Archive of SID

بررسی اثر بیماری‌زایی باکتری *Bacillus thuringiensis* var.*kurstaki* روی سنین مختلف لاروی سوسک کلرادوی سیب زمینی *Leptinotarsa decemlineata*(say) و اثر تشدیدکننده‌های گیاهی در افزایش کارآیی آن در شرایط آزمایشگاه

الهام جوّی، محمدحسن صفرعلیزاده و علی اصغر پورمیرزا[۱]

چکیده

در این بررسی اثر باکتری Bacillus thuringiensis var.*kurstaki Strain EG2424 روی سنین مختلف لاروی سوسک کلرادوی سیب زمینی Leptinotarsa decemlineata(say) ، و امکان افزایش کارآیی آن توسط دو ماده گیاهی کافئین و عصاره آبی چریش در شرایط آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش‌ها در دمای ۴ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و دوره روشنایی ۱۶ ساعت در شبانه روز انجام شد. لاروهای مورد نیاز برای انجام آزمایش‌ها از کلنی پرورشی ایجاد شده روی غذای طبیعی تأمین شد. سنین لاروی مورد نظر با استفاده از اندازه‌گیری عرض کپسول سرتفکیک گردید. در بررسی حساسیت لاروهای سنین اول، دوم، سوم و چهارم سوسک کلرادوی سیب زمینی مقادیر LC_{50} برای سنین مزبور به ترتیب ۱۲۹۷/۰۳،۳۷۷،۱۸۳/۸۶ و ۳۰۹۶ پی پی ام محاسبه گردید. اثر تشدیدکنندگی کافئین و چریش به تفکیک در اختلاط با باکتری و در قالب طرح کرت‌های کاملاً تصادفی با ۶ تیمار و ۴ تکرار روی لارو سن سوم سوسک کلرادو بررسی شد.*

نتایج به دست آمده نشان دادند که کافئین و چریش خاصیت تشدیدکنندگی بالایی در افزایش کارآیی باکتری دارند و مخلوط حداقل غلظت مؤثر باکتری (۶۱۸ پی پی ام) و کافئین با غلظت ۴۰۰۰ پی پی ام بعد از ۱۴۴ ساعت ۸۰ درصد تلفات ایجاد نمود در حالی که کافئین و باکتری هر کدام به تنهایی به ترتیب ۱۰ و ۲۰ درصد تلفات را باعث شدند. علاوه بر این مرگ و میر در تیمارهای حاوی کافئین سریع‌تر ظاهر گردید. اختلاط غلظت ۶۱۸ پی پی ام از باکتری با عصاره آبی حاصل از چریش با غلظت ۳۵۰۰۰ پی پی ام بعد از ۱۴۴ ساعت موجب ۷۷/۵ درصد تلفات شد. در صورتی که باکتری و عصاره آبی چریش هر یک به تنهایی به ترتیب ۲۲/۵ و ۲۵ درصد تلفات ایجاد کردند. مشخص گردید که میانگین وزن لاروهایی که از غذای حاوی کافئین خالص و چریش خالص تغذیه کرده بودند با اطمینان ۹۵ درصد کمتر از وزن لاروهای تیمار شاهد بود.

واژه‌های کلیدی: *Bacillus thuringiensis، Leptinotarsa decemlineata، زیست سنجی و تشدید کننده*

---

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشیار و دانشیار گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

www.SID.ir

PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

مقدمه

سوسک کلرادوی سیب زمینی *Leptinotarsa decemlineata* (Say)، یکی از ۱۵ آفت مهم محصولات کشاورزی جهان محسوب می‌شود (۱۶) در حال حاضر این حشره جزء آفات همه جایی است که می تواند به طور جدی گیاهان تیره Solanaceae را تهدید نماید (۱۶ و ۱۷). در بین گیاهان میزبان این آفت، سیب زمینی با توجه به ارزش اقتصادی بیشتر و سطح کشت بالاتر از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۲۳). در سال‌های اخیر این محصول به شدت مورد حمله سوسک کلرادو قرار گرفته است که از نظر کمّی و کیفی عملکرد محصول را به میزان قابل توجهی کاهش داده است(۶و۱۶). خسارت این حشره به دلیل تغذیه لارو و حشره کامل از برگ، گل و ساقه سیب زمینی بسیار سنگین است. هم‌چنین حشرات کامل می‌توانند برخی بیماری‌ها مانند بیماری ویروئیدی غده دوکی سیب زمینی، بیماری پژمردگی باکتریایی و پوسیدگی ریشه را اشاعه دهند(۱۶و۱۷). استفاده بی رویه از حشره‌کش‌های شیمیایی در کنترل این آفت علاوه بر آلودگی محیط زیست منجر به مقاومت آفت مزبور در برابر حشره کش‌ها شده است(۲۳). در چنین شرایطی کاربرد سیستم‌های کنترل تلفیقی و روش‌های غیر آلوده کننده و ایمن‌تر برای کنترل آفات، خصوصاً تأکید بر استفاه از سیستم‌های طبیعی مانند عوامل بیولوژیک که کاهش عوارض زیست محیطی را به همراه دارد منطقی و ضروری به نظر می‌رسد (۴و۱۶). در حال حاضر با توجه به موفقیت‌های شگرف تکنولوژی و تحولات مربوط به مدیریت مبارزه با آفات، روش‌های غیر شیمیایی بالاخص مبارزه بیولوژیک در سر لوحه برنامه‌های تحقیقاتی و اجرایی کشورهای پیشرفته قرار گرفته است به طوری که استفاده از مبارزه بیولوژیک در کنار سایر روش‌ها می‌تواند نقش عمده‌ای در مبارزه با آفات داشته باشد (۲۳). در چنین شرایطی برای کنترل سوسک کلرادوی سیب زمینی کنترل تلفیقی مورد پذیرش محققین قرار گرفته است(۱۶و۲۳). در این راستا، حشره‌کش‌های میکروبی بر پایه استرین‌های مختلف باکتری *Bacillus thuringiensis* Berliner، یکی از مهم‌ترین موارد مطلوب کنترل این آفت به شمار می‌آیند که می‌توانند در یک برنامه کنترل تلفیقی این آفت مورد استفاده قرار گیرند. تاکنون بیماری‌زایی چندین سروتیپ باکتری *Bacillus thuringiensis* از قبیل *B. t. sandiego* و *B.t.tenebrionis* روی سوسک کلرادوی سیب زمینی مورد تأیید قرار گرفته است و تحقیقات گسترده‌ای در زمینه استفاده از آنها علیه این آفت صورت گرفته است(۱۸،۲۲ و ۲۳). در سال‌های اخیر مشکل مقاومت سوسک کلرادو به این باکتری در آزمایشگاه و در شرایط مزرعه طنین انداز شده است و متخصصین استراتژی مدیریت آفات را به تفکر وا داشته است که یکی از تفکرات قوی در این زمینه، استفاده از خاصیت مواد دگرآسیب (آللوشیمیال) گیاهان در ترکیب با فرمولاسیون‌های مختلف *Bacillus thuringiensis* به منظور افزایش کارآیی آن در کنترل این آفت می‌باشد(۱۲و۲۱). مواد دگر آسیب خود از عوامل کنترل آفات به شمار می‌روند(۱۹). این مواد ممکن است در افزایش کارآیی عوامل کنترل بیولوژیک کاملاً مفید باشند(۱۴). آلکالوئیدها و ترپنوئیدها از جمله مواد دگرآسیب هستند که تعداد و تنوع آنها در حال توسعه است(۳و۲۱). آلکالوئیدها گروهی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که تنوع وسیع دارند(۳). کافئین (۳،۱ و۷ – تری متیل گزانتین) یک ماده آلکالوئید پورینی و متعلق به گروهی از ترکیبات گیاهی موسوم به متیل گزانتین می‌باشد که به‌طور طبیعی در بسیاری از گیاهان متعلق به خانواده‌های Theaceae، Rubiaceae و Streculiaceae یافت می‌شود(۲، ۳و۵). این ماده به عنوان حشره کش علیه تعداد زیادی از حشرات عمل می‌نمایند(۳و۵). کافئین به دلیل شباهت ساختمانی به ملکول آدنوزین به عنوان گیرنده ATP عمل می‌کند و با افزایش فعالیت عصبی منجر به ناتوانی دستگاه‌های حساس بدن حشره و در نتیجه ضعف و مرگ حشره می‌گردد(۸). این ماده به علت داشتن آثار سمی نقش بازدارندگی تغذیه و تولید مثل را دارا می‌باشد(۲، ۳و۵). از مواد دگر آسیب دیگر که توجه محققین را به خود جلب کرده است آزادیراختین می‌باشد که یک تترانوری ترپنوئید است و به عنوان

