مجله پژوهش و توسعه جنگل
جلد 2، شماره 2، صفحه 154-145، (1395)

تأثیر زغال فعال و نشاسته در دوام بیماری‌زایی باکتری *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* روی لاروهای سن دوم برگ‌خوار درختان زبان‌گنجشک (*Nyssia graecarius* Staudinger (Lep.:Geometridae))

شهرام آرمیده*

- استادیار، گروه گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

تاریخ دریافت: 95/03/10 تاریخ پذیرش: 95/06/10

چکیده

باکتری (.B) *Bacillus thuringiensis* به‌عنوان یک عامل بیولوژیک در مبارزه با آفات هدف کاربرد عملی پیدا کرده، ولی تأثیر عوامل جوی و تابش مستقیم اشعه خورشید قدرت تأثیر و بقای آن را در طبیعت کاهش می‌دهد. در این پژوهش نقش حفاظتی زغال فعال و نشاسته در دوام بیماری‌زایی این باکتری روی لاروهای سن دوم برگ‌خوار درختان زبان‌گنجشک (*Nyssia graecarius* Staudinger) برای اولین بار در ایران مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور اثر تیمار سوسپانسیون باکتریایی در اختلاط با زغال فعال و نشاسته در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی تا 9 روز مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که قدرت بیماری‌زایی باکتری پس از پاشیدن روی میزبان در مدت کمتر از 7 روز تحت تأثیر نور خورشید به‌طور چشمگیری کاهش یافت. تیمار مخلوط باکتری با زغال فعال در مقایسه با مخلوط باکتری با نشاسته اثر حفاظتی بیشتری نشان داد، به‌طوری‌که تیمارهای باکتری، مخلوط باکتری با زغال فعال، مخلوط باکتری با نشاسته و تیمار شاهد پس از صفر، 7 و 9 روز قرار گرفتن در معرض نور در ارزیابی 48 ساعته به ترتیب (76/6، 70، 63/3، 6/6)، (53/3، 63/3، 53/3، 10) و (30، 53/3، 40، 10) درصد تلفات نشان دادند. بررسی حاضر نشان داد که برای افزایش زمان و قدرت تأثیر این باکتری از عوامل حفاظتی مانند زغال فعال می‌توان بهره گرفت.

واژه‌های کلیدی: باکتری *Bacillus thuringiensis*، زغال فعال، نشاسته، *Nyssia graecarius*.

