Archive of SID

گیاهپزشکی (مجله علمی کشاورزی)، جلد ۳۸ شماره ۳، پاییز ۱۳۹۴

تأثیر باکتری *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* در اختلاط با پودر حنا روی مراحل لاروی شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی *Tuta absoluta* (Meyrick)

عذرا هاشمی طسوجی[۱]، شهرام آرمیده[۲*]، محمدحسن صفرعلیزاده[۳] و زهرا هاشمی طسوجی[۴]

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد حشره شناسی گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۲*- **نویسنده مسوول:** استادیار گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه (Shahramaramideh@gmail.com)

۳-استاد گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۹/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۱/۳۰

چکیده

شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی *Tuta absoluta* (Meyrick) یکی از آفات مهم گوجه‌فرنگی است که خسارت شدیدی به آن وارد می‌کند. با توجه به خطرات باقی‌مانده‌ی سموم و آسیب‌های زیست محیطی، استفاده از عوامل کنترل بیولوژیک به‌ویژه باکتری *Bacillus thuringiensis* مورد توجه می‌باشد. در این تحقیق از پودر حنا به عنوان یک ماده‌ی گیاهی افزایش دهنده اثر استفاده گردید. آزمایشات به روش غوطه ور سازی برگ گوجه فرنگی در محلول‌های تهیه شده انجام شد. سپس، مقادیر $LC_{۵۰}$ و $LC_{۲۵}$ حاصل از تاثیر غلظت‌های باکتری و حنا به طور جداگانه روی سنین لاروی طی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تعیین شد. به منظور بررسی اثر توأم باکتری و حنا اثرات تیمارهای $LC_{۵۰}$ باکتری، $LC_{۵۰}$ حنا و مخلوط $LC_{۲۵}$ حنا و $LC_{۲۵}$ باکتری و تیمار شاهد در قالب طرح کاملاً تصادفی و در محیط برگ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بررسی‌ها نشان داد در هر سه سن لاروی اختلاط باکتری و حنا در مقایسه با تأثیر جداگانه باکتری و حنا اثر سینرژیستی داشته است. به‌طوری‌که میانگین درصد تلفات لارو سن یک با مقادیر $LC_{۵۰}$ حنا، $LC_{۵۰}$ باکتری و مخلوط $LC_{۲۵}$ حنا و $LC_{۲۵}$ باکتری در ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت به‌ترتیب (۲۰، ۲۶/۶۷ و ۵۰٪)، (۲۳/۳۳، ۳۰ و ۶۳/۳۳٪) و (۲۶/۶۷، ۳۳/۳۳ و ۶۶/۶۷٪)، در سن دوم لاروی (۲۰، ۲۶/۶۷ و ۵۶/۶۷)، (۲۳/۳۳، ۳۰ و ۶۰٪) و(۲۶/۶۷، ۳۳/۳۳ و ۶۳/۳۳٪) و در سن سوم لاروی (۲۰، ۲۳/۳۳ و ۵۶/۶۷٪)، (۲۳/۳۳، ۳۰ و ۶۰٪) و (۲۶/۶۷، ۳۳/۳۳ و ۶۳/۳۳٪) درصد به‌دست آمد. مطالعه اخیر نشان داد کاربرد توأم باکتری و حنا باعث افزایش تلفات در سنین مختلف لاروی شد. بنابراین، تلفیق عوامل بیولوژیک با روش‌های دیگر کنترلی به‌ویژه با عوامل قابل قبول زیست محیطی بهتر است در برنامه مدیریت تلفیقی آفات مورد استفاده قرار گیرد.

کلید واژه‌ها: *Bacillus thuringiensis*، حنا، اثر سینرژیستی، شب پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی

مقدمه

گوجه‌فرنگی *Lycopersicun esculentum* Miller،گیاهی علفی و یکساله از تیره بادمجانیان، Solanaceae، است. این گیاه بومی امریکای جنوبی بوده و یکی از محصولات اقتصادی مهم در بسیاری از کشورها می باشد (بالدین و همکاران[۱]، ۲۰۰۷). یکی از آفات مهم و نو ظهور این گیاه، مینوز گوجه‌فرنگی *Tuta absoluta* (Meyrick) است (صفوی و صفوی، ۱۳۹۰). در چند سال اخیر شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی به یک آفت مخرب تبدیل شده و به کلیه قسمت‌های گیاه گوجه فرنگی

1- Baldin *et al.*

www.SID.ir

Archive of SID

حمله می کند؛ این آفت به تمام مراحل رشدی بوته‌های گوجه فرنگی خسارت می‌زند و در تمام سنین لاروی احتمال خسارت به سبب تغذیه این حشره وجود دارد. لاروها، جوانه‌های انتهایی، برگچه‌های نازک، گل‌ها و میوه‌های سبز را برای تغذیه ترجیح می‌دهند. همچنین، لاروها از بافت مزوفیل برگ‌ها تغذیه می‌کنند و مسیر تغذیه آن‌ها به صورت لکه‌های نامنظم در می‌آید و فضولات سیاه لاروها درون دالان ها قابل مشاهده است. این لکه ها ممکن است بعداً نکروزه شوند. همچنین لاروها ممکن است تونل‌هایی در ساقه ایجاد نمایند. میوه‌ها نیز به محض ظهور روی بوته‌ها در معرض هجوم این آفت قرار می‌گیرند. دالان‌های ناشی از این آفت درون میوه، ممکن است محل ورود عوامل بیماری زای ثانویه باشد، که موجب فساد و پوسیدگی میوه می‌شود. این آفت حدود ۶۰ تا ۱۰۰ درصد محصول گوجه فرنگی را از بین می‌برد (گنزالز-کابررا و همکاران[1]، ۲۰۱۱). خسارت این آفت به طور مستقیم مربوط به کاهش ظرفیت فتوسنتزی و میزان تولید گوجه-فرنگی در مزارع باز و گلخانه‌هاست. علاوه بر این زیان اقتصادی ناشی از عدم بازارپسندی میوه‌های آلوده در شرایطی که امکان فرآوری پس از برداشت (بسته‌بندی، ذخیره‌سازی و حمل و نقل) وجود داشته باشد از اهمیت زیادی برخوردار است.

