا-آمیلاز و پروتئاز کل نیز در این تیمارها کمتر بود. همچنین در این بررسی مشخص شد که افزایش وزن لارو و همچنین میزان غذای خورده شده به ازای هر لارو در طی دوره‌ی پنج روزه مطالعه در مقایسه با حالت انفرادی و تیمار شاهد در تلفیق غلظت‌های زیر کشنده به میزان بیشتری کاهش یافته و به تبع آن کارایی تبدیل غذای خورده شده نیز (ECI) در تلفیق غلظت کشنده ۵۰٪ هر دو عامل به کمترین میزان خود (۱۱/۵) در مقایسه با شاهد (۳۸/۴) رسید (Nouri-Ganbalani et al., 2016). در بررسی دیگری تاثیر حالت انفرادی و تلفیق Bt و عصاره‌ی هگزانی گیاه *Rumex tingitanus* علیه لاروهای کرم برگخوار پنبه، *Spodoptera littoralis* بررسی شده و اثرات سینرژیستی عصاره‌ی گیاهی بر Bt در مرگ و میر لاروها به اثبات رسید. این محققین دلیل این تشدید اثر را به واسطه حضور ترکیباتی مانند سیتروسترول^۲ و امیرین^۲

کاربردهای موفق آزمایشگاهی و مزرعه‌ای Bt روی کرم برگخوار چغندر قند و سایر بالپولکداران خانواده‌ی نوکتوئید ثبت شده است (Roh et al., 2007) ولی مطالعات و شواهد متعددی مبنی بر کاهش کارایی آن در اثر بروز مقاومت وجود دارد (Moar et al., 1995). تلفیق عوامل کنترلی با یکدیگر با توجه به اثرات سینرژیستی قابل توجه، ابزاری نیرومند در مدیریت تلفیقی آفات برای کاهش فشار سمپاشی و مدیریت مقاومت می‌باشد (Sheikh et al., 2017). همچنین توجه به پارامترهای زیستی کرم برگخوار چغندر قند تحت تاثیر دوزهای زیرکشنده Bt و تلفیق آن با یک عصاره‌ی گیاهی که از امنیت بالایی برخوردار است، جدای از اثرات حاد کشندگی، ارزش و کارایی Bt را در سطح یک روش کنترل میکروبی موفق حفظ خواهد کرد. افزایش طول دوره‌ی لاروی و یا طول دوره‌ی زندگی حشرات مختلف در تیمار با Bt در تحقیقات مختلف مشخص شده است (Peyronnet et al., 1997; Melo et al., 2014). در منابع مختلف دلایل متعددی برای آن ذکر شده است از جمله تاثیر بر متابولیسم، تحریک سیستم ایمنی بدن و صرف انرژی برای مبارزه با عوامل خارجی، تاثیر بر میزان هضم و جذب مواد غذایی، صدمه به بافت معده‌ی میانی و کاهش کارایی آن به واسطه کریستال سمی Bt، اختلال در فشار اسمزی سلول‌های دیواره‌ی معده‌ی میانی و تغییر و ناپایداری اسیدیته آن و غیره که در مجموع با اثرات سوء بر هضم و جذب و متابولیسم موجب کاهش کارایی و رشد عادی حشره می‌شود. در بررسی حاضر تطویل دوره‌ی رشدی لاروی در استفاده از Bt و بخصوص تلفیق آن با عصاره‌ی اتانولی برگ سرو نقره‌ای مشاهده شد که اثرات مثبت آن در کنترل جمعیت کرم برگخوار چغندر قند در شرایط آزمایشگاهی قابل توجه است. با توجه به درصد بسیار پایین ظهور حشرات کامل در دوره‌ی طولانی رشدی، علاوه بر اثرات انفرادی مرگ و میر و کاهش وزن و افزایش مدت زمان در معرض دشمنان طبیعی قرارگیری، بر جمعیت این حشره تاثیر منفی خواهد داشت.