* نویسنده مسئول: Email: Shahramaramideh@gmail.com

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

پروانه برگ‌خوار *Nyssia graecarius* Staudinger از خانواده Geometridae یکی از آفات مهم درختان زبان‌گنجشک و سیب است که با تغذیه از برگ‌های میزبان موجب خسارت شدید می‌شوند (Safaralizadeh and Karimpour, 2007). با این آفت به روش‌های گوناگون مبارزه می‌شود، یکی از روش‌های مرسوم استفاده از سموم شیمیایی است. سموم شیمیایی مانند تیغ دو لبه عمل کرده و باوجود کنترل آفت باگذشت زمان زیان-های جبران‌ناپذیری روی محیط‌زیست و سلامت انسان بر جای می‌گذارد (Trisyono and Whalon, 1997). با توجه به موفقیت‌های شگرف فنّاورانه و تحولات مربوط به مدیریت مبارزه با آفات و اثرهای تخریبی و زیان‌بار سموم شیمیایی استفاده از روش‌های جایگزین به‌ویژه مبارزه بیولوژیک بسیار زیاد موردتوجه قرار گرفته و به-عنوان یکی از راهکارهای مدیریت تلفیقی آفات مطرح و مورد تأکید قرار گرفته است (Wiedenmann, 2000). در این راستا، استفاده از عوامل بیماری‌زای حشرات به-ویژه باکتری *Bacillus thuringiensis* که از میکروارگانیسم‌های بیماری‌زای حشرات و مؤثرترین ماده بیولوژیکی برای از بین بردن سریع آفات حساس به این باکتری است، موردتوجه قرار گرفته است (Vachon *et al*., 2012; Tanada and Kaya, 1993). این باکتری قدرت بیماری‌زایی خوبی روی حشرات راسته بالپولکداران دارد و خاصیت بیماری‌زایی و حشره‌کشی آن در ارتباط با تأثیر اسپور و توکسین کریستالی بنام پاراسپورال یا دلتااندوتوکسین است که مدت کوتاهی پس از تغذیه و هضم در روده حشرات حساس، کریستال‌ها در محیط قلیایی روده لاروها تخریب‌شده و ترکیب پروتئینی آنها توسط پروتئازهای روده به پپتید تبدیل‌شده که برای سلول‌های اپیتلیوم روده لاروها بسیار مخرب و فلج‌کننده هستند (McGuire *et al*., 1994). برخی از عوامل محیطی نظیر نور، بارندگی و درجه حرارت با تأثیر روی کریستال‌ها و اسپورهای این باکتری پایداری آن را در محیط کم کرده و در نتیجه کارایی باکتری را در محیط به‌شدت کاهش می‌دهند (Dent, 1993؛ Arthurs *et al*., 2006؛ Dunkle and Shasha, 1988). نور خورشید به دلیل دارا بودن اشعه فرابنفش یک عامل بسیار مهم در کاهش کارایی باکتری است (Ignoffo *et al*., 1977؛ Ignoffo and Garcia, 1978؛ Salamouny *et al*., 2009). اشعه فرابنفش خورشید سبب کوتاه شدن طول دوره زنده‌مانی اسپورها (Dent, 1993)، کاهش سمیت پروتئین دلتا ایندوتوکسین (Talkhan *et al*., 2013) و غیرفعال شدن سلول‌های رویشی باکتری می‌شوند (Griego and Spence, 1987). بنابراین به‌کارگیری روش‌های مناسب حفاظت باکتری در برابر پرتوهای فرابنفش خورشید موجب افزایش و دوام فعالیت حشره‌کشی این باکتری می‌شود (Bull *et al*., 1976). در سال‌های گذشته چندین ماده طبیعی و مصنوعی به‌عنوان محافظ باکتری *B.t.* در برابر پرتو فرابنفش خورشید مورد استفاده قرار گرفته‌اند. از بین آنها ترکیبات آروماتیک مانند اسید اوریک، اسید پارا آمینوبنزوئیک، 2- هیدروکسی 4- متوکسی - ترمتون، اسید فولیک و تینوپال موفق‌ترین و مؤثرترین آنها بوده‌اند. این ترکیبات به دلیل جذب پرتو فرابنفش خورشید ترکیبات میکروبی را از اثرهای زیان-بار آن محافظت می‌کنند (Krensal, 1983). ترکیبات دیگری که به‌عنوان ترکیبات محافظتی نتایج قابل قبولی داشته‌اند شامل ریبوفلاوین اکریفلان، سبز متیل؛ رادومین- پ و قرمز گنگو هستند (Krensal, 1983؛ Bull *et al*., 1976؛ Dent, 1993). افزودن برخی مواد حفاظتی و چسبنده به *B.t.* مانند نیوفیلم-17 (NUFILM-17) دوام تأثیر باکتری روی حشره را بیشتر می‌کند (Moradeshaghi and Pourmirza, 1974)،

Archive of SID

www.SID.ir

نیوفیلم-17 یک ماده چسبنده و سازگار با محیط است که ضمن کمک به پخش بهتر آفت‌کش، ورقه بسیار ظریف را روی عامل مصرفی در سطوح استقرار روی گیاهان ایجاد می‌کند که آن را در مقابل اشعه فرابنفش، خشکی هوا و سایر عوامل مانند آبشویی حاصل از باران محافظت می‌کند (Dunkle and Shasha, 1989). در بررسی‌های صورت گرفته نشاسته و زغال فعال نیز نقش حفاظتی قابل‌توجهی در کاهش اثر اشعه فرابنفش روی ویروس پلی هدر هسته‌ای در کنترل آفت هلیوتیس نشان داده است (Ignoffo *et al*., 1991؛ Ignoffo *et al*., 1997).

در همین راستا، تحقیق حاضر به‌منظور بررسی تأثیر حفاظتی زغال فعال و نشاسته در دوام بیماری‌زایی باکتری *Bacillus thuringiensis* B. روی لاروهای سن دوم برگ‌خوار درختان زبان‌گنجشک (*Nyssia graecarius*) انجام شد.

مواد و روش‌ها

حشره مورد آزمایش

در این بررسی از لاروهای سن دوم برگ‌خوار درختان زبان‌گنجشک (*N. graecarius*) استفاده شد. تخم‌های آفت که به رنگ سبز و کپه‌ای گذاشته می‌شود جمع‌آوری و روی برگ‌های جوان زبان‌گنجشک انتقال و پرورش یافتند. آزمایش‌ها در منطقه نازلو نزدیک دانشگاه ارومیه در تیرماه سال 1392 انجام شد.

باکتری

برای انجام این بررسی از پودر تجاری باکتوسپین WP%16 ساخت شرکت بیوشیمی – فرانسه (*Biochem Products*, France) با 1600 IU/mg که یک حشره‌کش بیولوژیک مبتنی بر سوش *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* است.