خسارت غیرمستقیم آفت نیز از راه آلودگی‌های ثانویه است که در اثر گسترش پاتوژن‌ها بر روی بافت‌ها و میوه‌ها به وجود می‌آید. در نهایت وجود آفت درون میوه‌های گوجه‌فرنگی همراه با مقاومت آن به دماهای پایین، باعث اختلال شدید در صادرات گوجه‌فرنگی به کشورهای غیرآلوده به آفت می‌شود (گارزیا و همکاران[2]، ۲۰۱۱). توانایی آفت در زندگی بر روی گونه‌های گیاهی مختلف، فقدان حشرات مفید کنترل کننده آن در مناطقی که به-تازگی آلوده شده‌اند و حضور دائم حشرات کامل و تخم-های آن و همچنین تداوم آلودگی به دلیل اختلاف در سرعت نشو و نمای لاروها و نیز مدت متفاوت چرخه‌ی زندگی بین جمعیت‌های موجود در مزارع باز و گلخانه‌ها بر مشکلات کنترل آفت می‌افزاید. اما برخی از رفتارهای خاص حشره موجب تسهیل در کنترل آن می‌گردد. لاروهای این آفت مدتی را به صورت سرگردان، خارج از بافت‌های گیاهی سپری می‌کنند که در این زمان‌ها در معرض آفت‌کش‌ها و دشمنان طبیعی واقع می‌شوند. تعدادی از لاروها پس از تفریخ تخم و قبل از حفر دالان به صورت سرگردان به سر می‌برند. همچنین در طول دوران رشد هنگامی‌که لاروها به دلیل کافی نبودن مواد غذایی (به علت تراکم بالای جمعیت یا خشک شدن یا فساد بافت گیاهی) از دالان اولیه به هدف حفر دالانی دیگر خارج می‌شوند و زمانی که لاروهای کامل برای دست‌یابی به مکانی مناسب جهت تبدیل شدن به شفیره از دالان خارج می‌شوند می‌توان بر آنها اثر گذاشت (سانینو و اسپینوزا[3]، ۲۰۱۰). در بسیاری از کشورهایی که این آفت وجود دارد، روش‌های کنترل بیولوژیکی آفت در حال بررسی و تحقیق است (دیزنوکس و همکاران[4]، ۲۰۱۰). در جوامع گوناگون بشری میل شدیدی به استفاده از مواد غذایی عاری از پس-مانده‌های ترکیبات و سموم شیمیایی ستنتیک وجود دارد که این گرایش سبب شده تا پژوهش‌ها به سوی دستیابی به ترکیبات حشره‌کش کم‌خطر سوق داده شود (ساید و همکاران[5]، ۲۰۰۰). استفاده بی رویه از سموم شیمیایی در کنترل آفات، سبب افزایش مقاومت آن‌ها در برابر سموم و آلودگی محیط زیست شده و تأثیر سوء بر سلامتی انسان

1- Gonzalez-Cabrera *et al.,*
2- Garzia *et al.,*
3- Sannino & Spinosa
4- Desneux *et al*.,
5- Sayed *et al*.,

www.SID.ir

Archive of SID

خواهد داشت (بانداری و همکاران [1]، ۲۰۰۹). در چنین شرایطی نیاز به یافتن روش‌های کنترلی ایمن، مناسب و توجیه‌پذیر از جنبه‌های اقتصادی ضروری است. از جمله این روش‌ها، کنترل آفات با استفاده از حشره‌کش‌های میکروبی و سنتز شده می‌باشد (ملادنوا و شتروا[2]، ۲۰۰۹). باکتری *B. thuringiensis*، حشره‌کشی میکروبی است که وقتی وارد دستگاه گوارشی حشره می‌شود غشاهای قسمت میانی مجرای هاضمه را متلاشی می‌کند (خدیر وهمکاران[3]، ۲۰۱۳). در حال حاضر این باکتری مهم‌ترین پاتوژنی است که برای کنترل بیولوژیکی آفات از جمله بالپولکداران مورد استفاده قرار می‌گیرد و فرمولاسیون‌های آن ۹۲٪ مصرف حشره‌کش‌های بیولوژیک جهان را به خود اختصاص می‌دهد (قاسمی کهریز و همکاران، ۱۳۸۳). پودر حنای طبیعی از برگ‌های گیاه حنا حاصل می‌شود که بومی ایران و با نام علمی *Lawsonia alba* Linnaeus از تیره‌ی Lythraceae است. برگ حنا دارای ماده‌ی رنگی لاوسون و مواد چربی و تانن‌ها می‌باشد (آینه‌چی، ۱۳۶۵). پودر حنا به عنوان یک ماده‌ی گیاهی بسیار ارزان قیمت و قابل دسترس می‌تواند به دلیل داشتن مقدار زیادی از انواع تانن‌ها و در صورت اختلاط با باکتری *B. thuringiensis* باعث بروز حالت سینرژیسم شود. زیرا تانن‌های موجود در آن می‌توانند در سلول‌های پوششی روده‌ی میانی حشرات زخم‌های ریزی ایجاد نماید و سبب شوند که اسپورهای باکتری که در درون روده‌ی میانی رشد کرده‌اند به مقدار فراوان‌تری وارد حفره‌ی عمومی شده و با افزایش عفونت عمومی، باعث افزایش تلفات لارو شوند (نامور و همکاران، ۱۳۸۲).

این تحقیق به منظور ارزیابی تأثیر اختلاط حنا با باکتری *B. thuringiensis* روی سنین لاروی شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی انجام شد.

