Archive of SID

مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی
سال یازدهم ـ شماره اول ـ بهار ۱۳۸۳
www.magiran.com/jasnr

تاثیر باکتری *Bacillus thuringiensis var. kurstaki* روی سنین مختلف لاروی سوسک کلرادوی سیب زمینی *Leptinotarsa decemlineata* و نقش سینرژیست حنا در افزایش کارآیی آن

اکبر قاسمی کهریز، محمدحسن صفرعلیزاده و علی اصغرپور میرزا
گروه گیاه پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: ۸۱/٤/۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۲/۹/۹

چکیده

در این بررسی حساسیت سنین مختلف لاروی سوسک کلرادوی سیب‌زمینی به باکتری *B.thuringiensis var kurstaki*. به تنهایی و در اختلاط با پودر حنا مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور ضمن پرورش حشره در آزمایشگاه در روی برگهای سیب‌زمینی کاشته شده در گلدان، سنین مختلف لاروهای مورد نظر با استفاده از روش اندازه‌گیری عرض کپسول سر، جدا گردیده و در آزمایشها بکار برده شدند. آزمایشهای مذکور با غلظت‌های مختلف فرمولاسیون تجاری *B.thuringiensis* با عنوان جک پات ب. اف. سی بر روی لاروهای سنین اول، دوم، سوم و چهارم صورت گرفت و مقادیر LC_{50} برای هریک از سنین لاروهای مذکور به‌ترتیب ۲۲۰/۳۸٤، ٤٦٥/٥۳۸، ۱۲۸۳/۷۹۷ و ۳٤۸۸/٥٦۲ پی‌پی‌ام برآورد گردید. به‌منظور ارزیابی نقش سینرژیستی پودر حنا بر روی *B.thuringiensis*، غلظت‌های ۳۰۰۰، ٤۰۰۰، ٥۰۰۰ پی‌پی‌ام از حنا با غلظت ٥۰۰ پی‌پی‌ام از باکتری مخلوط، در قالب طرح کرت‌های کاملاً تصادفی بر روی لاروهای سن سوم به کار برده شدند. نتایج حاصله نشان‌دهنده خاصیت سینرزیستی بالای پودر حنا در افزایش کارایی باکتری بوده است، به‌طوری که مخلوط *B.thuringiensis* با غلظت ٥۰۰ پی پی ام و پودر حنا با غلظت‌های مذکور بعد از ٦ روز به‌ترتیب ٥٥، ٦٥ و ۸٥ درصد تلفات داشتند در صورتی که باکتری و حنا هر کدام با غلظت‌های ٥۰۰ و ٥۰۰۰ پی پی ام به تنهایی به‌ترتیب ۲۲/٥ و ٥ درصد تلفات وارد کردند.

واژه‌های کلیدی: باکتری *Bacillus thuriniesis var.Kurstaki* حشره Leptinotarsa *decemlineata (say)*، اثر سینرژیستی پودر حنا

مقدمه

سوسک کلرادوی سیب‌زمینی یکی از آفات خطرناک سیب‌زمینی و گیاهان دیگر خانواده Solanaceae می‌باشد (لوپز و فیرو[1]،۱۹۹٥) که جزو آفات بسیار مهم و خسارت زا در دنیا معرفی شده است (مک‌گاوگی و جانسون[2]، ۱۹۹۲؛ تلندا و کایا[3]، ۱۹۹۳؛ کانگ و همکاران[4]).

1- Lopez & Feero

2- Mc Gaugehey & Johnson
3- Tanada & Kaya
4- Kung et al.

www.SID.ir

Archive of SID

با توجه به تداخل نسل‌ها، هر چهار مرحله بیولوژیکی آفت به‌طور همزمان در مزرعه دیده می‌شوند، بنابراین مبارزه با آن بسیار مشکل بوده و اگر اقدامات اساسی در موقع ضروری انجام نگیرد خسارات جبران‌ناپذیری به مزرعه سیب‌زمینی وارد می‌شود. با کشف آفت‌کش‌های شیمیایی، این سموم به‌طور گسترده‌ای در مبارزه با این آفت مورد استفاده قرار گرفتند (کلاتیر و جین[1]، ۱۹۹۸). با توجه به مشکلات و ناهنجاری‌های متعدد ناشی از کاربرد بی‌رویه سموم آفت‌کش علیه این آفت، نظیر آلودگیهای محیط‌زیست، بقایای غیرقابل‌تجزیه مواد شیمیایی در محیط، بر هم خوردن تعادل طبیعی جوامع حشرات، انهدام عوامل کنترل کننده طبیعی، توسعه آفات ثانوی و مقاومت با لای این آفت به اکثر حشره‌کش‌های مصنوعی، در حال حاضر جهت مبارزه با سوسک کلرادو روش کنترل تلفیقی مناسب‌ترین روش می‌باشد(جکوز[2]، ۲۰۰۰).