www.SID.ir

PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

مختل کننده رشد، ضد تغذیه و کشنده حشرات عمل می‌کند و از میوه درخت چریش به دست می‌آید(۱۲و۲۱). مواد حشره کش با منشأ گیاهی بدون این که لطمه‌ای به محیط زیست و تعادل اکوسیستم وارد کند نقش مؤثری در کنترل آفات ایفا می‌نمایند(۲۰). استفاده از این مواد در کنترل آفات باعث کاهش هزینه‌های مدیریتی آفات گردیده و آثار سوء به محیط و انسان را کمتر می‌نماید و بروز مقاومت به حشره کش را به دلیل نحوه عمل متعدد به تأخیر می‌اندازد(۲۱). زیرا هر یک از این ترکیبات مکانیسم عمل متفاوت از یکدیگر داشته و جایگاه هدف آنها متمایز از یکدیگر است. بنابراین حشره در طولانی مدت قادر به نشان دادن مقاومت به کلیه این ترکیبات خواهد شد(۳، ۱۲و۲۱).

پژوهش حاضر به منظور بررسی حساسیت سنین مختلف لاروی سوسک کلرادو به یک فرمولاسیون جدید از باکتری *Bacillus thuringiensis* تحت عنوان Jack pot BFC که یک حشره کش بیولوژیک مبتنی بر *B.t.*var.*kurstaki* Strain EG2424 ، و ویژه کنترل سوسک کلرادوی سیب زمینی است انجام شد. امکان افزایش توانمندی باکتری مزبور در اختلاط با ترکیبات گیاهی کافئین و عصاره آبی چریش نیز مطالعه شد.

مواد و روش‌ها

این بررسی در سال های ۱۳۸۱-۱۳۷۹ در دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه به شرح زیر انجام شد.

۱. تهیه حشره میزبان

برای تهیه حشره دستجات تخم سوسک کلرادو از طبیعت جمع‌آوری گردید و به ظروف یک‌بار مصرف به ابعاد ۶×۱۸×۲۳ سانتی متر در آزمایشگاه منتقل و تعدادی از توده‌های تخم بر حسب نیاز پرورش یافت و بقیه جهت انجام آزمایش‌های بعدی در یخچال در دمای ۲± ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. بعد از تفریخ تخم‌ها، لاروها روی برگ سیب زمینی و در شرایط دمایی ۴±۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵ ± ۶۵ درصد و مدت روشنایی ۱۶ ساعت در شبانه روز پرورش یافتند. سنین مختلف لاروی بر حسب اندازه‌گیری عرض کپسول سر از هم تفکیک و در آزمایش‌ها به کار برده شدند.

۲. عامل بیماری‌زا

در این بررسی از فرمولاسیون تجاری باکتری با عنوان Jack POT BFC حشره کش بیولوبک مبتنی بر *Bcillus thuringiensis* var. *kurstaki* استفاده شد. این حشره‌کش به صورت مایع روغنی قابل انتشار در آب فرموله شده و حاوی ۹۷/۷۵ درصد توکسین مؤثر روی حشرات راسته سخت بالپوشان و ۰/۲۵ درصد توکسین مؤثر روی راسته بالپولکداران است. این فراورده برای کنترل سوسک کلرادوی سیب زمینی ساخته شده و کمپانی Intrachem ایتالیا آن را عرضه می‌نماید.

۲. ۱. بررسی حساسیت سنین مختلف لاروی سوسک کلرادوی سیب زمینی به باکتری

به منظور بررسی حساسیت سنین مختلف لاروی سوسک کلرادو، قسمت انتهایی ساقه‌های سیب زمینی کاشته شده در یک مزرعه ایزوله که هیچ گونه عمل سم پاشی در آن انجام نشده بود به طول تقریبی ۲۰ الی ۳۰ سانتی متر از بوته جدا و به آزمایشگاه منتقل شد. سپس ساقه‌های جدا شده سیب زمینی به طور مجزا درون یک ظرف شیشه‌ای کوچک به ابعاد۴×۷ سانتی‌متر که دارای دهانه تنگ و حاوی آب قرار داده شد و با استفاده از پنبه هیدروفیل ساقه مورد نظر داخل شیشه ثابت گردید. در تمام مراحل اجرای آزمایش محلول‌های باکتری مورد نیاز از محلول مادر تهیه شد. پس از یک سری آزمایش‌های مقدماتی با غلظت‌های مختلف باکتری، براساس روش ارائه شده توسط روبرتسن و پریسلر(۲۰) غلظت‌های حداقل و حداکثر که تقریباً ۲۵٪ و ۷۵٪ تلفات روی لاروهای سنین مختلف داشتند تعیین گردید و سپس در فاصله این دو غلظت، ۴ غلظت به روش فواصل لگاریتمی تعیین و در نهایت ۶ غلظت به همراه تیمار شاهد و هر تیمار در سه تکرار برای سنین لاروی مورد نظر به کار برده شد. در تیمار شاهد از آب مقطر استفاده گردید. پس از تهیه شاخه‌های تیمار و آلوده‌سازی آنها با محلول‌های