² amyrin

¹ -Sitosterol

Bt بر پارامترهای زیستی پشه *Anopheles sundaicus* می‌باشد، نتایج نشان داد که طول دوره‌ی لاروی و طول دوره‌ی زندگی این پشه در تلفیق غلظت‌های مختلف افزایش معنی‌داری در مقایسه با شاهد نشان داد. در تلفیق غلظت‌های ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر Bt با غلظت دو گرم بر لیتر عصاره گیاهی طول دوره‌ی رشدی حشره به ۱۷/۲ و ۱۵/۵ روز در مقایسه با شاهد (۱۱/۵ روز) افزایش یافته است در حالی که این مقدار در دوزهای کمتر Bt به میزان کمتری افزایش یافته است. درصد مرگ و میر در کل دوره نیز در تلفیق غلظت‌های بالای Bt بیشتر از غلظت‌های پایین بود (۴۶ درصد در مقایسه با شش درصد در پایین‌ترین غلظت). درصد ظهور حشرات کامل نیز در تیمار تلفیق غلظت بالای Bt با عصاره گیاهی تا ۵۰ درصد کاهش نشان داد. این محققین ترکیبات فعال موجود در عصاره گیاهی را دلیل هم‌افزایی تاثیر Bt با این عصاره دانستند (Kumar et al., 2012). با توجه به نتایج مشابه تحقیقات حاضر می‌توان دلیل اثرات تلفیق عصاره‌ی سرو نقره‌ای با Bt بر فراسنجه‌های زیستی و تغذیه‌ای کرم برگ‌خوار چغندرقد را حضور متابولیت‌های ثانویه موثر در عصاره گیاهی دانست. در مطالعه‌ی دیگری تاثیر عصاره گیاهی *Catharanthus roseus* و Bt و تلفیق غلظت‌های مختلف آنها بر لاروهای سنین مختلف پشه *Anopheles stephensi* بررسی شده و مشخص شد که با افزایش غلظت دو عامل مرگ و میر به میزانی بیشتر از شاهد افزایش یافت. همچنین مشخص شد که با گذشت زمان تاثیر تلفیق این دو عامل بسیار خوب بوده و تقریباً ۱۰۰ درصد لاروها از بین رفتند. دلیل افزایش کارایی Bt، متابولیت‌های فعال در عصاره گیاهی بیان شد (Panneerselvam et al., 2013).

ترکیبات شیمیایی عمده عصاره‌ی سرو نقره‌ای از مونوترپن‌هایی مانند α -pinene, umbellulone, limonene تشکیل شده است که این ترکیبات در منابع مختلف اثرات مختلفی بر مرگ و میر و نشو و نما حشرات مختلف نشان داده‌اند (Sedaghat et al., 2011). ترپن‌ها می‌توانند در فرایند هضم و جذب اختلال ایجاد کنند. این ترکیبات با اختلال در کارکرد آنزیم‌های گوارشی و مهار آنزیم‌های