در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات، حشره‌کش‌های میکروبی به‌دلیل مزیتهای نظیر نداشتن باقیمانده سمی، سازگاری با سایر روشهای کنترل، بویژه کنترل شیمیایی و مصرف با دز پایین، از وسایل ایده‌آل کنترل آفات محسوب می‌شوند که از مهمترین آنها می‌توان به آفت‌کش‌های میکروبی بر مبنای استرین‌های مختلف باکتری *B. thuringiensis* اشاره نمود. در حال حاضر این باکتری مهمترین پاتوژنی است که برای کنترل آفات به‌کار می‌رود (دنت[3]، ۱۹۹۳). در ضمن تعدادی از زیرگونه‌های از *B. thuringiensis* که بر روی حشرات بیماریزا می‌باشند. همواره در حال تزاید هستند. در سال‌های اخیر چندین زیر گونه از *B. thuringiensis* شناسایی شده که بر روی برخی سخت بالپوشان از جمله سوسک کلرادوی سیب‌زمینی بیماری‌زا می‌باشد، از جمله آنها می‌توان به زیرگونه *B. thuringnswis var. kurstaki* اشاره کرد. تحقیق حاضر طی سالها ۱۳۷۹ و ۱۳۸۰ در دانشکده کشاورزی ارومیه، به‌منظور بررسی کارایی این باکتری بر روی لاروهای سنین مختلف سوسک کلرادو بخصوص نقش سینرژیستی حنا در افزایش توانمندی باکتری مزبور صورت گرفته است.

مواد و روشها

میزبان: جهت انجام آزمایشها نیاز به تکثیر و انبوه‌سازی میزبان و لاروهای هم سن بود، بدین منظور پس از جمع‌آوری توده‌های تخم آفت از طبیعت آنها را به آزمایشگاه منتقل نموده و پس از تفریخ توده‌ها، پرورش لاروها در روی گیاه سیب زمینی و در شرایط دمایی ۲۶±۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵± ۵۵ انجام گرفت سپس سنین مختلف لاوری برحسب اندازه‌گیری عرض کپسول سر از یکدیگر تفکیک و در آزمایشها بکار برده شدند.

باکتری مورد استفاده: در این بررسی از فرمولاسیون تجاری *B. thuringiensis* به نام جک پات ب. اف. سی[4] استفاده شده است. جک پات ب. اف. سی حشره کش بیلوژیک مبنی بر *B. thuringiensis kurstrain* EG2424 است که حاوی ۰/۲۵ درصد ماده سمی (توکسین) مؤثر روی لارو بالپولکداران و ۹/۷۵ درصد ماده سمی مؤثر روی لارو سخت بالپوشان می‌باشد و به صورت مایع روغنی قابل انتشار در آب فرموله شده است. این فرآورده توسط آزمایشگاه‌های شرکت اکوژن ایتالیا برای کنترل سوسک کلرادوی سیب‌زمینی تولید و فرموله شده است.

بررسی حساسیت سنین مختلف لاروی: برای بررسی حساسیت سنین لاروی این حشره دزهای LC_{50} لاروها با آزمایشهای زیست‌سنجی برآورد شد. آزمایشهای مذکور بر روی همه سنین لاروی صورت گرفت. بدین منظور طی یک سری آزمایشهای مقدماتی، غلظت‌های حداقل و حداکثر را که حدود ۱۰ و ۹۰ درصد تلفات بر روی لاروهای سنین مختلف ایجاد می‌کردند، تعیین شد و در نهایت ٦ غلظت به همراه یک غلظت آب مقطر (۷ تیمار)

1- Cloutier & Jean
2- Jacques
3- Dent

4- Jack Pot BFC

www.SID.ir

Archive of SID

و هر تیمار در سه تکرار و در مورد تمام سنین لاروی بطور مجزا به کار برده شد. بدین‌ترتیب پس از تهیه شاخه‌های تیمار و آلوده‌سازی آنها با محلول‌های تهیه شده به روش اسپری‌پاشی، آنها را بطور جانبی در داخل ظروف تیمار مخصوص به ابعاد ۶×۱۷×۲۲ سانتی‌متر قرار داده و سپس ۱۰ عدد لارو هم‌سن و هم‌اندازه را که با استفاده از روش اندازه‌گیری عرض کپسول سر تفکیک شده بودند. به درون ظروف مزبور رهاسازی شدند. درب ظروف تیمار توسط پارچه‌های توری به نحوی مسدود شد که امکان فرار و خارج شدن برای لاروها وجود نداشت. شرایط نگهداری لاروهای آزمایش در مورد کلیه ظروف تیمار یکسان و کاملاً مشابه شرایط پرورش بود و تلفات هر ۲۴ ساعت شمارش و با استفاده از فرمول آبوت[1] اصلاح گردید. معیار مرگ و میر با عکس‌العمل لاروها به ضربات سوزن به ابتدا و انتهای بدن آنها و سیاه شدن بدن لاروها سنجیده شد. داده‌های حاصل با نرم افزار Mstatc و برنامه پروبیت تجزیه واریانس شده و در نتیجه برای ۴ سن لاروی LC_{50} باکتری تعیین گردید. همچنین در تجزیه پروبیت داده‌ها از روش N.E.D و برای رسم نمودارها نیز از نرم افزار Excell-97 استفاده شد.