www.SID.ir

PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

تهیه شده با سم‌پاش دستی پلاستیکی، آنها را به‌طور جانبی در داخل ظروفی به ابعاد ۶×۱۸×۲۳ سانتی‌متر قرار داده و سپس ۱۰ عدد لارو هم سن و هم اندازه از هر سن به درون ظروف مزبور رهاسازی گردید. دهانه ظروف تیمار توسط پارچه‌های توری به نحوی مسدود شد که امکان خروج لاروها وجود نداشت. شرایط نگه‌داری لاروهای آزمایش در کلیه ظروف تیمار یکسان بود و کاملاً مشابه شرایط پرورش بود. شمارش تلفات هر ۲۴ ساعت یک‌بار تا ورود لاروهای تیمار به مرحله شفیرگی انجام شد. معیار مرگ و میر لاروها عدم پاسخ‌دهی به ضربات سوزن به ابتدا و انتهای بدن و سیاه شدن بدن آنها بود.

۲. ۲ بررسی نقش میزان چربی در حساسیت لارو نسبت به باکتری

به منظور تعیین مقدار چربی لاروها از دستگاه سوکسله استفاده گردید. برای این منظور تعداد زیادی لارو از سنین مختلف به تفکیک توزین شد. سپس لاروهای مربوط به هر یک از سنین با استفاده از یک مخلوط کن کاملاً له گردید و به‌طور جداگانه داخل کارتوش‌های مربوطه ریخته شد و سپس کارتوش‌ها روی دستگاه سوکسله نصب و با استفاده از اتر چربی موجود در آنها استخراج گردید. پس از اتمام کار، میزان چربی حاصل با استفاده از یک ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد و متوسط میزان چربی برای هر یک از لاروهای سنین مختلف به طور جداگانه محاسبه گردید.

۳. تشدید کننده‌ها

۳. ۱. استخراج کافئین

به منظور استخراج کافئین از روش ارائه شده توسط کانیف (۹) استفاده گردید. کافئین مورد استفاده در آزمایش‌ها از چای معمولی (گلستان) موجود در بازار استخراج شد. برای این کار ۲۰۰ گرم چای مورد نظر کاملاً آسیاب گردیده و به شکل پودر در آمد. ۵۰ گرم اکسید منیزیم جهت جدا کردن تانن‌ها به آن اضافه گردید. سپس محتویات بالن با ۱۰۰ سانتی‌متر مکعب آب مقطر خیس و با به هم زدن به صورت یک‌نواخت درآمد. بعد از مدت زمان ۲ ساعت، به مبرد برگردان وصل شد. پس از یک ساعت جوشیدن، ۲۰۰ سانتی‌متر مکعب کلروفرم به مجموعه اضافه گردید. ۱۰۰ گرم از نمونه مذکور در بشر ریخته شد تا کلروفرم آن تبخیر و به رنگ سبز در آید. سپس به آن ۲۰۰ سانتی متر مکعب اتر و ۲۵۰ سانتی‌متر مکعب اسید کلریدریک اضافه شد. بعد از آن به داخل دکانتور منتقل و خوب به هم زده شد و با باز کردن شیر آن گازهای موجود در دکانتور تحلیه شد. سپس دکانتور به حال خود گذاشته شد تا دو لایه تشکیل شود. پس از حل شدن کافئین در فاز پائین، محلول حاصل به دکانتور دوم منتقل گردید و روی آن ۱۵۰ سانتی متر مکعب اتر ریخته شد و بعد از به هم زدن و خارج کردن گازها دو فاز مجزا تشکیل شد، مجدداً فاز پایین در دکانتور سوم ریخته شد و روی آن تا حد اشباع آمونیاک اضافه گردید و به این مجموعه کلروفرم (۲۵۰ سانتی‌متر مکعب) اضافه شد و فاز پائین به دکانتور دیگری انتقال یافت. سپس کلروفرم محتوی کافئین در ظرف دیگری ریخته شد که بعد از تبخیر کلروفرم، کافئین به صورت رسوب سفید رنگ نمایان گردید. میزان کافئین استحصال شده با این روش ۱۰ گرم بود.

۱. ۱. ۳. بررسی اثر تشدید کنندگی کافئین در اختلاط با باکتری

در این آزمایش حداقل غلظت مؤثر باکتری روی لاروهای سن سوم که در بررسی اثر بیماری‌زایی ۲۵ درصد تلفات ایجاد کرد (۶۱۸پی پی ام)، جهت اختلاط با غلظت‌های ۲۰۰۰، ۳۰۰۰ و ۴۰۰۰ پی پی ام کافئین انتخاب شد. آزمایش‌های اصلی در قالب طرح کرت‌های کاملاً تصادفی با ۶ تیمار در ۴ تکرار اجرا شد. ۶ تیمار آزمایش عبارت بودند از:

الف) B.t. خالص (کمترین غلظت مؤثر)

ب) کافئین (۲۰۰۰پی پی ام) + *B.t.* (کمترین غلظت مؤثر)

ج) کافئین (۳۰۰۰پی پی ام) + *B.t.* (کمترین غلظت مؤثر)

د) کافئین (۴۰۰۰پی پی ام) + *B.t.* (کمترین غلظت مؤثر)

ه) کافئین (۴۰۰۰پی پی ام)

و) شاهد(آب مقطر)

آلوده‌سازی شاخه‌های تیمار به وسیله سم پاش دستی پلاستیکی انجام گرفت و برای پخش یک‌نواخت مواد روی

www.SID.ir

PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

سطوح شاخه‌ها از روغن سیتوویت به غلظت ۲۵۰ پی پی ام در تمام تیمارها استفاده گردید. شاخه‌های تیمار، درون ظروف تیمار مشابه ظروف پرورش قرار داده شد و در هر تکرار ۱۰ عدد لارو سن سوم رهاسازی گردید. سپس ظروف توسط پارچه توری کاملاً مسدود شدند و در شرایط پرورش قرار گرفتند و تلفات حاصل، هر ۲۴ ساعت شمارش گردید که اصولاً باید تا ورود تیمار شاهد به مرحله شفیرگی ادامه می‌یافت ولی با توجه به ثابت ماندن تلفات، به مدت ۱۴۴ ساعت انجام شد.