در عصاره گیاهی می‌دانند که خود خاصیت حشره‌کشی داشته و باعث افزایش اثر Bt نیز شده است. همچنین ممانعت از غیر سمی کردن دلتا-اندوتوکسین به واسطه‌ی حضور متابولیت‌های گیاهی، بوسیله فعالیت آنزیمی دستگاه گوارش حشره از دلایل افزایش اثر تلفیق دو عامل ذکر شده است (Mhalla et al., 2018). همچنین در بررسی مشابهی در شرایط آزمایشگاهی مشخص شد که، تلفیق Bt با آزادیراکتین علیه کرم قوزه‌ی پنبه، *H. armigera* مرگ و میر تجمعی لاروها به صورت وابسته به غلظت در طی هفت روز افزایش یافته است. تاثیر هر دو عامل بر میزان ظهور حشرات کامل و شفیره کرم غوزه‌ی پنبه به صورت کاهشی ثبت شده است. افزایش مرگ و میر در طی دوره‌ی لاروی، افزایش طول دوره‌ی لاروی، کاهش وزن لاروها و شفیره‌ها، افزایش طول دوره‌ی شفیرگی در تیمار مقادیر LC₃₀ هر دو عامل مشاهده شد. تلفیق مقادیر LC₂₀ هر دو عامل پس از هفت روز در معرض قرارگیری به روش گوارشی به ترتیب موجب افزایش ۵ و ۲/۵ برابری مرگ و میر در مقایسه با خود آزادیراکتین و Bt شده است (Abedi et al., 2014). در مطالعه مشابهی تاثیر Bt و دو عصاره گیاهی به صورت انفرادی و در تلفیق با یکدیگر بر شاخص‌های فیزیولوژیک تغذیه زنجره *Cnaphalocrocis medinalis* بررسی شده و نتایج نشان داد که، هر چند دوزهای زیر کشنده Bt و عصاره گیاهان *Vitex negundo* و آزادیراکتین شاخص‌های تغذیه-ای این زنجره را در مقایسه با شاهد کاهش دادند ولی در تلفیق Bt با عصاره‌های گیاهی شاخص‌های تغذیه‌ای به میزان بیشتری کاهش یافت. نکته مهم در بررسی این محققین این بود که افزایش غلظت Bt به مراتب بیشتر از عصاره‌های گیاهی در فیزیولوژی تغذیه زنجره موثر بود. که در بررسی حاضر نیز این موضوع اثبات شد. در این بررسی مشخص شد که تلفیق Bt با عصاره‌های گیاهی درصد مرگ و میر پوره‌ها را افزایش و زمان مرگ و میر را کاهش داده است و ترکیبات فعال زیستی موجود در عصاره‌های گیاهی، کارایی Bt را افزایش داده است (Nathan et al., 2005). از تحقیقات مشابه انجام گرفته، بررسی تاثیر تلفیق عصاره گیاهی *Sargassum wightii* با

شده است (Caccia et al., 2016). مونوترپن‌های موجود در عصاره‌ی سرو نقره‌ای مانده α -pinene، اثرات آنتی-باکتریال خیلی خوبی دارند (Cheraif et al., 2007). یکی دیگر از دلایل افزایش کارایی Bt در تلفیق با عصاره‌ی برگ سرو نقره‌ای علیه کرم برگخوار چغندر قند، می‌تواند مربوط به تاثیر این عصاره بر فلور باکتریایی معده‌ی میانی و همزیست‌های کرم برگخوار چغندر قند باشد که با کاهش فعالیت و تراکم آنها، تاثیر کریستال سمی Bt افزایش یافته است. و یا امکان دارد با کاهش فعالیت همزیست‌ها، فیزیولوژی گوارش دچار اختلال شده و نشو و نمای لاروها مختل گردد. البته این موضوع از نظر تاثیر عصاره بر خود باکتری Bt و احتمال کاهش فعالیت باکتریایی آن نیز قابل بحث است. به عنوان مثال در یک بررسی اثرات سوء عصاره‌ی چند گیاه بر تشکیل کلنی Bt و احتمال کاهش اثرات کریستال سمی مورد مطالعه قرار گرفته است. هرچند گیاهان مطالعه شده تاثیر منفی بر رشد باکتری داشتند ولی تلفیق عصاره‌ی این گیاهان با باکتری Bt اثرات کنترلی قابل قبولی نشان داد و نتایج در مقایسه با خود Bt تفاوت معنی‌داری نداشت (Vilani et al., 2017). در مجموع با اثرات زیستی قابل مشاهده در تلفیق عصاره‌ی برگ سرو نقره‌ای با Bt بر لاروهای کرم برگخوار چغندر قند و با توجه به مزایای زیست‌محیطی و امنیت نسبی هر دو عامل کنترل، این تلفیق در بحث مدیریت کرم برگخوار چغندر قند بهتر عمل کرده و شاید بتوان از آن به عنوان ابزاری برای افزایش کارایی Bt استفاده کرد.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل نتایج بخشی از طرح تحقیقاتی است که با حمایت معاونت محترم پژوهش و فناوری دانشگاه شهید مدنی آذربایجان اجرا شده است.