زغال فعال

در این پژوهش زغال به قطر ذرات 0/2 تا 5 میلی‌متر با نام تجاری Charcocaps ساخت شرکت جیگانتیک – هند (Gigantic Carbon *Co., Ltd, India*) که دارای خاصیت داروئی و همچنین تصفیه‌کننده هوا و مواد شیمیایی است، استفاده شد.

نشاسته

نشاسته مورد استفاده در این پژوهش از منشأ گیاه سیب‌زمینی بوده و از بازار شهرستان ارومیه تهیه و بعد از پودر کردن مورد استفاده قرار گرفت.

زیست‌سنجی

تعیین کشندگی باکتری

به دلیل ماهیت حشره‌کشی باکتری که از طریق گوارشی مؤثر می‌باشند، آزمون‌های زیست‌سنجی به روش غوطه‌ور کردن برگ‌ها و محلول‌پاشی با سم‌پاش پشتی روی برگ‌های درختان زبان‌گنجشک انجام گرفت. برای ارزیابی و محاسبه LC_{50} باکتری آزمایش‌های مقدماتی شامل تأثیر پنج غلظت از باکتری به همراه تیمار شاهد به‌منظور تعیین غلظت‌های کمترین و بیشترین کشنده (20-80 درصد) روی لارو سن دوم انجام گرفت. سپس سه غلظت دیگر به روش لگاریتمی محاسبه شد. غلظت‌های مختلف تهیه و خوب به هم زده شد و به‌منظور پخش یکنواخت محلول‌ها در سطح برگ‌ها، به مقدار 1 درصد از توئین-20 که دارای خاصیت پخش‌کنندگی و چسبندگی است، استفاده شد. پس از آلوده‌سازی، برگ‌ها در دمای آزمایشگاه خشک شد. در تیمار شاهد از آب مقطر به همراه توئین20 استفاده شد. پس از تبخیر آب از سطح برگ‌ها، 10 عدد لاروهای سن دوم روی برگ‌ها به‌آرامی با قلم‌موی نرم قرار گرفتند. به‌منظور تبادل هوای درون ظروف، درب آنها با توری مسدود شد. تلفات لاروها پس از 24 و 48 ساعت شمارش شد. لاروهای مرده با زدن ضربه توسط قلم‌مو به سر آنها ثبت شد. به این نحو که در صورت تحرک،

Archive of SID

www.SID.ir

لارو زنده و در صورت عدم واکنش به ضربه و تغییر رنگ بدن، مرده محسوب شدند. در این پژوهش برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد.

ارزیابی اثر حفاظتی

برای انجام این پژوهش در طی آزمایش‌های مقدماتی اثر هرکدام از ترکیبات باکتری، نشاسته و زغال مستقل از اثر تابش نور خورشید در قالب طرح کرت کاملاً تصادفی روی لاروهای سن دوم میزبان به طریق گوارشی مورد بررسی قرار گرفت، بر این اساس غلظت 1045 پی‌پی‌ام باکتری و 1 در هزار از نشاسته و زغال به همراه تیمار شاهد آب مقطر هر تیمار به همراه یک درصد از توئین-20 در سه تکرار و در هر تکرار روی 10 عدد لارو سن دوم به طریقه گوارشی با تغذیه از برگ‌های آغشته به محلول ترکیبات در داخل ظروف پلاستیکی در ابعاد 15×10 سانتی‌متر انجام شد و تلفات حاصل بعد از 24 و 48 ساعت شمارش شد. به‌منظور انجام آزمایش اصلی نیز 12 درخت زبان‌گنجشک به‌عنوان میزبان آفت انتخاب شد و در قالب طرح کرت کاملاً تصادفی شامل 4 تیمار، باکتری با غلظت 1045 پی‌پی‌ام، باکتری 1045 پی‌پی‌ام به همراه یک در هزار زغال، باکتری 1045 پی‌پی‌ام به همراه یک در هزار نشاسته و تیمار شاهد آب مقطر هر تیمار به همراه یک درصد از توئین-20 هر تیمار روی سه درخت محلول‌پاشی شد؛ سپس شاخه‌هایی درست بعد از محلول‌پاشی بدون قرار گرفتن در برابر نور (صفر روز)، هفت روز در معرض نور (روز هفتم) و نه روز در معرض نور (روز نهم) به‌صورت تصادفی انتخاب و در داخل ظروف یک‌بارمصرف به قطر و بلندی 10×7 سانتی‌متر داده شدند. داخل هر ظرف تعداد 10 عدد لارو و در هر تیمار 30 عدد لارو سن دوم رهاسازی شد و مرگ‌ومیر لاروها بعد از 24 و 48 ساعت شمارش شدند، لازم به ذکر است آزمایش حفاظتی در برابر اشعه خورشیدی در شرایط غیر ابری و بدون بارندگی در دمای 4±32 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی 5±48 انجام شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