مواد و روش‌ها

نحوه‌ی پرورش و نگهداری حشرات

کلنی مینوز گوجه‌فرنگی *T. absoluta*، از مزارع آلوده‌ی گوجه‌فرنگی اطراف ارومیه جمع‌آوری گردید. جهت تکثیر انبوه آفت، حشرات کامل روی بوته‌های رقم(Super strain B)گوجه‌فرنگی کشت شده در گلدان‌های پلاستیکی در گلخانه، همچنین در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، روی گوجه‌فرنگی انتقال داده شدند. به منظور اجرای آزمایشات هر هفته ۱۵ گلدان کشت شد. بذرها به مدت ۲۴ساعت در آب خیسانده شده و سپس در گلدان‌هایی با قطر دهانه ۱۵ و ارتفاع ۱۳ سانتی‌متر در گلخانه در شرایط دمایی ۲±۲۵ درجه سلسیوس و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و رطوبت نسبی ۱۰±۶۰ درصدکشت شدند. لاروهای رشد یافته با استفاده از اندازه-گیری عرض کپسول سر از سنین دیگر تفکیک گردید (کالتاگی‌ون و همکاران[4]، ۱۹۸۳) و روی گلدان‌هایی که با طلق پوشانده شده و دارای تعداد زیادی برگ رشد یافته منتقل شدند.

آزمایشات زیست‌سنجی با باکتری و پودر حنا

باکتری *B. thuringiensis* var. *kurstaki* strain PB54 به صورت پودر وتابل ساخت شرکت مورسیا[5] کشور اسپانیا تهیه گردید. پودر حنای مورد استفاده در زیست‌سنجی، پودر حنای معمولی موجود در بازار بود که بعد از الک (۴۰۰ مش) در زیست سنجی به کار رفت. به دلیل ماهیت حشره-کشی هر دو عامل که از طریق گوارشی مؤثر می‌باشند، زیست‌سنجی به روش غوطه‌ور کردن برگ گوجه‌فرنگی در

1- Bhandari *et al.*,
2- Mladenova & Shtereva
3- Khadir *et al.*

4- Caltagrone *et al.*
5- Murcia

www.SID.ir

Archive of SID

محلول سمی انجام گرفت (معینی نقده، ۱۳۸۲). جهت ارزیابی و تخمین LC_{50} باکتری و حنا، آزمایشات مقدماتی شامل تأثیر پنج غلظت از عامل بیولوژیک و نیز پودر حنا به همراه تیمار شاهد به منظور تعیین غلظت‌های حداقل و حداکثر (۲۰-۸۰٪) روی لاروهای سنین اول، دوم و سوم انجام گرفت. بعد از تعیین غلظت‌هایی که کمترین و بیشترین مرگ و میر را ایجاد کرده بودند سه غلظت دیگر به روش لگاریتمی محاسبه گردید (مراداسحاقی و پورمیرزا، ۱۳۵۳). غلظت‌های مختلف تهیه و ورتکس شدند و برگ‌های گوجه‌فرنگی در محلول‌های سمی غوطه‌ور شدند. به منظور پخش یکنواخت محلول‌ها درسطح برگ‌ها، به مقدار ۱ درصد از توئین۲۰[1] که دارای خاصیت پخش‌کنندگی و چسبندگی است، استفاده شد. پس از آلوده-سازی، برگ‌ها در دمای آزمایشگاه خشک گردید. در تیمار شاهد از آب مقطر به همراه توئین ۲۰ استفاده شد. پس از تبخیر آب از سطح برگ‌ها، ۱۰ عدد لاروهای سن ۱، ۲ و ۳ با استفاده از قلم موی نرم به طور جداگانه روی برگ‌ها قرار گرفتند. به منظور تبادل هوای درون پتری دیش‌ها، درب آن‌ها با توری مسدود گردید. تلفات لاروها پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت شمارش شد. لاروهای مرده با زدن ضربه توسط قلم‌مو به سر آن‌ها ثبت گردید. به این نحو که در صورت تحرک، لارو زنده و در صورت عدم واکنش به ضربه و تغییر رنگ بدن، مرده محسوب شدند. در این تحقیق برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد.

اثرات توام باکتری و پودر حنا

این آزمایش به منظور بررسی خاصیت اختلاط پودر حنا با باکتری بر مرگ و میر لاروها به منظور بالا بردن تأثیر باکتری و کاهش میزان مصرف ماده‌ی آن طراحی شد. بدین منظور بعد از تعیین مقادیر LC_{25} و LC_{50} باکتری و حنا به روش غوطه ور سازی برگ در محلول، اثرات توأم آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت. مقادیر هر دو ترکیب بر اساس مقدار LC_{25} و LC_{50} باکتری و حنا با ترازوی دیجیتالی توزین و محلول‌های هر کدام به همراه یک درصد توئین ۲۰ تهیه و برگ‌های گوجه‌فرنگی به روش غوطه‌ور کردن آغشته شدند. بعد از خشک شدن برگ‌ها در هر تیمار شامل تیمار باکتری LC_{50} (Bt)، حنا LC_{50} (He)، ترکیب باکتری با حنا LC_{25} (Bt) + LC_{25} (He) و تیمار شاهد در سه تکرار و در هر تکرار ۱۰ عدد لارو با استفاده از قلم‌مو روی برگ‌های درون پتری دیش‌ها قرار گرفتند و درب پتری دیش‌ها با توری مسدود گردید. تلفات هر سه سن لاروی پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تیمار شمارش شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

به منظور محاسبه مقادیر LC_{25} و LC_{50} باکتری و حنا داده-های حاصل از مرگ و میر لاروهای سنین مختلف در نرم‌افزار SPSS, 19 تجزیه‌ی پرویت[2] گردید. همچنین در ارزیابی خاصیت اختلاط پودر حنا با باکتری مرگ و میر ناشی از تیمارهای مختلف بعد از تبدیل داده‌ها به روش $\text{Arcsin}\sqrt{x}$ تجزیه واریانس یک طرفه[3] و مقایسه میانگین‌ها به روش توکی[4] در سطح اطمینان ۹۵ درصد انجام گرفت. برای رسم نمودارها نیز از نرم‌افزار Excel-2010 استفاده شد.