بررسی اثر سینرژیستی پودر حنا در اختلاط با باکتری بر روی لاروهای سن سوم[2]: این آزمایش به‌منظور بررسی خاصیت سینرژیستی حنا در اختلاط با *B.thuringiensis* به‌منظور بالا بردن تأثیر باکتری و کاهش میزان مصرف آن طراحی شده است. پودر حنای مورد استفاده، پودر حنای معمولی موجود در بازار بود. بدین منظور پس از تعیین LC_{50} باکتری در برابر لاروهای سن سوم طی آزمایشهایی که قبلاً ذکر شد، غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام از باکتری جهت اختلاط با پودر حنا انتخاب شد. برای تعیین غلظت‌های مناسب پودر حنا نیز پس از زیست‌سنجی‌ها سه غلظت ۳۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۵۰۰۰ پی‌پی‌ام از آن جهت اختلاط با دز ۵۰۰ پی پی ام باکتری انتخاب شدند. آزمایشهای اصلی در قالب طرح کرت‌های کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و ۴ تکرار برای هر تیمار انجام شد. ۶ تیمار عبارت بودند از :

الف ـ *B.thuringiensis* خالص (۵۰۰ پی.پی.ام)

ب ـ پودر حنای خالص (۵۰۰۰ پی پی ام)

ج ـ پودر حنا (۳۰۰۰ پی پی ام) + *B. thuringiensis* (۵۰۰ پی پی ام)

د ـ پودر حنا (۴۰۰۰ پی پی ام) + *B. thuringiensis* (۵۰۰ پی پی ام)

هـ ـ پودر حنا (۵۰۰۰ پی پی ام) + *B. thuringiensisi* (۵۰۰ پی پی ام)

و ـ شاهد (آب مقطر + روغن سیتویت)

آلوده‌سازی شاخه‌های تیمار بوسیله اسپری دستی انجام گرفت. برای جلوگیری از ته نشین شدن پودر حنا درون محلول و نیز پخش یکنواخت آن در تمام سطوح شاخه‌ها از روغن سیتویت با غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام در تمام تیمارها استفاده شد. شاخه‌های تیمار شده در درون ظروف تیمار قرار گرفته و در هر تکرار ۱۰ عدد لارو سن سوم رهاسازی گردید. تلفات حاصله تا شش روز یادداشت‌برداری شده و بعد از تبدیل داده‌ها به $Arcsin\sqrt{x}$ بوسیله نرم‌افزار Mstatc و برنامه Anova-1 تجزیه واریانس گردید و برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون جدید چند دامنه‌ای دانکن بهره گرفته شد. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excell-97 استفاده شد

نتایج و بحث

بررسی حساسیت سنین مختلف لاروی به باکتری: پس از تجزیه پروبیت داده‌ها که نتایج آن در جدول ۱ ارائه شده است، LC_{50} باکتری در برابر لاروهای سنین اول، دوم، سوم و چهارم به‌ترتیب ۲۲۰/۳۴۸، ۴۶۵/۵۳۸، ۱۲۸۳/۷۹۷ و ۳۴۸۸/۵۶۲ پی‌پی‌ام برآورد گردید.

۱ـ فرمول آبوت ۱۰۰ * = درصد مرگ و میر اصلاح شده

۲ـ به علت حساسیت زیاد لاروهای سن اول و دوم به باکتری، آزمایش‌های سینرژیستی حنا فقط روی لاروهای سن ۳ که نسبتاً مقاوم به باکتری بودند، انجام گرفته است.