به‌منظور محاسبه مقادیر LC_{50} باکتری روی لاروهای سن دوم این آفت داده‌های حاصل از مرگ‌ومیر لاروها در نرم‌افزار SPSS-19 تجزیه پروبیت شد. همچنین در ارزیابی خاصیت حفاظتی پودر زغال و نشاسته روی باکتری مرگ‌ومیر ناشی از تیمارهای مختلف بعد از تبدیل داده‌ها به روش $\text{Arcsin}\sqrt{x}$ تجزیه واریانس یک‌طرفه و مقایسه میانگین‌ها به روش توکی در سطح اطمینان 95 درصد انجام گرفت. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel-2010 استفاده شد.

نتایج

مقدار LC_{50} حاصل از غلظت‌های مختلف باکتری روی لارو سن دوم *N. graecarius* بعد از 24 و 48 ساعت معادل 1047 و 540 پی‌پی‌ام به‌دست آمد (جدول 1).

اثر باکتری، زغال و نشاسته روی لارو سن دوم *N. graecarius*

نتایج حاصل از تجزیه واریانس تلفات سن دوم برگ‌خوار *N. graecarius* در اثر باکتری، زغال و نشاسته به همراه تیمار شاهد در زمان‌های 24 ساعت ($F_{(3,11)}$=47/17 ؛P=0/001)، 48 ساعت (P=0/001؛ $F_{(3,11)}$=81/58) نشان داد که با اطمینان 95 درصد بین تیمارها از نظر کشندگی اختلاف معنی‌داری وجود دارد. نتایج بررسی تأثیر جداگانه ترکیبات نشان داد لاروهای سن دو این آفت در مدت 24 و 48 ساعت با غلظت 1047 پی‌پی‌ام برابر 40 و 53/33 درصد تلفات ایجاد کرد اما تلفات در تیمار زغال فعال و نشاسته با شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد (شکل 1).

Archive of SID

www.SID.ir

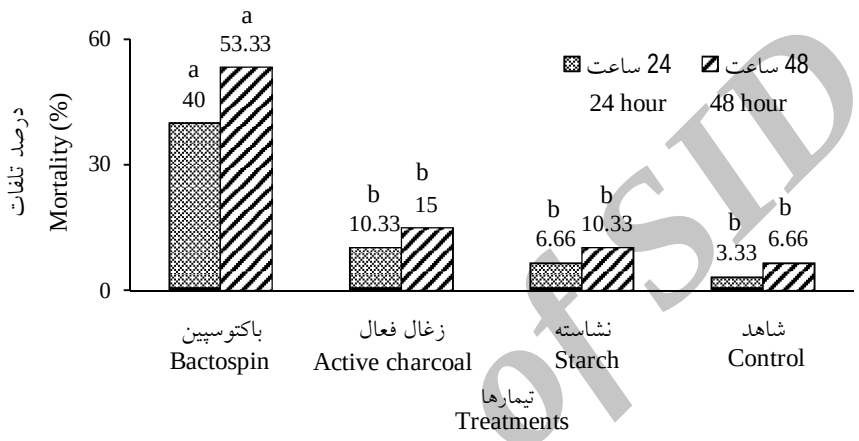
جدول 1- کشندگی باکتری *B. thuringiensis* روی لاروهای سن دوم برگ‌خوار *N. graecarius* پس از 24 و 48 ساعت

Table 1. Lethality of *B. thuringiensis* on second instar larvae of *N. graecarius* after 24 and 48 hours

غلظت‌های کشندگی (پی‌پی‌ام) Bactericidal concentrations (ppm)			Chi-square	Intercept	Slope ± SE	تعداد حشره Number of insect	زمان (ساعت) Time (hour)
حد بالا Upper limit	حد پایین Lower limit	LC_{50}					
1921.2	672.4	1047	2.645	-3.346	1.108±0.126	180	24
780.9	440.2	540	5.497	-2.640	0.245±0.966	180	48

Confident level: 95%

سطح اطمینان 95 درصد



شکل 1- درصد تلفات ناشی از تأثیر تیمارهای مختلف بعد از 24 و 48 ساعت روی لارو سن دوم برگ‌خوار *N. graecarius*

(حروف مشابه نشانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است $p\leq 0/05$)

Figure 1. Mortality percent of various treatments after 24 and 48 hours on 2nd instars larvae of *N. graecarius* (Similar letters showed no significant differences among treatments $p\leq 0.05$)