گوارشی موجب سوء هاضمه و اثرات پس‌آیند آن بر نشو و نمای حشره می‌شوند (Karasov and Douglas, 2018). اثرات ضد استیل کولین استرازی مونوترپن‌هایی مانند α -pinene نیز در منابع اشاره شده است (Zarrad et al., 2017). همچنین مشخص شده است که مونوترپن‌ها تغییرات ساختمانی در سلولهای معده میانی حشرات ایجاد کرده و کارایی آنها را به شدت کاهش می‌دهند (López et al., 2011). از عوامل کاهنده‌ی اثر Bt در معده‌ی میانی حشرات مقاوم، فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک گزارش شده است که در فرآیند فعال شدن پروتئین سمی Bt اختلال ایجاد می‌کند (Keller et al., 1995). افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئاز در حشرات مقاوم به Bt مشخص شده است (Candas et al., 2002; Loseva et al., 2002). در بررسی حاضر به نظر می‌رسد کاهش کارایی آنزیم‌های پروتئاز توسط عصاره‌ی اتانولی سرو نقره‌ای از دلایل افزایش کارایی Bt در تلفیق با آن باشد. اگر اثرات فیزیولوژیکی Bt بر معده‌ی میانی حشرات را به اثرات فیزیولوژیک عصاره‌ی برگ سرو نقره‌ای اضافه کنیم اثرات سینرژیستی مشاهده شده در بررسی حاضر تا حدودی قابل توجیه خواهد بود. اختلال در کارکرد طبیعی معده‌ی میانی و دستگاه گوارش اثرات منفی بر نشو و نمای حشره خواهد گذاشت که از آن جمله می‌توان به کاهش وزن و تطویل دوره‌ی رشدی اشاره کرد. اثرات مزمن این تلفیق بر مرگ و میر لاروها، شفیره و درصد پایین ظهور حشرات کامل نیز دور از انتظار نیست. همچنین مشخص شده است که فعالیت میکروارگانسیم‌های همزیست معده‌ی میانی حشرات در غیر سمی کردن و کاهش اثرات Bt موثر است و یکی از مکانیسم‌های مقاومت در حشرات مقاوم، فعالیت همزیست‌ها گزارش

منابع

- Abdelgaleil SAM and El-Sabrou AM, 2018. Anti-nutritional, antifeedant, growth-disrupting and insecticidal effects of four plant essential oils on *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). Journal of Crop Protection 7(2): 135-150.
- Abedi Z, Saber M, Vojoudi S, Mahdavi V and Parsaeyan E, 2014. Acute, sublethal, and combination effects of azadirachtin and *Bacillus thuringiensis* on the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. Journal of Insect Science 14: 1-9.
- Adams RP and Bartel JA, 2009. Geographic variation in *Hesperocyparis* (*Cupressus*) *arizonica* and *H. glabra*: RAPDS analysis. Phytologia 91(1): 244-250.