۳. ۲. تهیه عصار آبی چریش

برای تهیه عصاره آبی چریش از روش ارائه شده توسط ارومچی (۱)، استفاده گردید. در تهیه این سوسپانسیون از دانه‌های چریش، برای ۱۰ لیتر آب ۵۰۰ گرم دانه چریش مورد نیاز است. به همین منظور ۵۰ گرم از دانه‌های چریش به وسیله آسیاب کاملاً خرد گردید. دانه‌های خرد شده در ۱ لیتر آب مخلوط گردید و چند بار خوب به هم زده شد. این مخلوط به مدت چند ساعت به حال خود گذاشته شد تا مواد مؤثر حشره‌کش موجود در آن به خوبی وارد گردد. قطعات درشت و پوست دانه‌ها از سوسپانسیون توسط یک پارچه توری ریز جدا شد.

۳. ۲. ۱. بررسی اثر تشدیدکنندگی عصاره آبی چریش در اختلاط با باکتری

در این بررسی حداقل غلظت مؤثر باکتری روی لارو سن سوم (۶۱۸ پی پی ام) برای اختلاط با سه غلظت ۱۵۰۰۰، ۲۵۰۰۰ و ۳۵۰۰۰ پی پی ام عصاره آبی چریش استفاده شد. آزمایش‌های اصلی در قالب طرح‌های کاملاً تصادفی با ۶ تیمار در ۴ تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایش عبارت بودند از:

الف) B.t. خالص (کمترین غلظت مؤثر)

ب) عصاره آبی چریش (۱۵۰۰۰) پی پی ام) + *B.t.* (کمترین غلظت مؤثر)

ج) عصاره آبی چریش (۲۵۰۰۰پی پی ام) + *B.t.* (کمترین غلظت مؤثر)

د) عصاره آبی چریش(۳۵۰۰۰پی پی ام) + *B.t.*(کمترین غلظت مؤثر)

ه) عصاره آبی چریش (۳۵۰۰۰پی پی ام)

و) شاهد(آب مقطر)

نحوه آلوده‌سازی شاخه‌های تیمار مشابه آزمایش مربوط به بررسی اثر تشدیدکنندگی کافئین بود.

٤. تأثیر تشدیدکننده‌ها روی وزن لاروی حشره

در این بررسی اثر تشدیدکننده‌های کافئین(۴۰۰۰ پی پی ام) و چریش (۳۵۰۰۰پی پی ام) روی وزن لاروهای سن سوم تحت تیمار مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش بر اساس آزمونT-test طراحی گردید. برای اجرای آزمایش ۳۰ عدد لارو سن سوم سوسک کلرادو به عنوان تیمار شاهد و ۳۰ عدد نیز با غلظت ذکر شده برای هر تشدیدکننده، به مدت ۱۲۰ ساعت تیمار شد. سپس میانگین وزن لاروی برای هر یک از تیمارها جداگانه محاسبه گردید.

۵. تجزیه و تحلیل داده‌ها

نتایج به دست آمده از بررسی حساسیت به وسیله نرم افزارSAS و برنامه پروبیت مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و مقادیر۵۰ LC باکتری برای سنین مختلف لاروی سوسک کلرادو تعیین گردید. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excell بهره‌گیری شد. هم چنین به منظور تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از تأثیر تشدیدکننده‌ها از $\sqrt{x}$ Arcsin داده‌ها جهت همگن کردن آنها و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن استفاده گردید. هم‌چنین به منظور مقایسه متوسط وزن لاروها از آزمون T-test و نیز از نرم افزار MSTAT-C استفاده گردید.

نتایج و بحث

۱. بررسی حساسیت سنین ۱ الی۴ لاروی سوسک کلرادو به باکتری

مقادیر۵۰ LC باکتری برای سنین اول، دوم، سوم و چهارم سوسک کلرادو در جدول ۱ دیده می‌شود.

www.SID.ir

PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

جدول۱. تجزیه پروبیت داده‌های مربوط به تأثیر باکتری روی سنین اول الی چهارم لارو سوسک کلرادو

سنین لاروی	معادله برآوردکننده درصد تلفات برحسب مقادیر معینی از باکتری	واریانس شیب خط رگرسیون	LC_{50} (ppm)	فاصله بین حد بالا و پایین LC_{50}
سن اول	y=۰/۲۱۵۷+۲/۵۳۹۷x	۰/۵۷۲۳	۱۸۳/۸۶	۷۳/۱
سن دوم	y=−۱/۸۲۸+۲/۶۵۰۳ x	۰/۵۵۸۸	۳۷۷/۰۳	۵۸۰/۶۵
سن سوم	y=−۰/۵۳۱+۱/۷۰۷ x	۰/۴۶۷۵	۱۲۹۷	۸۱۴/۹
سن چهارم	y=−۲/۵۰۴+۲/۱۴۹۸ x	۰/۵۱۳۴	۳۰۹۶	۲۹۳۲

شکل‌های ۱ الی ۴ رابطه لگاریتم غلظت و پروبیت درصد تلفات لاروهای سنین اول،دوم، سوم و چهارم سوسک کلرادوی را که از غلظت‌های مختلف باکتری تغذیه کرده‌اند، نشان می‌دهد. مشاهده می‌شود که با افزایش غلظت باکتری تلفات لاروها نیز افزایش می‌یابد.

مقادیر LC_{50} محاسبه شده حاصل از تأثیر غلظت‌های مختلف باکتری روی سنین مختلف لاروی سوسک کلرادو نشان می‌دهد که سنین پائین‌تر نسبت به باکتری حساسیت بیشتری دارند به‌طوری که لارو سن چهارم تقریباً ۱۷ مرتبه مقاوم تر از لارو سن اول، ۸ مرتبه مقاوم‌تر از لارو سن دوم و ۲/۵ مرتبه مقاوم‌تر از لارو سن سوم می‌باشد و لارو سن سوم نیز حساسیت کمی داشته به طوری که LC_{50} لارو سن سوم تقریباً ۷ برابر لارو سن اول و بیش از ۳ برابر لارو سن دوم است. بنابراین لاروهای سنین سوم و چهارم این حشره دارای مقاومت نسبتاً بالایی هستند.

فرو و لوپز(۱۰)، این مقادیر را برای لاروهای سنین ۱ الی۳ به ترتیب ۱۷۸/۷۹، ۳۸۴ و۱۳۰۵/۲۷ پی پی ام برآورد کردند که نتایج حاضر تا حد زیادی با نتایج آنها مطابقت دارد و اختلافات موجود با توجه به بیوتیپ‌های متفاوت حشره ونیز متفاوت بودن فرمولاسیون‌های باکتری قابل توجیه است.