www.SID.ir

Archive of SID

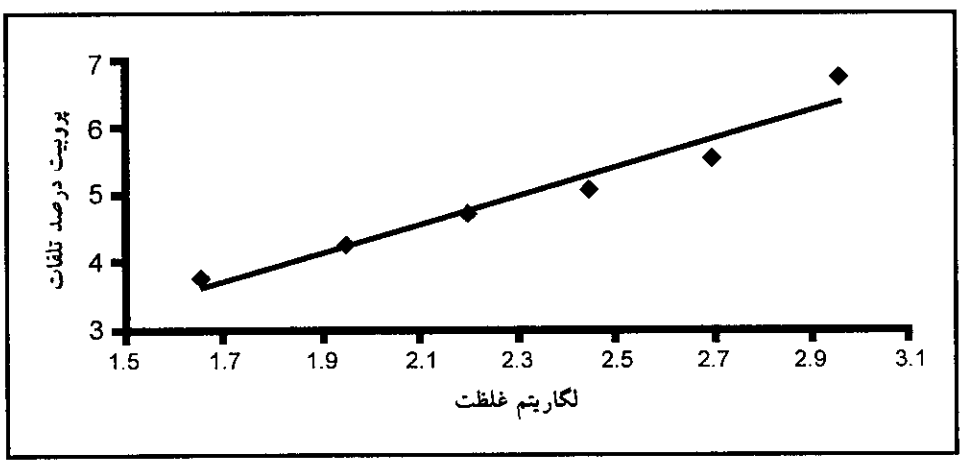
رابطه لگاریتم دز و پروبیت درصد تلفات لاروهای سنین مختلف تغذیه کرده از غلظت‌های مختلف باکتری در شکل های ۱ تا ٤ نشان داده شده است که با بررسی آنها مشخص می‌شود که در همه سنین لاروی، با افزایش غلظت باکتری مرگ و میر لاروها افزایش می یابد.

با بررسی مقادیر LC_{50}های محاسبه شده حاصل از تأثیر باکتری بر روی لاروهای سنین مختلف مشخص می‌شود که با افزایش سن لاروی، مقاومت لاروها به باکتری افزایش می‌یابد.

مقاومت لاروهای سنین بالای سوسک کلرادو و کرم برگ‌خوار چغندر و شب‌پره هندی در برابر ترکیبات مختلف *B. thuringiensis*، بوسیله بسیاری از محققین داخلی و خارجی نیز گزارش شده است (کاظمی، ۱۳۷۸، گیبسون و همکاران[1]، ۱۹۹۵؛ گولدا و آندرسن[2]، ۱۹۹۱؛ نامور، ۱۳۷۸؛ جکوز، ۲۰۰۰؛ رگس‌دال و ردگلیف[3]، ۱۹۹۹).

جدول ۱- تجزیه پروبیت داده‌های مربوط به تأثیر باکتری بر روی لاروهای سنین مختلف.

منبع	لارو سن اول	لارو سن دوم	لارو سن سوم	لارو سن چهارم
شیب	۲/۱۲٦۰۷۷٤	۱/۷۷٤۸٤٦٦	۲/۲۹۰٦۰۵۵	۲/٤۱۵۲۷۹۷
عرض از مبدأ	۰/۱۷۲۱٦۱	۰/۲٦٤۷۸۸۵	-۲/۱۲۰۳۳۹۲	-۳/۵۵٦٤۸۲۱
کای ـ اسکور	۲/۲۳۷۰۳۱۰	۲/۲۲۱۵۲۰٤	۳/٤۹۱۹٤۷۳	۲/٦۵٤۳۱۱٦
درجه آزادی	٤	٤	٤	٤
لگاریتم در ۵۰ درصد تلفات	۲/۳٤۳۱۸۰۸	۲/٦٦۷۹۵۵۳	۳/۱۰۸٤۹٦٤	۳/۵٤۲٦٤٦٤
دز موثر در ۵۰ درصد تلفات	۲۲۰/۳۸٤۳۸۲۳	٤٦۵/۵۳۸۲۲۲۲	۱۲۸۳/۷۹۷۲۰۰۹	۳٤۸۸/۵٦۲۰۲۰٤
معادله برآورد کننده درصد تلفات	y = ۰/۰۱۸۲۱٦۱ + ۲/۱۲٦۰۷۷٤X	y = ۰/۲٦٤۷۸۸۵ + ۱/۷۷٤۸٤٦٦X	y = -۲/۱۲۰۳۳۹۲ + ۲/۲۹۰٦۰۵۵X	y = -۳/۵۵٦٤۸۲۱ + ۲/٤۱۵۲۷۹۷X



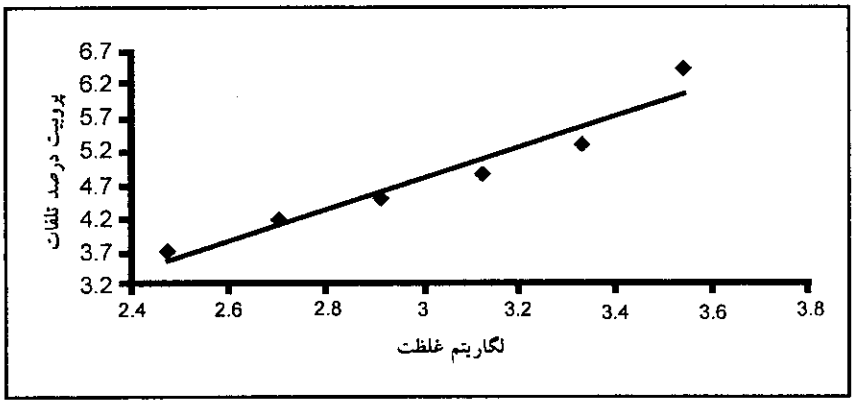
شکل ۱ـ رابطه بین لگاریتم غلظت و پروبیت درصد تلفات لاروهای سن اول تغذیه کرده از باکتری پس از ۹٦ ساعت.