- Ahmad M, Farid A and Saeed M, 2018. Resistance to new insecticides and their synergism in *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) from Pakistan. *Crop Protection* 107: 79–86.
- Ahmad M and Arif ME, 2010. Resistance of beet armyworm *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) to endosulfan, organophosphorus and pyrethroid insecticides in Pakistan. *Crop Protection* 29: 1428-1433.
- Alexenizer M and Dorn A, 2007. Screening of medicinal and ornamental plants for insecticidal and growth regulating activity. *Journal of Pesticide Science* 80(4):205-215.
- Altemimi A, Lakhssassi N, Baharlouei A, Watson DG and Lightfoot DA, 2017. Phytochemicals: extraction, isolation, and identification of bioactive compounds from plant extracts. *Plants* 42: 1-23.
- Amoabeng BW, Johnson AC and Gurr GM, 2019. Natural enemy enhancement and botanical insecticide source: a review of dual use companion plants. *Applied Entomology and Zoology* 54:1–19.
- Cacciaa S, Di Lelioa I, La Storiaa A, Marinellia A, Varricchioa P, Franzettia E, Banyulsb N, Tettamantia G, Casartellid M, Giordanad B, Ferréb J, Gigliottie S, Ercolinia D and Pennacchioa F, 2016. Midgut microbiota and host immunocompetence underlie *Bacillus thuringiensis* killing mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113(34): 9486–9491.
- Candas M, Loseva O, Oppert B, Kosaraju P and Bulla LA, 2002. Insect Resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Molecular and Cellular Proteomics* 2: 19-28.
- Chattopadhyay P, Banerjee G and Mukherjee S, 2017. Recent trends of modern bacterial insecticides for pest control practice in integrated crop management system. *Biotech* 3: 1-12.
- Chéraif I, Ben Jannet H, Hammami M, Khouja ML and Mighri Z. 2007. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Cupressus arizonica* Greene. *Biochemical Systematics and Ecology* 35(12): 813-820.
- Das SK, 2014. Scope and relevance of using pesticide mixtures in crop protection: a critical review. *International Journal of Environmental Science and Toxicology Research* 2(5): 119-123.
- Desneux N, Decourtye A and Delpuech JM, 2007. The Sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology* 52:81-106.
- Douglas AE, 2018. Strategies for enhanced crop resistance to insect pests. *Annual Review of Plant Biology* 69: 637–660.
- Duisembecova BA, Dubovskiyb IM and Glupovb VV, 2017. Effect of Plant Secondary Metabolites on Susceptibility of Insects to Entomopathogenic Microorganisms. *Contemporary Problems of Ecology* 10: 286–292.
- Ebadollahi A, 2011. Iranian plants essential oils as a source of natural insecticides agents. *International Journal of Biological Chemistry* 5(5): 266-290.
- Farahani S, Talebi AA and Fathipour Y, 2011. Life cycle and fecundity of *Spodoptera exigua* (Lep.: Noctuidae) on five soybean varieties. *Journal of Entomological Society of Iran* 30(2): 1-12.
- Gad AA and Al-Dakhil AA, 2018. Efficacy of *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) and four plant extracts on the mortality and development of *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 28:62: 1-5.
- Greenberg SM, Sappington TW, Legaspi BC, Liu TX and Sétamou DM, 2001. Feeding and Life History of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) on Different Host Plants. *Annals of the Entomological Society of America* 94(4): 566-575.
- Hosseinzadeh A and Aramideh S, 2016. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki and Spinosad on three larval stages of beet armyworms *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lep: Noctuidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies* 4(5): 375-379.