نتایج

محاسبه مقادیر LC_{25} و LC_{50} باکتری و حنا روی سنین مختلف لاروی شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی

مقادیر LC_{50} به دست آمده حاصل از تأثیر باکتری و حنا روی لاروهای شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی نشان داد که با گذشت زمان میزان LC_{50} باکتری و حنا کاهش یافت و میزان کشندگی نیز بیشتر گردید. همچنین سن اول لاروی بیشترین حساسیت کشندگی را نسبت به باکتری و در درجه بعدی حنا نشان داد و با افزایش سن لاروی از میزان حساسیت کشندگی کاسته‌شد (جدول ۱).

1- Tween20

2- Probit
3- One way ANOVA
4- Tukey

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱. مقادیر LC_{25} و LC_{50} تأثیر غلظت‌های مختلف باکتری و پودر حنا روی سنین مختلف لاروی شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی (تعداد لارو در هر آزمایش=۱۸۰، درجه آزادی= ۳)

ماده آزمایشی	سن لاروی	زمان (ساعت)	SE ±شیب خط	Chi-square	غلظت‌های کشندگی (پی پی ام)		
					LC_{25}	LC_{50}	حد بالا- حد پایین
باکتری	اول	۲۴	۲/۷۳۷±۰/۶۳۷	۰/۳۹۵	۱۲۱۶/۴۶۹	۲۱۴۵/۵۶۱	۱۶۷۵/۶۲۶-۳۶۹۵/۰۵۸
		۴۸	۱/۷۵۶±۰/۵۴۵	۰/۴۵۳	۹۸۵/۴۴۰	۱۸۰۴/۵۶۱	۱۶۴۳/۳۷۲-۸۴۷۳/۷۳۶
		۷۲	۲/۰۳۹±۰/۵۳۰	۰/۴۶۲	۷۹۵/۹۶۱	۱۷۰۵/۱۴۹	۱۳۱۵/۴۰۴-۳۰۱۳/۱۵۴
	دوم	۲۴	۴/۴۹۰±۰/۷۸۳	۲/۰۳۵	۱۵۵۷/۲۸۹	۲۲۰۰/۸۰۹	۱۹۶۲/۴۴۳-۲۵۲۴/۷۴۳
		۴۸	۳/۵۸۵±۰/۷۱۰	۱/۲۲۹	۱۳۶۸/۲۰۲	۲۱۰۹/۹۷۸	۱۸۳۴/۳۰۱-۲۴۹۲/۴۷۷
		۷۲	۳/۳۶۴±۰/۶۸۰	۰/۲۷۶	۱۱۸۴/۷۲۶	۱۸۷۹/۷۷۹	۱۶۰۱/۴۵۱-۲۱۹۷/۶۰۷
	سوم	۲۴	۵/۸۹۹±۰/۹۹۴	۲/۸۶۰	۲۰۸۳/۱۶۱	۲۷۱۰/۵۶۴	۲۴۸۳/۳۶۳-۳۰۰۸/۸۳۹
		۴۸	۴/۲۵۶±۰/۸۹۷	۰/۰۲۵	۱۹۱۴/۵۷۴	۲۷۵۷/۶۵۱	۲۴۵۶/۴۹۱-۳۲۲۹/۲۰۸
		۷۲	۳/۹۹۲±۰/۸۵۴	۰/۷۴۷	۱۵۲۶/۹۴۱	۲۲۵۳/۱۸۸	۲۲۱۰/۷۵۵-۲۸۸۶/۸۷۷
حنا	اول	۲۴	۳/۵۰۱±۰/۸۵۳	۳/۶۸۹	۱۵۵۸/۱۷۹	۲۴۲۸/۱۳۱	۲۰۷۲/۵۵۴-۳۳۸۶/۶۶۵
		۴۸	۳/۴۲۹±۰/۸۱۷	۳/۹۵۴	۱۳۹۲/۳۴۱	۲۱۸۹/۹۱۲	۱۸۹۱/۱۲۱-۲۸۵۱/۹۵۱
		۷۲	۳/۲۹۲±۰/۷۹۵	۴/۲۰۲	۱۲۸۷/۳۲۹	۲۰۶۳/۳۶۶	۱۷۷۹/۸۰۹-۲۶۲۹/۹۹۷
	دوم	۲۴	۶/۶۴۹±۱/۴۲۹	۲/۷۲۶	۲۶۱۰/۹۳۷	۳۲۹۷/۸۸۱	۳۰۴۰/۳۴۷-۳۸۰۷/۱۹۱
		۴۸	۶/۵۲۰±۱/۳۷۵	۴/۰۰۳	۲۴۹۱/۳۶۸	۳۱۶۱/۴۷۹	۲۹۲۳/۶۸۹-۳۵۸۱/۸۰۱
		۷۲	۵/۹۲۳±۱/۳۱۷	۲/۴۵۶	۲۳۴۷/۸۳۳	۳۰۵۱/۷۰۵	۲۸۰۹/۲۵۱-۳۴۵۷/۲۷۶
	سوم	۲۴	۴/۵۶۸±۱/۱۱۴	۲/۱۲۶	۴۰۲۸/۲۸۶	۵۶۵۹/۴۷۴	۵۰۲۸/۷۹۰-۷۲۱۵/۳۶۴
		۴۸	۴/۹۲۰±۱/۰۹۱	۳/۳۷۵	۳۷۶۹/۸۷۵	۵۱۶۹/۲۷۸	۴۶۷۲/۰۶۷-۶۰۷۹/۳۸۰
		۷۲	۴/۶۵۹±۱/۰۶۷	۳/۱۲۰	۳۶۲۲/۹۳۳	۵۰۵۶/۱۷۹	۴۵۵۲/۵۸۳-۵۹۵۳/۸۶۰