1- Gibson et al.
2- Gould & Anderson
3- Ragsdale & Redcliffe

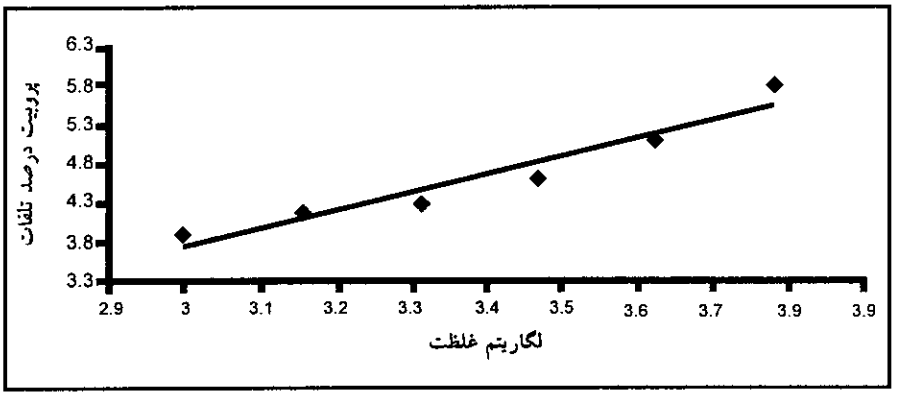
www.SID.ir

Archive of SID

شکل ۲ـ رابطه بین لگاریتم غلظت و پروبیت درصد تلفات لاروهای سن دوم تغذیه کرده از باکتری پس از ۹۶ ساعت.



شکل ۳ـ رابطه بین لگاریتم غلظت و پروبیت درصد تلفات لاروهای سن سوم تغذیه کرده از باکتری پس از ۱۲۰ ساعت.



شکل ٤ـ رابطه بین لگاریتم غلظت و پروبیت درصد تلفات لاروهای سن چهارم تغذیه از باکتری پس از ۱۲۰ ساعت.

www.SID.ir

Archive of SID

در این تحقیق میزان LC_{50} محاسبه شده برای لاروهای سن اول که تنها پس از چند ساعت تغذیه از برگ‌های سالم بر روی تیمار منتقل شده بودند برابر ۲۲۰/۳۸٤ پی پی ام بود که نشان می دهد لاروهای سن یک این آفات دارای حساسیت بالایی به این عامل بیماریزا هستند. میزان LC_{50} این باکتری در برابر لاروهای سن اول سوسک کلرادو با میانگین وزن یک میلی‌گرم، برابر با ۱۷۸/۷۹ پی پی ام محاسبه شده است (میلنر و همکاران[1]، ۱۹۹۲). بطوری که مشاهده می‌شود تفاوت موجود قابل ملاحظه نیست (حدود ٤۰ پی. پی. ام) و به‌نظر می‌رسد که این تفاوت بسیار جزئی تا حد زیادی مربوط به شرایط و فرمولاسیون متفاوت دو آزمایش باشد.

همچنین میزان LC_{50} باکتری برای لاروهای سن دوم ٤٦٥/٥۳۸ پی. پی. ام محاسبه شده است که نشان می‌دهد مقاومت آنها به *B. thuringiensis* نسبت به لاروهای سن اول تقریباً دو برابر شده است، به‌طوری‌که انتظار می‌رفت لاروهای سم سوم نسبت به باکتری حساسیت کمتری داشته و بنابراین LC_{50} محاسبه شده آنها برابر ۱۲۸۳/۷۹۷ پی پی ام برآورد گردید.

LC_{50} محاسبه شده برای لاروهای سن چهارم ۳٤۸۸/٥٦۲ پی پی ام می‌باشد که نشان‌دهنده مقاومت بالای لاروهای سن چهارم در برابر *B. thuringiensis* می باشد.