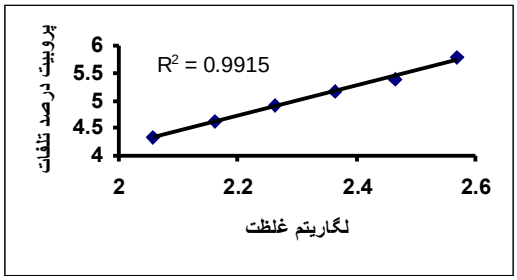
شکل ۵ مقادیر LC_{50} باکتری را به ازای هر لارو و واحد وزن بدن لارو نشان می‌دهد. به طوری که معلوم است در ۹۹ درصد موارد مقادیر LC_{50} به دست آمده به سن لاروی مربوط می‌شود و لاروهای سنین بالا به دلیل داشتن وزن بیشتر در برابر یک دز معین مقاومت بیشتری را به ازاء هرلارو نشان می‌دهند و با افزایش وزن به مقاومت لارو در برابر باکتری افزوده می‌شود و در ۹۹درصد موارد مقادیر LC_{50} برآورد شده به وزن لارو بستگی داشته و ۱درصد باقی‌مانده به عواملی غیر از وزن مربوط می‌شود. برای حذف اثر وزن بدن در افزایش مقاومت در برابر باکتری مقادیر LC_{50} محاسبه شده بر حسب واحد وزن بدن لارو مورد بررسی قرار گرفت و معلوم گردید که به ازای واحد وزن بدن، لاروهای مسن‌تر حساس‌تراز لاروهای جوان‌تر می‌باشند و این مطلب در شکل ۵ دیده می‌شود.

نتایج کلیه تحقیقات انجام شده در این بررسی نشان داد که مقادیر LC_{50} برآورد شده به ازای هر لارو در سنین بالاتر بیشتر از سنین پایین‌تر می‌باشد. به عبارت دیگر ظاهراً لاروهای مسن‌تر در برابر باکتری نسبت به لاروهای جوان‌تر حساسیت کمتری دارند ولی اگرحساسیت به ازای واحد وزن بدن تعیین شود، نتیجه عکس می‌شود و لاروهای جوان‌تر در واحد وزن بدن، نسبت به لاروهای مسن‌تر حساسیت کمتری به باکتری نشان می‌دهند و دلیل حساس‌تر بودن لاروهای سنین بالا نسبت به سنین پایین‌تر، کمتر بودن میزان چربی آنها در واحد وزن می‌باشد به طوری که با اندازه‌گیری میزان چربی لاروهای سنین مختلف مشخص گردید که میزان درصد چربی موجود در لاروهای سنین اول، دوم، سوم و چهارم سوسک کلرادوی سیب زمینی به ترتیب ۸/۲، ۵/۶، ۳ و ۱/۸ درصد واحد وزن بدن لارو می‌باشد. با توجه به این که آنزیم‌های مؤثر در سم زدایی مانند (MFO) منشأ استروئیدی دارند(۱۳) بنابراین هر اندازه میزان چربی در

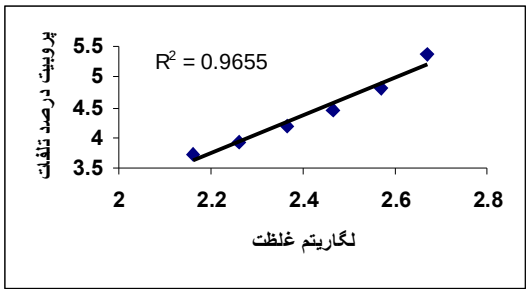
www.SID.ir

PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

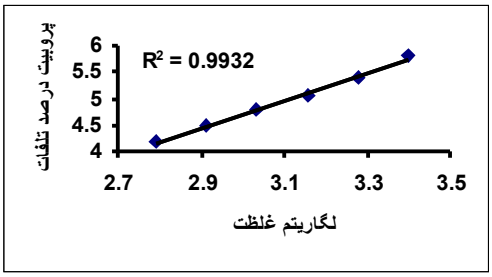
Archive of SID



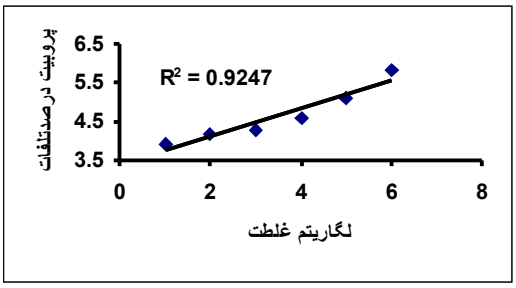
شکل۱. رابطه بین لگاریتم غلظت و پروبیت درصد تلفات سن اول



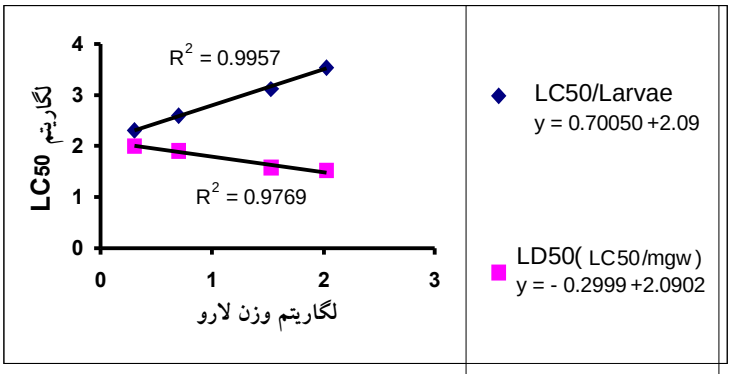
شکل۲. رابطه بین لگاریتم غلظت و پروبیت درصد تلفات سن دوم



شکل۳. رابطه بین لگاریتم غلظت و پروبیت درصد تلفات سن سوم



شکل۴. رابطه بین لگاریتم غلظت و پروبیت درصد تلفات سن چهارم



شکل۵. رابطه بین لگاریتم وزن لارو و لگاریتم LC_{50} باکتری برای سنین ۱ الی ۴ لاروی بر حسب واحد وزن لاروی و واحد حشره

واحد وزن بدن بیشتر باشد نقش آنزیم‌ها در بی اثر کردن مواد سمی مانند توکسین باکتری بیشتر می‌شود و در نتیجه حساسیت حشره در واحد وزن به دلیل وجود چربی بیشتر، کمتر خواهد بود.