اثر توأم باکتری و حنا روی سنین لاروی شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به تلفات سن اول شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی در اثر مخلوط باکتری وحنا در زمان‌های ۲۴ ($F_{3,11}$= ۳۰/۶۶۷, P=۰/۰۰۱)، ۴۸ ($F_{3,11}$= ۱۵/۷۵, P=۰/۰۰۱) و ۷۲ ساعت ($F_{3,11}$= ۳۰/۶۶۷P=) نشان داد که با اطمینان ۹۵ درصد بین تیمارها از نظر کشندگی اختلاف معنی‌داری وجود داشت. در مورد اثر غلظت‌ها، F محاسبه شده از F جدول در سطح احتمال آماری ۹۵ درصد، در هر سه زمان ۲۴، ۴۸ و ۴۸ ساعت بزرگ‌تر بوده و P (احتمال) کوچکتر از ۰/۰۵ بود (شکل ۱).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به تلفات لارو سن دوم شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی در اثر مخلوط باکتری وحنا F ۴۰/۵۰, P=۰/۰۰۱) ۲۴ ($F_{3,11}$=۱۵/۷۵, P=۰/۰۰۱)، ۴۸ ($F_{3,11}$= ۱۷/۹۳, P=۰/۰۰۱) و ۷۲ ساعت ($F_{3,11}$= پس از آزمایش نشان داد که با اطمینان ۹۵ درصد بین تیمارها اختلاف معنی داری وجود داشت. در مورد اثر غلظت‌ها، F محاسبه شده از F جدول در سطح احتمال آماری ۹۵ درصد، بزرگ‌تر بوده و P (احتمال) کوچکتر از ۰/۰۵ بود (شکل ۲).

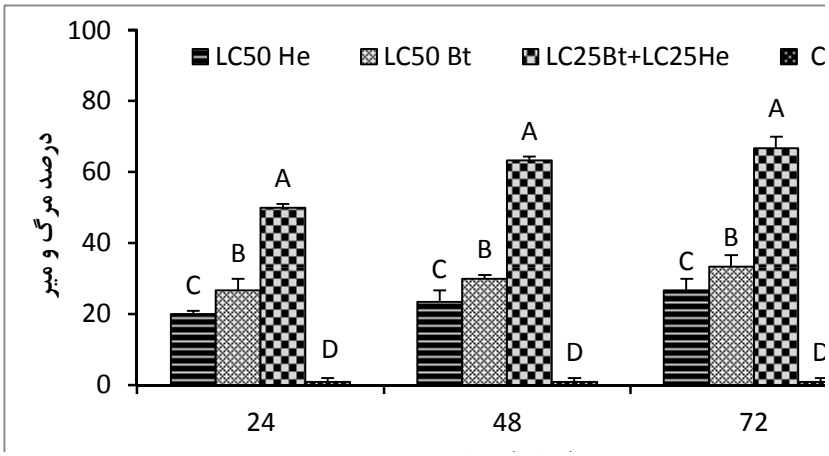
www.SID.ir

Archive of SID

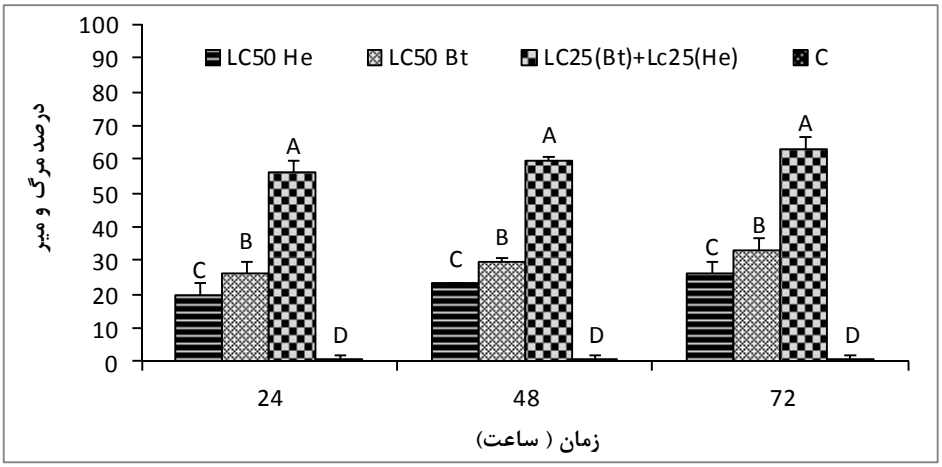
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به تلفات سن سوم شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی در اثر مخلوط باکتری، وحنا در زمان‌های ۲۴ ($F_{3,11}$= ۱۵/۷۵, P=۰/۰۰۱)، ۴۸ ($F_{3,11}$= ۴۰/۵۰, P=۰/۰۰۱) و ۷۲ ساعت ($F_{3,11}$= ۱۷/۹۳, P=۰/۰۰۱) ساعت پس از آزمایش نشان داد که با اطمینان ۹۵ درصد بین تیمارها اختلاف معنی داری وجود داشت. در مورد اثر غلظت‌ها، F محاسبه شده از جدول در سطح احتمال آماری ۹۵ درصد، بزرگ‌تر بوده و P (احتمال) کوچکتر از ۰/۰۵ بود (شکل ۳).

گروه‌بندی میانگین تیمارها

گروه‌بندی میانگین درصد تلفات تیمارها نشان داد تیمار مخلوط دو عامل در هر سه سن لاروی نسبت به تأثیر تک تک تیمارها، اثر سینرژیستی داشت (شکل‌های ۱ تا ۳).