- Ishtiaq M and Saleem MA, 2011. Generating Susceptible Strain and Resistance Status of Field Populations of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) Against Some Conventional and New Chemistry Insecticides in Pakistan. *Journal of Economic Entomology* 104(4):1343-1348.
- Ishtiaq M, Saleem MA and Razaq M, 2012. Monitoring of resistance in *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) from four districts of the Southern Punjab, Pakistan to four conventional and six new chemistry insecticides. *Crop Protection* 33: 13-20.
- Jafarbeigi F, Samih MA, Zarabi M and Esmaeily S, 2012. The effect of some herbal extracts and pesticides on the biological parameters of *Bemisia tabaci* (Genn.) (Hem.: Aleyrodidae) Pertaining to tomato grown under controlled conditions. *Journal of Plant Protection Research* 52(4): 375-380.
- Jansen JP, Lauvaux S, Gruntowy J and Denayer J, 2017. Possible synergistic effects of fungicide-insecticide mixtures on beneficial arthropods. *International Organization for Biological and Integrated Control* 125: 28-35.
- Kakde AM, Patel KG and Tayade S, 2014. Role of life table in insect pest management-a review. *Journal of Agriculture and Veterinary Science* 7(1): 40-43.
- Karasov WH and Douglas AE, 2013. Comparative Digestive Physiology. *Journal of Comparative Physiology* 3(2): 741-783.
- Khan HA, Akram W, Shad SA and Lee JJ, 2013. Insecticide mixtures could enhance the toxicity of insecticides in a resistant dairy population of *Musca domestica* L. *Plos One* 8(4):1-8.
- Keller M, Sneh B, Strizhov N, Prudovsky E, Regev A, Koncz C, Schell J and Zilberstein A, 1996. Digestion of delta-endotoxin by gut proteases may explain reduced sensitivity of advanced instar larvae of *Spodoptera littoralis* to Cry1C. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 26: 365- 373.
- Khater HF, 2012. Prospects of botanical pesticides in integrated pest management. *Pharmacologia* 3(12): 641-656.
- Koppenhöfer AM and Kaya HK, 2000. Interactions of a nucleopolyhedrovirus with azadirachtin and imidacloprid. *Journal of Invertebrate Pathology* 75: 84-86.
- Koppenhöfer AM, Grewal PS and Kaya HK, 2000. Synergism of entomopathogenic nematodes and imidacloprid against white grubs: the mechanism. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 94: 283-293.
- Kortbeek RWJ, Gragt M and Bleeker PM, 2019. Endogenous plant metabolites against insects. *European Journal of Plant Pathology* 154:67-90.
- Kumar KP, Murugana K, Kovendana K, Kumara AN, Hwangb JS and Barnard DR, 2012. Combined effect of seaweed (*Sargassum wightii*) and *Bacillus thuringiensis* var. israelensis on the coastal mosquito, *Anopheles sundaicus*, in Tamil Nadu, India. *Science Asia* 38: 141-146.
- Lina EC, Dadang D, Manuwoto S and Syahbirin G, 2017. Safety and effectiveness of mixed plant extracts formulation against cabbages pests under field conditions. *Journal of Biopesticide* 10(1):25-34.
- López MF, Cano-Ramírez C, Shibayama M and Zúñiga G, 2011. α -Pinene and Myrcene Induce Ultrastructural Changes in the Midgut of *Dendroctonus valens* (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae). *Annals of the Entomological Society of America* 104(3): 553-561.
- Loseva O, Ibrahim M, Candas M, Koller CN, Bauer LS and Bulla LA Jr. 2002. Changes in protease activity and Cry3Aa toxin binding in the Colorado potato beetle: implications for insect resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 32(5):567-77.
- Luna-Espino JC, Castrejón-Gómez VR, Pineda S, Figueroa JA and Martínez AM, 2018. Effect of four multiple nucleopolyhedrovirus isolates on the larval mortality and development of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae): determination of virus production and mean time to death. *Florida Entomologist* 101(2): 153-159.