۲. بررسی تأثیر توام باکتری وکافئین روی لارو سن سوم

نتایج به دست آمده از تأثیر تیمارهای مختلف روی لارو سن سوم در جدول ۲ ارائه شده است. مشخص است که درتیمارهای دارای مخلوط باکتری وکافئین تلفات به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد به علاوه در این تیمارها مرگ و میر لاروها سریع‌تر بروز می‌کند.

نتایج به دست آمده از تجزیه و تحلیل داده‌های تبدیل شده به $\text{Arc}\sin\sqrt{x}$ بعد از ۱٤٤ ساعت در جدول ۳ ارائه شده است. این نتایج نشان می‌دهد که در سطح اطمینان ۹۹ درصد بین تیمارها از نظر آماری تفاوت معنی‌دار وجود دارد.

برای گروه‌بندی میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد که نتیجه آن در جدول ۴ ارائه شده است. $S\bar{x}$ =۲/۲۲۳=در سطح احتمال ۵ درصد

www.SID.ir

PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

جدول۲. روند تلفات لاروهای سن سوم با تغذیه از باکتری مخلوط با کافئین در زمان‌های مختلف

تیمار		تعداد لارو		تلفات در زمان (ساعت)						درصد تلفات
		تکرار	کل	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶	۱۲۰	۱۴۴	
Bt.	(الف)	۱۰	۴۰	۰	۱	۳	۶	۸	۸	۲۰
B.t.+ caffe(۲۰۰۰ ppm)	(ب)	۱۰	۴۰	۱	۶	۱۲	۱۵	۱۶	۱۶	۴۰
B.t.+ caffe(۳۰۰۰ppm)	(ج)	۱۰	۴۰	۴	۱۳	۱۹	۲۳	۲۵	۲۶	۶۵
B.t.+ caffe(۴۰۰۰ppm)	(د)	۱۰	۴۰	۸	۱۷	۲۴	۲۷	۳۱	۳۲	۸۰
caffe(۲۰۰۰ppm)	(ه)	۱۰	۴۰	۰	۰	۰	۰	۱	۴	۱۰
شاهد	(و)	۱۰	۴۰	۰	۰	۰	۱	۱	۱	۲/۵

جدول ۳. تجزیه واریانس تیمارهای مختلف مربوط به تأثیر کافئین و باکتری روی لاروهای سن سوم

منابع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مجموع مربعات	F – محاسبه شده
تیمار	۵	۹۵۷۶/۸۵۳	۱۹۱۵/۳۷۱	۹۶/۸۷۵**
خطا	۱۸	۳۵۵/۸۸۸	۳۵۵/۷۷۲	————
کل	۲۳	————	————	————

CV =٪۱۲/۸۴

جدول ۴. گروه‌بندی میانگین تیمارهای مربوط به تأثیر کافئین و باکتری روی لاروهای سن سوم

تیمار	و	ه	الف	ب	ج	د
میانگین	۵/۸۸۳ f	۱۸/۴۳ e	۲۶/۵۶ d	۳۹/۲۳ c	۵۳/۷۸ b	۶۳/۸ a

همان‌طوری که دیده می‌شود همه تیمارها از نظرآماری با یکدیگر تفاوت معنی‌دار دارند. تیمارهای دارای کافئین نسبت به تیمار *B.t.* دارای اختلاف معنی‌دار هستند ودر ایجاد تلفات بیشتر مؤثر بودند و تیمار(د) که کافئین با غلظت ۴۰۰۰پی پی ام می‌باشد بیشترین تأثیر را داشته و از سایر تیمارها مؤثرتر بوده و با آنها اختلاف معنی دار دارد. کافئین یک متابولیت ثانویه گیاهی از ترکیبات متیل گزانتین واز دسته آ لکالوئیدهای پورین و دارای خاصیت قلیایی می‌باشد(۳و۵) قلیاییت بالاحلالیت دلتا اندوتوکسین باکتری را در روده میانی حشره افزایش می‌دهد(۱۵و ۱۶). نتایج به دست آمده از این پژوهش نیز مؤید این موضوع است به‌طوری که در جدول ۲ دیده شد در مدت۴۸ ساعت تلفات لاروی افزایش قابل ملاحظه‌ای نشان می‌دهد و این پدیده می‌تواند در این خصوصیت شیمیایی موادآلکالوئید پورین نهفته باشد (۳). هم‌چنین این ماده باعث تسریع در ظهور مرگ و میر لاروها می‌شود. در این بررسی درحالی که غلظت ۶۱۸ پی پی ام باکتری در مدت ۶ روز ۲۰ درصد تلفات را در لاروهای سن سوم سوسک کلرادو ایجاد کرد مخلوط همین غلظت از باکتری با کافئین ۴۰۰۰ پی پی ام در همان مدت ۸۰ درصد تلفات را در لاروهای مذکور ایجاد نمود. همان طوری که در جدول ۲ دیده شد. تلفات حاصل ۴ مرتبه بیشتر از باکتری خالص می‌باشد. میران تلفات تیمارهای شاهد و محلول ۴۰۰۰ پی پی ام کافئین به تنهایی در همین مدت هر کدام به ترتیب۲/۵ و ۱۰ درصد بود یعنی تلفات حاصل ازمخلوط فوق بیش از ۲/۵ برابر دو تیمار باکتری خالص و کافئین خالص بود روند مرگ و میر لاروها

www.SID.ir

PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

بعد از ۴۸ ساعت همچنان ادامه یافته و در۱۴۴ ساعت ثابت ماند. موریس و همکاران (۱۵) اثر سینرژیستی تعدادی از ترکیبات متیل گزانتین از جمله کافئین را در اختلاط با Dipel که یک فرمولاسیون تجاری از *B.t.* است روی *Mamestra configurata* گزارش کردند و ناتانسون(۱۵) نیز اثر سینرژیستی کافئین را روی *Manduca sexta* گزارش نموده است .در پژوهش حاضر نیز کافئین به‌عنوان یک ماده متیل گزانتین علاوه بر تسریع در ظهور تلفات سبب بروز اثر سینرژیستی بالا در اختلاط با باکتری گردید.

۳. بررسی تأثیر توأم باکتری وعصاره آبی چریش روی لارو سن سوم

نتایج به دست آمده از تأثیر تیمارهای مختلف روی لارو سن سوم در جدول ۵ ارائه شده است. با بررسی این جدول مشخص می‌شود که در تیمارهای دارای مخلوط باکتری و چریش تلفات به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد.

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌های تبدیل شده به $\mathrm{Arcsin}\sqrt{x}$ بعد از ۱۴۴ ساعت در جدول ۶ ارائه شده است. این نتایج نشان می‌دهد که در سطح اطمینان ۹۹ درصد بین تیمارها از نظر آماری تفاوت معنی‌دار وجود دارد.