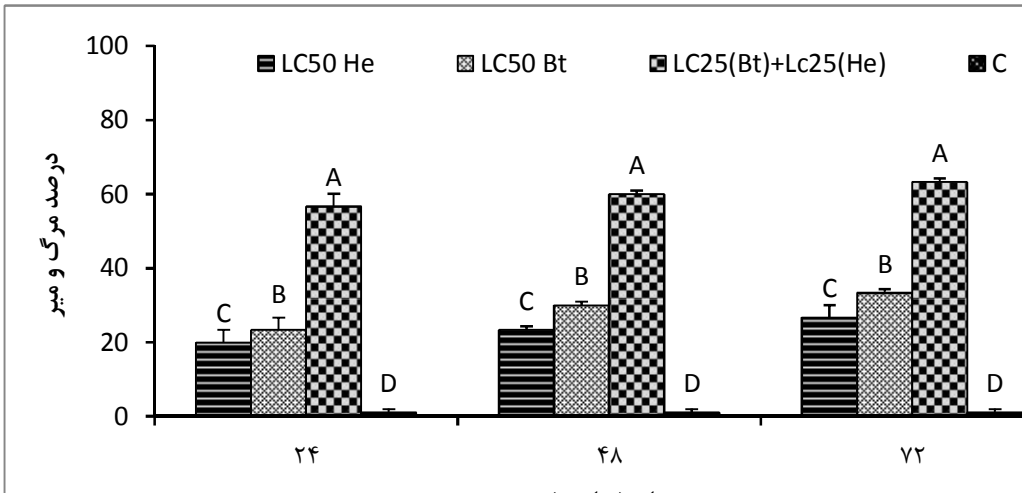
شکل ۱. نمودار مقایسه میانگین درصد مرگ ومیر حاصل از تیمارهای مختلف در هر یک از زمان‌های مورد بررسی روی لارو سن یک شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی (مقایسه میانگین باآزمون توکی و حروف مشابه در نمودار در سطح احتمال آماری ۰/۰۵ اختلاف معنی داری ندارند). He: حنا، *Bt*: باکتری، C: کنترل



شکل ۲. نمودار مقایسه میانگین درصد مرگ و میر حاصل از تیمارهای مختلف در هر یک از زمان‌های مورد بررسی روی لارو سن دو شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی (مقایسه میانگین باآزمون توکی و حروف مشابه در نمودار در سطح احتمال آماری ۰/۰۵ اختلاف معنی داری ندارند). He: حنا، *Bt*: باکتری، C: کنترل

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳. نمودار مقایسه میانگین درصد مرگ و میر حاصل از تیمارهای مختلف در هر یک از زمان‌های مورد بررسی روی لارو سن سه شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی (مقایسه میانگین باآزمون توکی و حروف مشابه در نمودار در سطح احتمال آماری ۰/۰۵ اختلاف معنی داری ندارند). He: حنا، *Bt*: باکتری، C: کنترل

بحث

براساس نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر، بیشترین تلفات روی لارو سن یک شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی در برابر *B. thuringiensis*، بعد از ۷۲ ساعت ایجاد شد. نتایج نشان داد میزان تلفات با گذشت زمان افزایش یافت. ژائو و همکاران[1] در سال ۱۹۹۸، در روی *Helicoverpa armigera* Hübner و منگ و همکاران[2] در سال ۲۰۰۳، وو و همکاران[3] در سال ۲۰۰۳ روی بید کلم *Pieris brasicae* L. باکتری *B. thuringiensis* را به صورت آزمایشگاهی و صحرایی به کار بردند و نتایج آن‌ها نشان داد که باکتری جمعیت لاروهای سن اول آفت را به طور معنی داری کاهش داد. همچنین در بررسی تاثیر باکتری *B. thuringiensis* روی لاروهای سنین مختلف *T. absoluta* لاروهای سن اول حساسیت بالاتری نسبت به سنین دیگر داشتند (گنزالز-کابررا و همکاران، ۲۰۱۱). در ارزیابی میزان حساسیت سنین مختلف شب‌پره‌ی مینوز گوجه فرنگی به باکتری توسط دیگر محققین نیز، سن اول لاروی نسبت به این ترکیب بیولوژیک حساس تر بود (راسل و همکاران[4]، ۲۰۰۰). بر اساس نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر، بیشترین تلفات روی لارو سن یک شب پره‌ی مینوز گوجه فرنگی در برابر *B. thuringiensis* بعد از ۷۲ ساعت ایجاد شده است نتایج نشان داد میزان تلفات با گذشت زمان افزایش یافت. مولا و همکاران[5] (۲۰۱۱) نیز در بررسی‌های خود به این نتیجه رسیدند که لارو سن اول شب‌پره‌ی مینوز گوجه‌فرنگی نسبت به باکتری *B. thuringiensis* بسیارحساس بودکه با نتایج بررسی حاضر مطابقت نشان می دهد. شولر و همکاران[6] در سال ۲۰۰۴ اظهار داشتند سمیت باکتری *B. thuringiensis* در روی (Say) در روی لاروهای سن سوم *Leptinotarsa decemlineata* با گذشت زمان

1. Zhao *et al.*,
2. Meng *et al.*,
3. Wu *et al.*,

4- Rausell *et al.*,
5- Molla *et al.*,
6- Schuler *et al.*,

www.SID.ir

Archive of SID

افزایش یافت که این روند افزایش تلفات با گذشت زمان، با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. تحقیقات تابشناک و همکاران[1] در سال ۲۰۰۲ در روی لاروهای سن دوم کرم سرخ پنبه *Pectinophora gossypiell* (Saunders) نشان دادند که میزان تلفات با افزایش غلظت *B. thuringiensis* افزایش می‌یابد که نتایج تحقیق حاضر با نتایج پژوهشگران مذکور مطابقت دارد.

با توجه به نتایج محققین، حشره‌کش‌های سازگار با محیط زیست با منشاء بیولوژیکی و گیاهی به علت کارایی زیاد روی بال‌پولک‌داران آفت و ایمنی نسبتاً بالا برای پستانداران و دشمنان طبیعی می‌توانند جایگزین سموم شیمیایی گردند و با به‌کارگیری صحیح در اختلاط با هم و در مدیریت تلفیقی با باکتری *B. thuringiensis* موجب افزایش تاثیر شوند (برنایس و همکاران[2]، ۱۹۸۰).