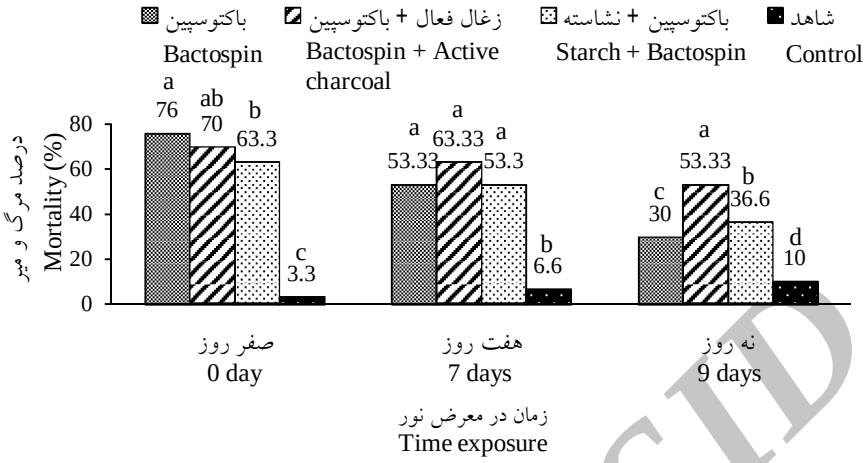
بررسی تأثیر مواد محافظ در حفظ کارایی باکتری روی لارو سن دوم *N. graecarius*

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به تلفات سن دوم برگ‌خوار *N. graecarius* در اثر تیمارهای باکتری تنها، مخلوط باکتری با نشاسته و مخلوط باکتری با زغال فعال به همراه تیمار شاهد که به مدت صفر، 7 و 9 روز در معرض اشعه خورشید قرار گرفته بودند در ارزیابی 24 و 48 ساعته به ترتیب با ($F_{(3,11)}$=32/4 ،P=0/001)، ($F_{(3,11)}$=167/3 ،P=0/001) و ($F_{(3,11)}$=120/0 ،P=0/001) نشان داد که با اطمینان 95 درصد بین تیمارها از نظر کشندگی اختلاف معنی‌داری وجود دارد (شکل 2). با توجه به نتایج، افزایش زمان تأثیر اشعه خورشید سبب کاهش تأثیر باکتری روی این آفت می‌شود. نتایج حاصل از گروه‌بندی میانگین‌ها نشان می‌دهد که در بررسی تأثیر تیمارهایی که در معرض نور خورشید قرار نگرفتند (صفر روز) تیمار باکتری بیشترین تلفات را روی میزبان ایجاد می‌کند اما در روز هفتم به‌علت قرار گرفتن هفت‌روزه در معرض خورشید مقدار کشندگی تیمار باکتری خالص کاهش‌یافته و با تیمارهای باکتری + نشاسته و باکتری + زغال تفاوت معنی‌دار نداشته و در یک گروه قرار گرفته‌اند و در روز نهم تأثیر باکتری خالص و باکتری + نشاسته به کمترین مقدار خود می‌رسد درحالی‌که تیمار باکتری + زغال همچنان کشندگی خوبی داشته و تلفات

Archive of SID

www.SID.ir

حاصل بعد از 9 روز تا حدود 53/3 درصد حفظ‌شده است. بنابراین زغال به مقدار قابل‌توجهی از اثرهای سوء اشعه خورشید در تخریب توکسین باکتری ممانعت می‌کند (شکل 2).



شکل 2- درصد مرگ و میر حاصل از تیمارهای مختلف (صفر، هفت و نه روز در معرض نور خورشید) روی لارو سن دو *N. graecarius*. (حروف مشابه بالای ستون‌ها نشانگر عدم اختلاف بین تیمارها است $p \leq 0/05$)

Figure 2. The percentages of mortality result from the different treatments (0, 7 and 9 days sun light exposure) on the second instar larvae of *N. graecarius*. (Similar letters top of the column showed no differences among treatments $p \leq 0.05$)