برای گروه‌بندی میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵درصد استفاده شدکه نتیجه آن در جدول ۷ ارائه شده است.

تیمارهایی که دارای حروف مشابه‌اند از نظرآماری با یکدیگر تفاوت معنی‌دار ندارند. جدول ۷ نشان می‌دهد که تیمارهای دارای چریش نسبت به تیمار *B.t.* دارای اختلاف معنی‌دار هستند و در ایجاد تلفات، بیشتر مؤثر بوده‌اند و تیمار (د) که غلظت ۳۵۰۰۰ پی پی ام چریش می‌باشد بیشترین تأثیر را داشته است. با توجه به نتایج جدول ۵ مشاهده می‌شود که به دلیل تغییر جلد لاروها حداکثر تلفات در ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از تیمار حادث می‌شود و تا ۱۴۴ ساعت ادامه دارد.

طبق بررسی‌های صورت گرفته لاروهایی که از مواد آلوده به چریش تغذیه نمایند موفق به پوست اندازی نشده و از بین می‌روند(۲۱). در یک بررسی انجام شده روی عصاره‌های آبی و الکلی چریش در اختلاط با تورساید یک فرمولاسیون تجاری از *B.t.* هر دو به میزان قابل توجهی باعث افزایش کارآیی باکتری گردیدند(۱۲). نتایج حاصل از این پژوهش نیز مؤید این موضوع بود به‌طوری که عصاره آبی حاصل از مغز دانه چریش به غلظت ۳۵۰۰۰ پی پی ام دراختلاط با غلظت ۶۱۸ پی پی ام باکتری اثر سینرژیستی بالایی نشان داد. در این بررسی در حالی که این غلظت باکتری در مدت ۶ روز ۲۲/۵ درصد تلفات را در لاروهای سن سوم سوسک کلرادو ایجاد کرد مخلوط همین غلظت از باکتری با عصاره آ بی حاصل از چریش(۳۵۰۰۰ پی پی ام) در همان مدت، ۷۷/۵ درصد تلفات را در لاروهای مزبور ایجاد نمود. میزان تلفات تیمارهای شاهد و محلول ۳۵۰۰۰ پی پی ام چریش به تنهایی در همان مدت زمان هر کدام به ترتیب ۲/۵ و۲۵ درصد بود. همان طوری که در جدول ۵ مشاهده شد حداکثر تلفات در ۷۲ و ۹۶ ساعت بعد از تیمار کردن یعنی هنگام تغییر جلد لاروها دیده می‌شود و به دلیل عدم توانایی در تغییر جلد فشار مضاعفی بر حشره وارد می‌گردد و سبب افزایش تأثیرگذاری باکتری به علت ضعیف شدن و ناتوانی لاروها در نتیجه اختلالات فیزیولوژیکی می‌شود(۲۱). در این بررسی روند تلفات تا ۱۴۴ ساعت ادامه داشت و بروز حالت سینرژیسم در تمام تیمارهای حاوی چریش مشاهده گردید.

٤. بررسی اثر تشدیدکننده‌ها روی وزن لارو

طی بررسی انجام شده در پژوهش حاضر، کافئین و چریش رشد و نمو حشره را به تأخیر می‌اندازند و در لاروهای زنده تحت تیمار این ترکیبات، در مقایسه با تیمار شاهد افزایش وزن اندکی مشاهده می‌شود. جدول ۸ نتایج به دست آمده از تأثیر تیمارهای مختلف روی وزن لاروهای تغذیه کرده از آنها را پس از ۱۲۰ساعت نشان می‌دهد.

همان‌طوری که دیده می‌شود هر دو ماده با اطمینان ۹۵ درصد

www.SID.ir

PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

جدول ۵. روند تلفات لاروهای سن سوم با تغذیه از باکتری مخلوط با چریش در زمان‌های مختلف

تیمار		تعداد لارو		تلفات در زمان (ساعت)						درصد تلفات
		تکرار	کل	۲۴	۴۸	۷۲	۹۶	۱۲۰	۱۴۴	
Bt.	(الف)	۱۰	۴۰	۰	۱	۴	۶	۸	۹	۲۲/۵
B.t.+ neem(۱۵۰۰۰ ppm)	(ب)	۱۰	۴۰	۰	۲	۵	۱۱	۱۵	۱۶	۴۰
B.t.+ neem(۲۵۰۰۰ppm)	(ج)	۱۰	۴۰	۰	۳	۸	۱۶	۱۹	۲۲	۵۵
B.t.+ neem(۳۵۰۰۰ ppm)	(د)	۱۰	۴۰	۰	۵	۱۳	۲۳	۲۸	۳۱	۷۷/۵
neem(۳۵۰۰۰ppm)	(ه)	۱۰	۴۰	۰	۰	۱	۶	۹	۱۰	۲۵
شاهد	(و)	۱۰	۴۰	۰	۰	۰	۰	۰	۱	۲/۵

جدول ۶. تجزیه واریانس تیمارهای مختلف مربوط به تأثیر چریش و باکتری روی لاروهای سن سوم

منابع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مجموع مربعات	F – محاسبه شده
تیمار	۵	۷۲۷۱/۶۶۲	۱۴۵۴/۳۳۲	۷۴/۰۸۱**
خطا	۱۸	۳۵۳/۳۷۱	۱۹/۶۳۲	———
کل	۲۳	———	———	———

CV = ٪ ۱۲/۴۹

جدول۷ .گروه بندی میانگین تیمارهای مربوط به تأثیر چریش و باکتری روی لاروهای سن سوم

تیمار	و	الف	ه	ب	ج	د
میانگین	۵/۸۸۳ ^{f}	۲۸/۲۲ ^{d}	۲۹/۸۸ ^{d}	۳۹/۲۳ ^{c}	۴۷/۸۹ ^{b}	۶۰/۴۴ ^{a}

جدول ۸. نتایج حاصل از تأثیر تیمارهای کافئین و چریش روی وزن لاروها با تغذیه از غذای حاوی آنها پس از ۱۲۰ ساعت

تیمار	تعداد	درجه آزادی	$\bar{x} \pm SE$ شاهد	$\bar{x} \pm SE$ تیمار	T – محاسبه شده	T – جدول
کافئین	۲۸	۲۷	۰/۰۸۲±۰/۰۰۷	۰/۰۳۴±۰/۰۰۵	۴۳/۳۵۱۸	۲/۰۴۸
چریش	۲۴	۲۳	۰/۰۸۳±۰/۰۰۸	۰/۰۳۸±۰/۰۰۸	۳۷/۳۲۷	۲/۰۶۹

باعث کاهش معنی‌دار وزن لاروها می‌شوند. نتیجه حاصل در مورد کافئین با نتایج موریس و همکاران (۱۵) که عصاره‌های چای و قهوه و مشتقات آنها از قبیل ترکیبات متیل گزانتین را به عنوان بازدارنده تغذیه معرفی کرده بودند مطابقت دارد. هم‌چنین نتایج این بررسی در مورد خاصیت ضدتغذیه‌ای آزادیراختین موجود درچریش با نتایج شوماتر(۲۱) مطابقت دارد.