بررسی تأثیر توأم باکتری و حنا بر روی لاروهای سن سوم: نتایج حاصل از تأثیر تیمارهای مختلف آزمایش بر روی لاروهای سن سوم در جدول ۲ ارائه شده است. با بررسی جدول مزبور مشخص می‌شود که در تیمارهای دارای مخلوط باکتری و پودر حنا، تلفات دیرتر ظاهر شده به‌طوری که عملاً در این تیمارها طی ٤۸ ساعت اول هیچگونه تلفاتی مشاهده نشده و تلفات از روز سوم شروع شده و تا روز ششم ادامه یافته است، ضمن اینکه بیشترین مرگ‌ومیر لاروها نیز در این تیمارها صورت گرفته است.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های تغییر یافته به $\text{Arcsin}\sqrt{x}$ بعد از ۱٤٤ ساعت در جدول ۳ ارائه شده است. این نتایج نشان می‌دهد که با اطمینان ۹۹ درصد بین میانگین تیمارها از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری وجود دارد.

گروه‌بندی میانگین تیمارها: برای گروه‌بندی میانگین تیمارها از آزمون جدید چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹٥ درصد استفاده گردیده که نتیجه آن در جدول ٤ ارائه شده است.

تیمارهایی که دارای حروف مشابه هستند از نظر آماری در سطح اطمینان ۹٥ درصد با یکدیگر تفاوت معنی‌دار ندارند.

جدول ۲ـ نتایج حاصل از تأثیر تیمارها بر روی لاروهای سن سوم

تیمار	تعداد لارو		زمان (ساعت)					درصد تلفات
	تکرار	کل	۲٤	٤۸	۷۲	۹٦	۱۲۰	۱٤۰	
B. th. (500 ppm) (A)	۱۰	٤۰	۰	۰	٤	٦	۸	۹	۲۲/٥
H (5000 ppm) (B)	۱۰	٤۰	۰	۰	۰	۱	۱	۲	٥
B.th. + H (3000 ppm) (C)	۱۰	٤۰	۰	۰	۳	۹	۱۷	۲۲	٥٥
B.th. + H (4000 ppm) (D)	۱۰	٤۰	۰	۰	٤	۱۱	۱۹	۲٦	٦٥
B.th. H (5000 ppm) (E)	۱۰	٤۰	۰	۰	٥	۱۳	۲۸	۳٤	۸٥
(F) شاهد	۱۰	٤۰	۰	۰	۰	۰	۱	۱	۲/٥

B. th = B. thuringiensis

H = حنـا

1- Milner et al.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳ـ تجزیه واریانس درصد تلفات لاروهای سن سوم در تأثیر تیمارها.

منابع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مجموع مربعات	F محاسبه شده	F جدول ٪۱	F جدول ٪۵
تیمار	۵	۱۲۵۷۸/۲۸۶	۲۵۱۵/۶۵۷	۶۴/۰۴۶	۲/۷۷	۴/۲۵
خطا	۱۸	۷۰۷/۰۲۵	۳۹/۲۷۹			
کل	۲۳	۱۳۲۸۵/۳۱۱				

CV = % ۱۷/۷۱

جدول ۴ ـ گروه‌بندی میانگین‌های تیمار مربوط به تأثیر حنا و باکتری بر روی سن سوم.

تیمار	F	B	A	C	D	E
میانگین	۵/۸۲۸۵	۹/۶۷۰	۲۸/۲۲	۴۷/۸۹	۵۳/۷۸	۶۷/۵۰
گروه	d	d	c	b	b	a

جدول۴ نشان می‌دهد تیمارهایی که دارای مخلوط *B. thuringiensis* و حنا هستند نسبت به تیمار *B. thuringiensis* تنها (A) اختلاف معنی‌دار داشته و در ایجاد تلفات بیشتر مؤثر هستند.