بحث

نتایج حاصل از انجام این بررسی نشان داد باکتری *Bacillus thuringiensis* اثر حشره‌کشی روی لاروهای پروانه برگ‌خوار *N. graecarius* دارد که برای اولین بار در ایران انجام این پژوهش گزارش می‌شود. آفت مذکور در سال‌های طغیان یکی از برگ‌خوارهای مهم و زیان‌آور زبان‌گنجشک، درختان سیب و بعضی از درختان دیگر است که با جمعیت و تراکم فوق‌العاده زیادی طغیان کرده و خسارت زیادی را با از بین بردن برگ های درختان میزبان به بار می‌آورد (Safaralizadeh and Karimpour, 2007). به‌طورکلی باکتری *Bacillus thuringiensis* به‌عنوان یک عامل بیولوژیک مؤثر در مبارزه با تعدادی از آفات به‌ویژه آفات جنگلی کاربرد عملی پیدا کرده است، ولی این باکتری در مقابل عوامل جوی و تابش مستقیم اشعه خورشیدی دوام چندانی ندارد. آزمایش‌هایی که در این زمینه انجام یافته نشان داده است که اثر حشره‌کشی باکتری بعد از پاشش به‌تدریج کاهش می‌یابد، به‌طوری‌که از روز پنجم تا نهم این کاهش به بیشترین مقدار خود می‌رسد (Moradeshaghi and Pourmirza, 1974). زیست‌سنجی فرمولاسیون باکتری *Bacillus thuringiensis* روی لارو سن دوم *Ephestia kuehniella* نشان می‌دهد، درصد مرگ‌ومیر لاروها بعد از 10 روز برای فرمولاسیون اشعه دیده نسبت به اشعه ندیده 10 درصد کاهش داشته است. این نتایج، تأثیر پوشش ذرات اسپور-کریستال باکتری توسط سدیم آلژینات را نشان می‌دهد (Griego and Spence, 1978). درحالی‌که اسپور-کریستال غیرمیکروکپسول به‌عنوان شاهد در برابر اشعه ماورای بنفش فعالیت کشندگی آن از 93 به 15 درصد کاهش یافت یعنی 78 درصد کاهش تلفات. این نتیجهٔ عدم پایداری اسپور-کریستال غیر پوشش داده شده با سدیم آلژینات را در برابر اشعه ماورای بنفش

Archive of SID
www.SID.ir

نشان می‌دهد؛ زیرا کریستال باکتری که از جنس پروتئین است در برابر اشعه ماوراءبنفش تخریب می‌شود و فعالیت کشندگی خود را از دست می‌دهد (Patricia *et al*., 2002). در تحقیق حاضر نیز مقدار کشندگی باکتری خالص در روز اول بدون تابش 76 درصد تلفات در میزبان ثبت شد درحالی‌که در روز هفتم و نهم تلفات لاروهای سن دوم به ترتیب 53/33 و 30 درصد کاهش یافت. افزودن مواد محافظ به *Bacillus thuringiensis* موجب دوام و تأثیر بیشتر باکتری روی لاروهای آفت مورد بررسی، می‌شود، در این بررسی با افزودن زغال فعال به باکتری، بیماری‌زایی باکتری در روز نهم 53/33 درصد ثبت شد که با نتایج Dent (1993) مطابقت دارد که مواد حفاظتی موجب افزایش دوام باکتری از 4 روز به 10 روز می‌شوند، که در نتیجه سبب افزایش درصد مرگ‌ومیر حشرات می‌شوند. نتایج بررسی نشان داده است که مدت‌زمان تابش خورشیدی به‌طور معنی‌داری قادر است کارایی فرمولاسیون‌های باکتریایی را کاهش دهد. لازم به یادآوری است اسپور باکتری در مقابل اشعه خورشیدی خیلی شکننده‌تر از توکسین کریستالین این باکتری است و با اضافه کردن نشاسته ژلاتینه دوام و تأثیر باکتری روی پروانه موم خوار *Galleria mellonella* L. به طرز معنی‌داری افزایش یافت (Dunkle and Shasha, 1989). همچنین McGuire and Shasha (1994) افزایش پایداری باکتری کپسوله شده در نشاسته را گزارش کردند (Dively *et al*., 1998). در همین راستا Morales-Ramos و همکاران (1998) باکتری را داخل نشاسته کپسوله کرده و فعالیت بیولوژیک آن را روی *Trichoplusia ni* (Hübner) بررسی کردند. بر اساس نتایج در کارایی باکتری بعد از 2 ماه، کاهش فراوانی مشاهده نشد. Dunkle and Shasha (1989) نیز نشان دادند که نشاسته پیش ژلاتین شده می‌تواند با موفقیت در تهیه فرمولاسیون کپسوله شده به‌کار رود، به‌طوری‌که نقش اصلی این ماده در کاهش اثر عوامل نامساعد محیطی روی اسپورها و کریستال‌ها و خاصیت انبارداری آن را تا 4 ماه افزایش می‌دهد (Bull *et al*., 1976). همچنین Jacques (1971) طی بررسی روی خاصیت حفاظتی مواد مختلف در برابر UV مشاهده کرد که نشاسته، زغال و رنگ غذا می‌توانند دوام و بقاء ویروس NPV و تأثیر آن روی لاروهای *Trichoplusia ni* که از آفات مهم کلم است افزایش دهند (Dively *et al*., 1998). همچنین Bull و همکاران در آزمایش‌های مربوط به افزایش بقاء ویروس NPV در طبیعت به‌منظور افزایش تلفات و کنترل *Heliothis zea* (Boddie) اندازه بقاء این ویروس را با افزودن زغال و یا دی‌اکسید تیتانیوم حدود 10 روز افزایش دادند (Kao and Rose, 1976).