- Maurya P, Sharma P, Mohan L, Verma MM and Srivastava CN, 2012. Larvicidal efficacy of *Ocimum basilicum* extracts and its synergistic effect with neonicotinoid in the management of *Anopheles stephensi*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 2(2):110-116.
- Melo AL, Soccol VT and Soccol CR, 2014. *Bacillus thuringiensis*: mechanism of action, resistance, and new applications: a review. *Critical Reviews in Biotechnology* 36(2):317-26.
- Mhalla D, Farhat-Touzri DB, Tounsi S and Trigui M, 2018. Combinational effect of *Rumex tingitanus* (Polygonaceae) hexane extract and *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin against *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *BioMed Research International* 1-7.
- Moar WJ, Osbrink WLA and Trumble JT, 1986. Potentiation of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* with Thuringiensin on beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology* 79: 1443-1446.
- Moar WJ, Pusztai-Carey M, Faassen HV, Bosch D, Frutos R, Rang C, Luo K and Adang MJ, 1995. Development of *Bacillus thuringiensis* CryIC resistance by *Spodoptera exigua* (Hubner) (Lepidoptera: Noctuidae). *Applied and Environmental Microbiology* 61(6): 2086–2092.
- Mohammadi D, Eivazian Kary N and Sharifi Azar Z, 2019. Effects of *Cupressus arizonica* extracts on some biological parameters of beet army worm *Spodoptera exigua*. 2nd International and 6th National Iranian Congress on Organic vs. Conventional Agriculture, Ardebil, Iran.
- Nathan SS, Chung PG and Murugan K, 2005. Effect of biopesticides applied separately or together on nutritional indices of the rice leaffolder *Cnaphalocrocis medinalis*. *Phytoparasitica* 33(2):187-195.
- Nawaz M, Mabubu JI and Hua H, 2016. Current status and advancement of biopesticides: Microbial and botanical pesticides. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 4(2): 241-246.
- Nouri-Ganbalani G, Borzoui E, Abdolmaleki A, Abedi Z and Kamita SG, 2016. Individual and Combined Effects of *Bacillus Thuringiensis* and Azadirachtin on *Plodia Interpunctella* Hubner (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Insect Science* 16(1): 95; 1–8.
- Okonkwo EU, 2004. Plant materials used for controlling insect pests of stored products in Nigeria, families annonaceae, piperaceae, and rutaceae. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, 11: 47-69.
- Panneerselvam C, Murugan K, Kovendan K, Kumar PM, Ponarulselvam S, Amerasan D, Subramaniam J and Hwang JS, 2013. Larvicidal efficacy of *Catharanthus roseus* Linn. (Family: Apocynaceae) leaf extract and bacterial insecticide *Bacillus thuringiensis* against *Anopheles stephensi* Liston. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 6(11):847-853.
- Peyronnet O, Vachon V, Brousseau R, Baines D, Schwartz JL and Laprade R, 1997. Effect of *Bacillus thuringiensis* toxins on the membrane potential of lepidopteran insect midgut cells. *Applied and Environmental Microbiology* 63(5):1679-84.
- Rajguru M, Sharma AN and Banerjee S, 2011. Assessment of plant extracts fortified with *Bacillus thuringiensis* (Bacillales: Bacillaceae) for management of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *International Journal of Tropical Insect Science* 31(1): 92–97.
- Roh JY, Choi JY and Li MS, 2007. *Bacillus thuringiensis* as a specific, safe, and effective tool for insect pest control. *Journal of Microbiol Biotechnology* 17:547-559.
- Ruberson JR, Herzog GA, Lambert WR and Lewis WJ, 1994. Management of the beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in cotton: role of natural enemies. *Florida Entomologist* 77(4): 440-453.
- Salama HS, Foda MS and Sharabay A, 1984. Novel biochemical avenues for enhancing *Bacillus thuringiensis* endotoxin potency against *Spodoptera littoralis* (Lep.: Noctuidae). *Entomophaga* 29 (2): 171-178.
- Sedaghat MM, Dehkordi AS, Khanavi M, Abai MR, Mohtarami F and Vatandoost H, 2011. Chemical composition and larvicidal activity of essential oil of *Cupressus arizonica* E.L. Greene against malaria vector *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). *Pharmacognosy Research* 3:135-139.