حشراتی که از مواد گیاهی دارای تانن تغذیه می‌کنند، مقدار زیادی اسید تانیک از غشای دور غذایی عبور کرده و به سلولهای اپیتلیوم معده آنها خسارت وارد نموده و زخم‌های فراوانی ایجاد می‌کند (برنایس و همکاران[1]، ۱۹۸۰). در ضمن مشخص شده است که تانن‌ها بخصوص اسید تانیک به عنوان توکسین عمل کرده و می‌تواند به‌عنوان تشدیدکننده اثر عوامل میکروبی مثل *B. thuringiensis* مصرف شود. (هالیدی[2]، ۱۹۹۷). پودر حنا به دلیل داشتن مقدار زیادی از انواع تانن ها سبب بروز حالت سینرژیسم در اختلاط با *B. thuringiensis* می‌شود، زیرا تانن‌های موجود در پودر حنا می‌توانند باعث بروز زخم‌های ریزی در سلول‌های اپیتلیوم معده میانی حشرات شوند. این وضعیت سبب می‌شود که اسپورهای رشد کرده درون معده، به مقدار بیشتری وارد حفره عمومی شده و تلفات لاروها را افزایش دهد. نکته قابل توجه به تأخیر افتادن زمان مرگ و میر لاروها در صورت استفاده از پودر حنا به‌عنوان سینرژیست می‌باشد. این حالت نشان می‌دهد که ظاهراً پودر حنا با وجود بالا بردن میزان تلفات، زمان مرگ و میر را به تأخیر می‌اندازد. تأخیر در بروز مرگ‌ومیر لاروها توسط محققین دیگری نیز که اسید تانیک و تانن‌های گیاهی دیگر را به‌عنوان سینرژیست بکار برده‌اند، گزارش شده است (هالیدی، ۱۹۹۷)، ولی کل تلفات حاصل از مخلوط این سینرژیست‌ها و *B.thuringiensis* نسبت به حالت استفاده از *B.thuringiensis* تنها به مراتب بیشتر بوده و در عین حال، تغذیه این لاروها بسیار ناچیز می‌باشد (هالیدی، ۱۹۹۷).علت این پدیده به خواص شیمیایی تانن‌ها مربوط است زیرا به‌طور کلی تانن‌ها ترکیبات شیمیایی غیر قابل تبلور بوده و با آب محلول‌های کلوئیدی تولید کرده و واکنش آنها اسیدی است (آینه‌چی، ۱۳۶۵). خاصیت اسیدی سبب پایین آمدن pH معده میانی حشرات می‌شود و فعالیت توکسین‌های باکتری را کاهش می‌دهد، در نتیجه نمی‌تواند حشره را سریعاً از پای در آورد. بنابراین با وجود اینکه بروز تلفات در لاروهای تیمار شده با مخلوط پودر حنا و *B. thuringiensis* کندتر از لاروهای تیمار شده با باکتری تنها صورت می‌گیرد. ولی این چنین مخلوطهایی رشد و نمو حشره را متوقف نموده و در نتیجه خسارت وارد شده به شاخ و برگ‌ها به حداقل می‌رسد و مقدار *B. thuringiensis* مصرفی نیز کاهش می‌یابد. این مطلب باتوجه به قیمت زیاد ترکیبات تجاری *B.thuringiensis* و ارزانی و در دسترس بودن پودر

1- Bernays et al.
2- Holliday

www.SID.ir

Archive of SID

حنا بسیار حائز اهمیت است و می‌توان با اضافه کردن مقدار زیادی پودر حنا ضمن ایجاد تلفات بیشتر در لاروهای این آفت، میزان مصرف باکتری را کاهش داد.

منابع

۱.آینه‌چی، ی. ۱۳٦۵. مفردات پزشکی و گیاهان دارویی، انتشارات دانشگاه تهران، صفحه۲۱۲تا۲۲۲.

۲.کاظمی، م. ح. و. ژ. اردبیلی. ۱۳۷۸. بررسی وضعیت بیواکولوژیک سوسک کلرادو Leptinotarsa decemlineata (Col. Chrysomelidae) از سال ۱۳٦۳ تا ۱۳٦۹ در منطقه اردبیل، مجله دانش کشاورزی، انتشارات دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز، جلد ۹، صفحه ۵۳ ـ ٤۱.

۳.نامور، پ. ۱۳۷۸. تأثیر باکتری *Bacillus thuringiensis var. Kurstaki* روی لاروهای کارادرینا، Spodoptera exigua و نقش سینرژیست‌ها در افزایش کارآیی آن، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، صفحه۷۳ تا۸۰

4.Bernays, E. A., D. Chamberlain, and P. Mc Carthy. 1980. The differential effects of ingested tannic acid on different species of Acridoidea. Entomol. Exp. Appl. 28: 158 – 166.

5.Cloutier, C., and C. Jean. 1998. Synergism between natural enemies and biopesticides: a test case using the stinkbug perillus bioculatus (Hem. Pentatomidea) and *Bacillus thuringiensis* tenebrionis against Colorado potato beetle (col. Chrysomelidae). J. Econ. Entomol. 91(5): 1096 – 1108.

6.Dent, D. R. 1993. The use of *B. thuringeinsis* as an insecticide. In exploition of microorganisms. (edt. Gareth Jonse, D.). University press, Cambridge. London. 19 – 32.

7.Ghidiu, G. M., and G. W. Zehnder. 1993. Timing of the initial spray application of *Bacillus thuringiensis* for control of the Colorado potato beetle (Col. Chrysomelidae) in potatoes. Biological Control. 3(4): 348 – 352.

8.Ghidiu, G. M., D. E. Collins, and G. W. Kirfman. 1996. Laboratory and field studies of *Bacillus thuringiensis* subsp. Tenebrionis as a feeding deterrent to Colorado potato beetle (Col. Chrysomelidae). J. Agric. Entomol. 13 (4): 349 – 357.