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به اینکه یکی از محدودیت‌های کاربرد عوامل بیولوژیک نظیر *B.t.*، NVP و GV بقاء آنها در طبیعت و اثرهای تخریبی عوامل محیطی نظیر UV روی آنها است، از این‌رو به‌کارگیری مواد حفاظتی در تهیه فرمولاسیون‌های باکتری و ویروس‌ها و یا در حین کاربرد آنها می‌تواند مدت بیشتری در مقابل اشعه خورشیدی محافظت و همچنین زمان کنترل آفت را افزایش داد.

سپاسگزاری

از مدیر گروه محترم گروه گیاه‌پزشکی آقای دکتر میرفخرایی به دلیل فراهم آوردن امکانات لازم برای انجام این پژوهش و از همکار و استاد محترم پرفسور محمدحسن صفرعلیزاده به خاطر راهنمایی تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

Archive of SID

www.SID.ir

References

- Arthurs, S.P., L.A. Lacey & R.W. Behle, 2006. Evaluation of spray-dried lignin-based formulations and adjuvants as solar protectants for the granulovirus of the codling moth *Cydia pomonella* (L), Journal of Invertebrate pathology, 93(2):88-95.
- Bull, D.L., R.L. Ridgway, V.S. House & N.W. Pryor, 1976. Improved formulations of the Heliothis nuclear poly hedrosis virus, Journal of Economic Entomology, 69(6):731-736.
- Dent, D.R., 1993. The use of *B. thuringiensis* as an insecticide, IN: Exploitations of microorganisms, (Ed. Gare Jones D.) University Press, Cambridge, London, pp. 19-32.
- Dively, G.P., P.A. follett, J.J. Londuska & G.K. Roderick, 1998. Use of imidaclopride-treated row mixtures for Colorado potato beetle (*Col. Chrysomelidae*) management, Journal of Economic Entomology, 91(2): 376-387.
- Dunkle, L.R. & B.S. Shasha, 1988. Starch-encapsulated Bacillus thuringiensis: A potential new method for increasing environmental stability of entomopathogens, Environmental Entomology, 17(1):120-126.
- Dunkle, L.R. & B.S. Shasha, 1989. Response of starch- encapsulate *Bacillus thuringiensis* containing ultraviolet screens to sunlight, Environmental entomology, 18(6):1035-1041.
- Talkhan, F. N., H. Abo-assy, M.M. Azzam & A. Abdel-Razek, 2013. Activity of delta-endotoxin protein crystals in *Bacillus thuringiensis* mutants when influenced by UV treatments. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 46(11): 1346-1358.
- Griego, V.M. & K.D. Spence, 1987. Inactivation of *Bacillus thuringiensis* spores by ultraviolet and visible light, Applied and Environmental Microbiology, 35(5):906-910.
- Griego, V.M. & K.D. Spence, 1978. Inactivation of *Bacillus thuringiensis* spores by ultraviolet and visible light, Applied and Environmental Microbiology, 35(5):906–910.
- Ignoffo, C.M. & C. Garcia, 1978. UV-photo inactivation of cells and spores of *Bacillus thuringiensis* and effects of peroxide on inactivation, Environmental Entomology, 7(2):270-272.
- Ignoffo, C.M., B.S. Shasha & M. Shapiro, 1991. Sunlight ultraviolet protection of the Heliothis nuclear polyhedrosis virus through starch-encapsulation technology, Journal of invertebrate pathology, 57(1):134-136.
- Ignoffo, C.M., C. Garcia & S.G. Saathoff, 1997. Sunlight stability and rain-fastness of formulations of *Baculovirus heliothis*, Environmental entomology, 26(6):1470-1474.
- Ignoffo, E.M., D.L. Hostetter, P.P. Sikorowski, G. Sutter & W.M. Brooks, 1977. Inactivation of representative's species of entomopathogenic viruses, a bacterium, fungus and protozoan by an ultraviolet light source, Environmental Entomology, 6(3):411-415.
- Jacques, R.P., 1971. Tests on foliar deposits of a polyhedrosis virus, Journal of Invertebrate Pathology, 17(1):9-16.
- Kao, H.W. & R.I. Rose, 1976. Effect of sunlight on the virulence of the granulosis virus of the diamondback moth and evaluation of some protective adjuvants, Plant protection bulletin, 18:391-395.
- Krensal, J.W., 1983. Diversity of location for *Bacillus thuringiensis* crystal protein gens, Journal of Bacteriology, 154(1):419-428.
- McGuire, M.R., B.S. Shasha, L.C. Lewis & T.C. Nelson, 1994. Residual activity of granular starch- encapsulated *Bacillus thuringiensis*, Journal of economic entomology, 87(3):631-637.
- Moradeshaghi, M.J. & A.A. Pourmirza, 1974. Investigation of the resistance of different instar larvae of Indian moth (*Plodia interpunctella*) to the microbial insecticide *Bacillus thuringiensis*, Journal of Entomological Society of Iran, 2(1): 25-34. (In Persian)
- Morales-Ramos, L.H., M.R. McGuire & L.J. Galan-Wong, 1998. Utilization of several biopolymers for granular formulations of *Bacillus thuringiensis*, Journal of Economic Entomology, 91(5): 1109-1113.
- Patricia, T.G., R.M. Michael, W.B. Robert, S. Baruch & L.P. Randall, 2002. Storage stability of *Anagrapha falcifera* nucleopolyhedrovirus in spray-dried formulations, Journal of Invertebrate Pathology, 79(1): 7-16.
- Safaralizadeh, M.H. & Y. Karimpour, 2007. Some biological characteristics of *Nyssia graecarius* (Lepidoptera: Geometridae) in Urmia Region, Journal of the Entomological Research Society, 9(3):1-6.
- Salamouny, S.E.I., D. Ranwala, M. Shapiro, B.M. Shepard & R.R. Farrar, 2009. Tea,