- Shahid MI, Arshad M, Hasan M and Aslam Khan M, 2019. Efficacy of Cry1Ac toxin from *Bacillus Thuringiensis* against the beet armyworm, *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Egyptian Journal of Biological Pest Control 29: 1-5.
- Shamseldean MM, Sharaby AF, Gesraha MA, Montasser SA and Ibrahim SA, 2013. Utilization of entomopathogenic nematodes combined with plant extracts and plant essential oils against grasshopper, *Heteracrir littoralis*. Journal of Basic and Applied Sciences Research 3(11): 289-294.
- Sheikh AA, Wani MA, Bano P, Nabi SU, Bhat TA, Bhat MA and Dar MS, 2017. An overview on resistance of insect pests against Bt Crops. Journal of Entomology and Zoology Studies 5(1): 941-948.
- Sieglwart M, Graillot B, Blachere Lopez C, Besse S, Bardin M, Nicot PC and Lopez-Ferber M, 2015. Resistance to bio-insecticides or how to enhance their sustainability: a review. Frontiers in Plant Science 6: 1-19.
- Singh G, Rup PJ and Koul O, 2007. Acute, sublethal and combination effects of azadirachtin and *Bacillus thuringiensis* toxins on *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. Bulletin of Entomological Research 97: 351-7.
- Singh P, 1977. Artificial diets for insects, mites, and spiders. IFI/Plenum Data Company, Springer, New York.
- Stenberg JA, 2017. A conceptual framework for integrated pest management. Trends in Plant Science 22 (9): 759-769.
- Su J and Sun XX, 2014. High level of metaflumizone resistance and multiple insecticide resistance in field populations of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) in Guangdong Province, China. Crop Protection 6: 58-63.
- Thomas M, 1999. Ecological approaches and the development of “truly integrated” pest management. Proceedings of the National Academy of Sciences. 96: 5944 -5951.
- Vilani A, Lozano ER, Potrich M, Alves LFA, Costa Maia FM, Agnol de Lima JD and Gouvea A, 2017. Activity of plant aqueous extracts on *Bacillus thuringiensis* and their interactions on *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Erebiniae). Ciências Agrárias, Londrina, 38 (2): 1051-1058.
- Waldbauer GP, 1968. The consumption and utilization of food by insects. Advances in Insect Physiology 5: 229-288.
- War AR, Paulraj MG, Hussain B, Ahmad T, War MU and Ignacimuthu S, 2014. Efficacy of a combined treatment of neem oil formulation and endosulfan against *Helicoverpa armigera* (Hub.) (Lepidoptera: Noctuidae). International Journal of Insect Science 6(1):1-7.
- Younes AA, Zohdy NZM, Abulfad HA and Fathy R, 2018. Microbial biopesticides affected age-stage life table of the tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). Egyptian Journal of Biological Pest Control 28(10): 1-8.
- Zarrad K, Laarif A, Ben Hamouda A, Chaieb I and Jemâa JMB, 2017. Anticholinesterase Potential of Monoterpenoids on the Whitefly *Bemisia tabaci* and Their Kinetic Studies. Journal of Agricultural Science and Technology 19: 643-652.
- Zhang P, Gao M, Mu W, Zhou C and Li XH, 2014. Resistant levels of *Spodoptera exigua* to eight various insecticides in Shandong, China. Journal of Pesticides Science 39(1): 7-13.

Enhancing Efficiency of *Bacillus thuringiensis* by Leaf Extract of *Cupressus arizonica* against *Spodoptera exigua* (Lep.: Noctuidae)

D Mohammadi^{1*}, N Eivazian Kary² and Z Sharifi Azar³

¹Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz-Iran.

²Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz-Iran.

³MSc Student of Entomology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz-Iran.

*Corresponding author: mohamadi@azaruniv.ac.ir

Received: 19 November 2019

Accepted: 12 April 2020

Abstract

Bacillus thuringiensis generally applies for controlling of *Spodoptera exigua* larvae. Applying high doses for effective control increases the risk of resistance developing. Integration of different pest controlling tactics is a useful component of pest management by decreasing the applied doses. Here, the lethal and sublethal effects of *Bacillus thuringiensis* (Bt) in combination with ethanolic extract of *Cupressus arizonica* (CA) on mortality and some biological parameters of *Spodoptera exigua* were evaluated. For bioassays, different concentrations of both agents, incorporated into artificial diet of insects. The results revealed that, larval mortality and life span, pupation and adult emergence were significantly affected. LC₅₀ values of Bt was measured as 4.25 and 0.76 g/l in first and 7th days of experiments respectively. Efficiency of ingested food (ECI) decreased to 16.1 and 17.9% in combination treatments of Bt (2 g/l) with respectively 12.5 and 6.25 g/l of CA extract in comparison with controls as 38.99%. Significantly higher larval mortality and adverse effects on nutritional parameters of the pest in combination treatments confirm the suitability of this combination as a candidate for greenhouse and field studies to aim of reduce the Bt resistance phenomena frequency and sustainable control of pest population.

Key words: ECI, Ethanolic extract, Synergistic effects, Life span, Nutritional parameters.