نتایج حاصل از تاثیر تیمارهای مختلف مورد آزمایش بر روی لاروهای سنین اول تا سوم شب‌پره‌ی مینوز گوجه-فرنگی نشان داد که مرگ و میر حاصل از اختلاط باکتری *B. thuringiensis* و پودر حنا بیشتر از تلفات حاصل از تاثیر هر یک از آن‌ها به تنهایی بود. نتایج بررسی تاثیر ترکیب باکتری *B. thuringiensis* و پودر حنا روی لاروهای سن سوم پروانه‌ی سفیده‌ی بزرگ کلم *Pieris brassicae* L. نشان داد درصد مرگ و میر حاصل از اختلاط LC_{25} پودر حنا و LC_{25} باکتری *B. thuringiensis* بیشتر از تلفات حاصل از LC_{50} پودر حنا و LC_{50} باکتری به تنهایی بود (صلاحی، ۱۳۹۱). پودر حنا به دلیل داشتن مقدار زیادی از تانن‌ها سبب بروز حالت افزایشی در اختلاط با باکتری *B. thuringiensis* می‌شود، زیرا تانن‌های موجود در پودر حنا می‌توانند باعث بروز زخم‌های ریزی در سلول‌های اپیتلیوم روده‌ی میانی حشرات شوند. این وضعیت سبب می‌شود که اسپورهای رشد کرده درون معده به مقدار بیشتری وارد حفره‌ی عمومی بدن شده و تلفات لاروها را در اثر پدیده‌ی عفونت عمومی افزایش دهد (نامور و همکاران، ۱۳۸۲). همچنین تیمارهای باکتری و پودر حنا که به تنهایی اعمال شده‌اند با یکدیگر دارای اختلاف معنی‌داری بودند، این نتیجه می‌تواند به این دلیل باشد که پودر حنا به تنهایی تاثیر بسیار ناچیزی در کشندگی لاروها داشته است (صلاحی، ۱۳۹۱). قاسمی کهریزه و همکاران در سال ۱۳۸۳ تاثیر توأم پودر حنا و باکتری *B. thuringiensis* تحت عنوان جاکپاد ب.اف.سی[3] را روی لاروهای سن سوم سوسک کلرادوی سیب‌زمینی بررسی کردند نتایج حاصله نشان‌دهنده‌ی اثر تشدیدکنندگی پودر حنا بود. نامور و همکاران در سال ۱۳۸۲در جهت افزایش هر چه بیشتر کارایی باکتری *B. thuringiensis*، اثر تشدیدکنندگی ترکیب شیمیایی کاربراندوم و پودر حنا را در اختلاط با *B. thuringiensis* به طور جداگانه روی لاروهای سن سوم آفت *Spodoptera exigua* Hubner مورد بررسی قرار دادند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان‌دهنده‌ی اثر فزاینده‌ی مخلوط‌های فوق در مرگ و میر لاروها بود. به-طوری‌که تلفات لاروها پس از گذشت ۲۴ ساعت، از ۱۸ درصد در تیمار ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام باکتری، به ۸۲/۵ درصد در اثر مخلوط باکتری با کاربراندوم و ۹۰ درصد در اثر مخلوط کاربراندوم به اضافه پودر حنا و باکتری *B. thuringiensis* افزایش پیدا کرد. از طرفی دوره‌ی کمون باکتری در حالت مخلوط با پودر حنا و کاربراندوم به کمترین مقدار خود یعنی کمتر از سه روز کاهش پیدا کرد.

بنابراین، با توجه به گران قیمت بودن باکتری *B. thuringiensis* و فرآورده‌های تجاری آن می‌توان این ترکیبات بیولوژیک را همراه ترکیبات امن و بی‌خطر نظیر

1- Tabashnik *et al.,*
2- Bernays *et al.*
3- Jacpat. B. F.C

www.SID.ir

Archive of SID

حنا و سایر ترکیبات به کار برد و موجب افزایش تاثیر و کاهش در میزان مصرف آن‌ها گردید.

نتیجه‌گیری

کاربرد مکرر حشره‌کش‌ها همیشه خطر باقی‌مانده سموم را به همراه دارد. بنابراین می‌توان بر روی گوجه-فرنگی که مصرف تازه‌خوری دارد، از حشره‌کش‌های بیولوژیک که خطر کمتری برای مصرف‌کنندگان دارد، استفاده کرد. اما این ترکیبات سمیت اولیه پایینی داشته و نمی‌توان انتظار داشت که کنترل سریع صورت بگیرد. به همین منظور برای افزایش اثر حشره‌کش‌هایی نظیر *B. thuringiensis*، می‌توان آن‌ها را با مواد تشدیدکننده‌ای مانند حنا که ارزان و تولید داخل و بی ضرر برای محیط و گیاهان است مخلوط نمود و باعث افزایش اثر کشندگی و نیز کاهش مقدار سم مصرفی شد.

منابع

۱. آینه‌چی، ی. ۱۳۶۵. مفردات پزشکی و گیاهان دارویی ایران. انتشارات دانشگاه تهران. ۱۱۸۷ ص.

۲. صفوی، س. ا. و صفوی، س. م. ۱۳۹۰. شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی (شکل‌شناسی، زیست‌شناسی، روش‌های ردیابی و مدیریت). انتشارات خروش تهران. چاپ اول، ۹۶ ص.

۳. صلاحی، ف. ۱۳۹۱. بررسی اثرات متقابل چند عامل با منشا طبیعی در اختلاط با باکتری *Bacillus thuringiensis* علیه سفیده‌ی بزرگ کلم (*Pieris brassicae* L.). پایان نامه کارشناسی ارشد حشره‌شناسی. دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه مراغه. ش ۱۹، ۱۰۱ ص.

۴. قاسمی کهریزه، ا، صفرعلیزاده، م. ح. و پورمیرزا، ع. ا. ۱۳۸۳. تاثیر باکتری *B. thuringiensis* var. *kurstaki* روی سنین مختلف لاروی سوسک کلرادوی سیب‌زمینی *Leptinotarsa decemlineata* و نقش سینرژیست حنا درافزایش کارایی آن. مجله علوم کشاورزی ایران، ۳۴ (۳): ۵۴۷-۵۳۹.

۵. مراد اسحاقی، ج. و پورمیرزا، ع. ا. ۱۳۵۳. بررسی مقاومت سنین مختلف لارو شب‌پره هندی *Plodia interpunctella* در برابر حشره کش میکروبی *Bacillus thuringiensis*. نامه انجمن حشره شناسان ایران، ۲ (۱) : ۲۵-۳۴.