Archive of SID

www.SID.ir

coffee, and cocoa as ultraviolet radiation protectants for the beet armyworm nucleopolyhedrovirus, Journal of Economic Entomology, 102(5): 1767-1773.

- Tanada, Y. & H.K. Kaya, 1993. Insect Pathology. Academic press, California, 89-106.
- Trisyono, A. & M. E. Whalon, 1997. Fitness costs of resistance to *Bacillus thuringiensis* Colorado potato beetle (*Col. Chrysomelidae*), Journal of Economic Entomology, 90(2): 267-271
- Vachon, V., R. Laprade & J.L. Schwartz, 2012. Current models of the mode of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins: A critical review, Journal of invertebrate pathology, 111(1): 1-12.
- Wiedenmann, R., 2000. Introduction to Biological Control. Midwest Institute for Biological Control. Illinois. Available from http://www.inhs.uiuc.edu/research/biocontrol.

Archive of SID

www.SID.ir

Effect of active charcoal and starch on enhancement pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* against second instars larvae of ash tree pest *Nyssia graecarius* Staudinger (Lep.:Geometridae)

Sh. Aramideh*
- Assistant Professor, Plant Protection Department, Agriculture Faculty, Urmia University, Urmia, I.R. Iran.

Received: 23.05.2016 Accepted: 31.08.2016

Abstract

Bacillus thuringiensis as biological agent has applied practically in pest control programs. However, the activity of this bacterium under field conditions and direct exposure of sun rays is decreased. In this study, persistence of Pathogenicity of this bacterium under field conditions and the role of protective agents includes active charcoal and starch for the first time in Iran was evaluated. Therefore, concentrations of bacteria alone and mixture with charcoal and starch in completely randomized block design experiment in three periods of time on 2nd instars larvae of *Nyssia graecarius* Staudinger were investigated and the protective effects of these materials in exposure of solar radiation until 9 days were evaluated. The bacteria insecticidal effect on larvae of *N. graecarius* was performed on basis this studies pathogenic effect of *Bacillus thuringiensis* after spraying on plants is decreasing significantly at less than 7 days and after 9 days its mortality was the same as control treatment. Percentage mortality of bacteria, bacteria mixed with activated charcoal, mixed with starch and control after 0, 7 and 9 day light exposure were (76.6, 70, 63.3, 6.6), (53.3, 63.6, 53.3, 10) and (30, 53.3, 40, 10), respectively. Results showed that persistence was increased when bacteria applied with active charcoal and starch and combination of *Bacillus thuringiensis* plus charcoal is more effective than mixture of *Bacillus thuringiensis* plus starch. The study showed that for increasing time and power bacteria control protective agents such as activated charcoal can be used.

Keywords: *Bacillus thuringiensis*, Active charcoal, Starch, *Nyssia graecarius*.

Archive of SID

* Corresponding author: Email: shahramaramideh@gmail.com

www.SID.ir