9.Gibson, D. M. ; L. G. Gallo, S. B. Krasnoff, and R. E. B. Ketchum. 1995. Increased efficacy of *Bacillus thuringiensis* subsp. Kurstaki incombination with tannic acid. J. Econ. Entomol. 88(1): 270 – 277.

10.Gould, F., and A. Anderson. 1991. Effects of *Bacillus thuringiensis* and HD – 73 delta endotoxin on growth. Behavior and fitness of susceptibility and toxin adapted strains of Heliothis virescens. J. Econ. Entomol. 84 (1): 30 – 38.

11.Holliday, N. J. 1997. Potato insect management in Manitoba. Available: http:// http://www.gov.mb/.Ca / agriculture /crops /insects / cpb forum / facl. 29s 05. html.

12.Hoy, C. W.; J. A. Wyman; T. T. Vaughn, D. A. East, and P. Kaufman. 1996. Food, ground cover and Colorado potato beetle (Col. Chrysomelidae) dispersal in late summer. J. Econ. Entomol. 89 (4): 963-969

13.Jacques, R. L. 2000. Colorado potato beetle and false potato beetle. Available. http:// members. aol. Com / photo Agova / PMP / stok list. Html.

14.Kung, K. J., M. Milner, J. A. Wyman, J. Felidan, and E. Nordheim. 1992. Survival of Colorado potato beetle (Col. Chrysomelidae) after exposure to subzero thermal shocks during diapause. J. Econ. Entomol. 85 (5): 1695 – 1700.

15.Lopez, R., and D. N. Feero. 1995. Larviposition response of *Myiopharus doryphorae* (Dip. Tachinidae) to Colorado potato beetle (Col. Chrysomelidae) larvae treated with lethal and sublethal doses of *Bacillus thuringiensis* Berliner subsp. Tenebrionis. J. Econ Entomol. 88 (4): 870 – 874.

16.Mc Gaugehey, W. H., and D. E. Johnson. 1992. Indianmeal moth resistance to different strains and mixtures of *Bacillus thuringiensis*. J. Econ. Entomol. 85 (5): 1594 – 1600.

17.Milner, M, K. J. S. Kung, J. A. Wyman, J. Feldman, and E. Nordheim. 1992. Enhancing overwintering mortality of Colorado potato beetle (Col. Chrysomellidae) by manipulation the temperature of its diapause habitat. J. Econ. Entomol. 85 (5): 1702 – 1708.

18.Ragsdale, D., and E. B. Redcliffe. 1999. Colorado potato beetle management. Available: http:// imp world. Umn. Edu / aphidalert / CPB – DWR. Htm.

19.Tanada, Y., and H. K. Kaya. 1993. Insect pathology. Academic press, California, 666 Pp.

20.Thompson, J., P. Cosey, and J. Vale. 1995. Pesticide incidents reported to the healt and safety executive 1989/90–2992/92. Human and Experimentan Toxicology, 14 (8): 630 – 633.

21.Wegorek, P., M. Pawinska, E. Prybysz, R. Dutton, and J. Harris. 1998. Insecticide resistance management strategy for Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) in Poland. Available: http: // Plantprotection. Org /IRAC /Project–groups/CP Beetle–Polabd/-22k.

www.SID.ir

Archive of SID

J. Agric. Sci. Natur. Resour., Vol. 11(1), Spring 2004
www.magiran.com/jasnr

The effect of *Bacillus thuringiensis* subsp. Kurstaki. on Colorado potato beetle larvae. *Leptinotarsa decemlineata* (say) (Coleoptera: Chrysomelidae) and role of henna as a synergist in increasing of its efficiency.

A. Gassemi Kahrizeh, M. H. safaralizadeh and A.A. Pourmirza
Department of plant protection, Faculty of Agriculture, Urmia University, Iran.

Abstract

In this study the susceptibility of larval instars of Colorado potato beetle to *Bacillus thuringiensis* subsp. Kurstaki (ber) alone and in combination with henna was investigated. For this reason the larvae were reared on potato leaves in laboratory. Different larval instars were separated by measuring the diameter of head capsules. The experiments were conducted on 1 st, 2 nd, 3 rd, and 4th instar group and LC_{50} values were 220.384, 465.538, 1283.797 and 3488.562 ppm, respectively. To evaluate the synergistic effect of henna in respectively. To evalute the synergistic effect of henna in combination with *B. thuringiensis* certain concentration of henna (3000, 4000 and 5000 ppm) was added to the known concentration of B. t. (500 ppm) for 3 rd instar larvae. The results revealed that there is a striking synergistic effect of this material on increasing efficiency of this strain. The larval mortality for mixture of B. t. (500 ppm) with henna (5000 ppm) after six days was 85%, however it was 22.5% and 5% for *B. thuringiensis* and henna alone, respectively.

Keywords: *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki; *Leptinotarsa decemlineata* (Say); Synergistic effect of henna

www.SID.ir