۶. معینی نقده، ا. ۱۳۸۲. بررسی حساسیت مراحل مختلف شب پره‌ی مینوز گوجه فرنگی (Meyrick) (Lep., Gelechiidae) *Tuta absoluta* به چند حشره‌کش شیمیایی و بیورشنال. پایان نامه کارشناسی ارشد حشره‌شناسی. دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه رازی. ۱۱۶ ص.

۷. نامور، پ، صفرعلیزاده، م . ح. و پورمیرزا، ع. ا. ۱۳۸۲. بررسی اثر سیزژیستی کاربراندوم و مخلوط پودر حنا و کاربراندوم با *B.t*. روی لاروهای سن سوم برگخوار چغندر قند *Spodoptera exigua* Hubner. مجله علمی پژوهشی علوم کشاورزی ، ۹ (۱): ۵۳ – ۶۲.

www.SID.ir

Archive of SID

8. Baldin, E. L., Vendramim, J. D., and Lourencao, A. L. 2007. Interaction between resistant tomato genotypes and plant extracts on *Bemisia tabaci* (GENN.) biotype B. Journal of Agricultural and Science, 64 (5): 476-481.

9. Bernays, E. A., Chamberlain, D., and McCarthy, P. 1980. The differential effects of ingested tannic acid on different species of Acridoidea. Entomological Experimental et Applicata, 28: 158-166.

10. Bhandari, K., Sood, P., Mehta, P.K., Choudhary, A., and Prabhakar, C.S. 2009. Integrative model for binding of *Bacillus thuringiensis* toxins in susceptible and resistant larvae of the *Plutella xylostella* (Lep. Plutellidae). Journal of Agricultural and Science, 35: 1413-1419.

11. Caltagrone L.E., Getz W., and Meals, D.W. 1983. Head capsule width as an index of age in larvae of navel orange worm, *Amyelois transitella* (Lepidoptera: Pyralidae). Environmental Entomology, 12: 219-221.

12. Desneux, N., E. Wajnberg, K.A. Wyckhuys, G. Burgio, S. Arpaia, C.A. Narvaez-Vasquez, J. GonzalezCabrera, D.C. Ruescas, E. Tabone, and J. Vasquez. 2010. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control. Journal of Pest Science, 83: 197-215.

13. Garzia, T.G., Siscaro, G., Biondi, A., and Zappala, L. 2011.Distribution and damage of *Tuta absoluta*, an exotic invasive pest from South America. In: International symposium on management of *Tuta absoluta* (Tomato borer) Proceeding. Agadir, Morocco, November, 16-18.

14. Gonzalez-Cabrera, J., Molla, O., Monton, H., and Urbaneja, A. 2011. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) in controlling the tomato borer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). International Organization of Biological Control (IOBC), 56: 71-80.

15. Khadir, A.A., Gaffar, S. A., Maha, S, Nada, Taman, A.A. and Fathia, A, S. 2013. New approaches for controlling tomato leaf miner in tomato fields in Egypt. Egyptian Journal of Agricultural Research, 91 (1), 335-348.

16. Meng, F.X., Shen, J.L. and Zhu, Z.P. 2003. Temporal- spatial variation in efficacy of *B. thuringiensis* cotton leaves against *Helicoverpa armigera* (Hubner) and effect of weather conditions. Acta Entomologica Sinica, 46: 299-304.

17. Mladenova, R., and Shtereva, D. 2009.Pesticide residues in apples grown under a conventional and integrated pest management system. Journal Food Additives and Contaminats-Part A: Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment, 26: 854-858.

www.SID.ir

Archive of SID

18. Molla, O., Gonzalez-Cabrera, J., and Urbaneja, A. 2011.The combined use of *Bacillus thuringiensis* and *Nesidio coristenuis* against the tomato borer *Tuta absoluta*. Bio-Control, 56: 883-891.

19. Rausell, C.,Martı´nez-Ramı´rez, A.C., Garcı´a-Robles, I., and Real, M.D. 2000. A binding site for *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin is lost during larval development in two forest pests. Applied and Environmental Microbiology, 66: 1553–1558.

20. Sannino, L., and Espinosa, B. 2010. *Tuta absoluta*. Guidaalla conoscenza e recenti acquisizioni per unacorretta, Verona, Italy, L'Informatore Agrario 66(46) Supplement 1: 1-113.

21. Sayed, A.H., Haward, R., Herrero, S., Ferre, J., and Wright, D.J. 2000. Genetic and biochemical approach for characterization of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxin Cry 1Ac in a field population of the diamond back moth, *Plutella xylostella*. Applied and Environmental Microbiology, 66:1509-1516.

22. Schuler, T.H., Denholm, I., Clark, S.J., Stewart, C.N., and Poppy, G.M. 2004. Effects of *Bacillus thuringiensis* plants on the development and survival of the parasitoid *Cotesia plutellae* (Hymenoptera: Braconidae) in susceptible and *Bacillus thuringiensis* resistant larvae of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). Journal of Insect Physiology, 50: 435-443.

23. Tabashnik, B.E., Dennehy, T.J., Sims, M.A., Larkin, K., Head, G.P., Moar, W.J., and Carriere, Y. 2002. Control of resistant pink bollworm (*Pectinophora gossypiella*) by transgenic cotton that produces *Bacillus thuringiensis* toxin Cry2Ab. Applied and Environmental Microbiology, 68: 3790-3794.

24. Wu, K., Guo, Y., Lv, N., Greenplate, JT., and Deaton, R. 2003. Efficacy of transgenic cotton containing a Cry1Ac gene from *Bacillus thuringiensis* against *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in northern China. Journal of Economic Entomology, 96: 1322–1328.

25. Zhao, J.Z., Zhao, K.J., Lu, M.G., Fan, X.L., and Guo, S.D. 1998. Interaction between transgenic *Bacillus thuringiensis* cotton and *Helicoverpa armigera* in North China. Scientia Agricultural Sinica, 31: 1-6.

www.SID.ir