کافئین یک ماده طبیعی است که در مقادیر بسیار بالا از قهوه و چای به دست می‌آید بنابراین تولید آن ارزان است (۳) و می‌توان آن را از ضایعات چای کارخانجات تولید کننده این فرآورده استخراج نمود. چریش نیز گیاهی است که در کشور ما در نواحی گرم و جنوب مانند بندرعباس، چاه بهار و میناب می‌روید. این مواد به عنوان ترکیبات گیاهی قابل دسترس و ارزان می‌توانند به صورت یک تشدیدکننده مؤثر و کارآمد در

www.SID.ir

PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

اختلاط با باکتری به کار برده شوند که علاوه بر کاهش تغذیه و خسارت وارده به شاخ و برگ، سبب افزایش کارآیی باکتری شده و مقدار مصرف آن را نیز تا حد قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌دهد که از نظر اقتصادی با توجه به قیمت باکتری حائز اهمیت است.

سپاسگزاری

بدین وسیله ار مسئولین محترم دانشکده کشاورزی و پرسنل گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه ارومیه به خاطر فراهم آوردن امکانات لازم برای انجام این تحقیق و نظریات ارزنده جناب آقای دکتر شایسته و جناب آقای دکتر ارومچی تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

منابع مورد استفاده

۱. ارومچی، س.۱۳۷۴. کنترل آفات در مزرعه و انبار با حشره‌کش طبیعی از چریش. انتشارات مدیریت آموزش و ترویج سازمان کشاورزی. استان آذربایجان غربی، صفحه ٤-١٤.

۲. جعفری، ک. ۱۳۷٦. درون یک فنجان چای دلنشین چیست؟ زیتون ۱۳۳: ۲۲- ۲۵.

۳. رحمانی، ف. ۱۳۷۹. بررسی آثار آللوپاتیکی کافئین و مکانسیم‌های آن بر جوانه‌زنی دانه و رشد گیاهچه ذرت. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم گیاهی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه.

٤. زرنگار، ع. ۱۳۷۴. امکان مبارزه فیزیولوژیکی با سن گندم (*Eurygaster integriceps* Put). پایان نامه کارشناسی‌ارشد حشره‌شناسی کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران.

۵. صمصام شریعت، ه. ۱۳۶۸. *تجزیه شناسایی مواد دارویی گیاهی به روش میکروسکوپی و کروماتوگرافی*. انتشارات مشعل، تهران.

٦. کاظمی، م. ح. و ژ. اردبیلی. ۱۳۷۹. بررسی وضعیت بیواکولوژیک سوسک کلرادو(*Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Col. Chrysomelidae از سال ۱۳۶۳ تا ۱۳۶۹ در منطقه اردبیل. دانش کشاورزی ۹ : ٤١-٥٦.

7. Bernays, E. A., D. Chamberlain and P. McCarthy.1980. The differential effects of ingested tannic acid on different species of acridoidea. Entomol. Exp. Appl. l28:158-166.
8. Clark, W. G., D. C., Brater and A. R. Johnson. 1999. Medical Pharmacology. Appleton and Lange Pub., U.S.A.
9. Cunniff, P. 1998. Official Methods of Analysis of AoAc International. 16th ed., AoAc International Pub., Florida, American.
10. Ferro, D. N. and R. Lopez. 1995. Larviposition response of Myiopharus doryphora to Colorado potato larvae treated with lethal and subletal doses of Bacillus thuringiensis Berliner subsp.tenebrionis. J. Econ. Entomol. 88 (4): 870-874.
11. Gould, F., A. Anderson, A .Reynolds, L.Bumgartner and W.Moar. 1995. Selection and genetic and analysis of a *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) strain with high levels of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins. J. Econ.Entomol. 88(6): 1554- -1559.
12. Jacobson, M. 1990. Review of neem research in the United States. *In*: J. C. Locke and R. H. Lawson(Eds.), Proceedings of a Workshop on Neem's Potential in Pest Management Programmes, CRC Press Inc., MaryLand, American.
13. Matsumura, F. 1985. Toxicology of Insecticides. 2nd ed., Plenum Press Pub., New York.
14. Morris, O. N., M. Tottier, N. B, .Mc Laughlin and V. Converse. 1994. Interaction of caffeine and related compounds with *Bacillus thuringiensis*.subsp. *kurstaki* in bertha armyworm. J. Econ. Entomol. 87(3): 610-617.
15. Morris, O. N., V. Converse and P.Kanagratnam. 1995. Chemical additive effects on the efficacy of *Bacillus thuringiensis.* Subsp.*Kurstaki* against *Mamestra configurata*. J. Econ. Entomol. 88(3): 815-824.
16. Pawinska, M. 1992. The Use of Novodor FC in Mixture With Fungicides and Insecticides Against Colorado Potato Beetle .CAB Int. Press, London.
17. Pedigo, L. P. 1999. Entomology and Pest Management. 3rd ed., Prentice Hall. N. J. U.S.A. 691PP.
18. Priest, F. and B. Austin. 1993. Modern Bacteria Taxonomy. 2nd ed., Chapman and Hall, London. 228p.
19. Rizvi, S.J.H. and V. Rizvi.1992. Allelopathy: Basic and Aspects. 1st Ed., Chapman and Hall, London.
20. Robertson, J.L. and H.K.Preisler. 1992. Pesticide Bioassays with Arthropods. CRC Press, London.

www.SID.ir

PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com

Archive of SID

21. Schmutterer, H. 1990. Future tasks of neem research in relation to agricultural needs world. *In*: J.C. Locke and R.H. Lawson. (Eds.), Proceedings of a Warkshop on Neem's Potential in Pest Management Programmes. USDA-ARS, Beltsville, MD.ARS-86.15-27.
22. Zehnder, G. W. and W. D.Gelernter. 1989. Activity of the M-ONE formulation of a new strain of *Bacillus thuringiensis* against the Colorado potato beetle(Coleoptera: Chrysomelidae):relationship between susceptibility and insect life stage. J. Econ. Entomol. 82(3): 756-761.

www.SID.ir

PDF created with pdfFactory trial version www.pdffactory.com