

آفات و بیماری‌های گیاهی

جلد ۸۴، شماره ۲، اسفند ۱۳۹۵

ارزیابی آزمایشگاهی و میدانی *Bacillus thuringiensis* روی کرم جوانه خوار مرکبات *Archips rosanus* در استان مازندرانرحیمه پیروز^۱، محمد رضا دماوندیان^۲✉ و بهنام امیری بشلی^۲

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد؛ ۲- دانشیار؛ گروه گیاهپزشکی، دانشکده علوم زراعی،

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

(تاریخ دریافت: مرداد ۱۳۹۵؛ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۵)

چکیده

پروانه جوانه‌خوار *Archips rosanus* Linnaeus از آفات پلی‌فاژ در حال گسترش در باغ‌های مرکبات غرب استان مازندران می‌باشد. در این تحقیق اثر باکتری *Bacillus thuringiensis* Berliner subsp *kurstaki* روی مراحل مختلف لاروی کرم جوانه‌خوار مرکبات *Archips rosanus* مورد بررسی قرار گرفت. برای انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی در شرایط آزمایشگاهی از روش غوطه‌ورسازی (Dipping method) استفاده شد. LC₅₀ و LC₉₀ باکتری Bt برای لاروهای سن اول و مجموع سن دوم و سوم لاروی به ترتیب ۴۴۸۰، ۹۰۱۰ و ۴۴۶۰، ۱۹۰۴۰ پی‌پی‌ام به دست آمد. آزمایش‌های گلدانی روی نهال‌های دو ساله رقم پرتقال واشنگتن ناول *Citrus sinensis* (L) Osbeck. Var *novel* با ۵ تیمار و آب یونیزه به عنوان شاهد و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. پس از تجزیه و تحلیل داده‌ها، LC₅₀ و LC₉₀ این باکتری برای لاروهای سن اول و دوم *A. rosanus* ۹۶ ساعت پس از تیمار به ترتیب ۲۱۳۰، ۱۳۷۹۰ و ۱۶۸۴۰ پی‌پی‌ام محاسبه شد. مناسب‌ترین محدوده غلظت Bt جهت کنترل لاروهای سن اول و دوم به ترتیب ۶۳۵، ۴۵۴۰ و ۲۵۶ پی‌پی‌ام برآورد گردید. آزمایش میدانی در قطعه‌ای ۳۰۰۰ متر مربعی از یک باغ ۳۰ هکتاری انجام شد. در این آزمایش ۴ تیمار حشره‌کش مالاتیون (EC=۰.۵۷) (۲ در هزار)، باکتری *B. thuringiensis* (۰.۵ درصد)، (۱ درصد) و آب‌پاشی به عنوان شاهد با یکدیگر مقایسه شدند. میانگین تعداد لاروهای زنده *A. rosanus* روی واحدهای نمونه‌برداری در سال اول اختلاف معنی‌داری نداشته اما در سال دوم در درختان شاهد، *B. thuringiensis* (۰.۵ درصد)، (۱ درصد) و مالاتیون ۷ روز بعد از تیمار به ترتیب ۵/۴۶۶a، ۲/۴c، ۴/۴ab و ۳/۲۶۶bc بودند. نتایج به صورت کلی نشان داد که حشره‌کش میکروبی Bt قابلیت کشندگی مناسبی برای لاروهای آفت مذکور در شرایط باغی دارد. واژه‌های کلیدی: باغ مرکبات، *Bacillus thuringiensis*، *Archips rosanus*، زیست‌سنجی.

Laboratory and field evaluation of *Bacillus thuringiensis* for the control of *Archips rosanus* in Mazandaran provinceR. PIROUZ¹, M. R. DAMAVANDIAN²✉ and B. AMIRI BESHELI²

1- Graduated student; 2- Associate Professor; Department of Plant Protection, Faculty of Cultural Science, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

Abstract

In this study, the effects of *Bacillus thuringiensis* Berliner subsp *kurstaki* on the larval stages of *Archips rosanus* Linnaeus was investigated. Dipping method was used for bioassay *in vitro* LC₅₀ and LC₉₀ of the first and, the sum of second and third larval instars were shown to be 4480, 9010 and 4460 19040 ppm, respectively. A semi-field experiment on the two-year Washington navel (*Citrus sinensis*(L) Osbeck. Var *novel*) plants with 5 treatments and water as the control was conducted in a completely randomized design. After data analysis, LC₅₀ and LC₉₀ of the first and the second instars larvae of *A. rosanus* 96 hours after treatment were 2130, 13790 and 2840, 16840 ppm, respectively. The most suitable range of Bt concentration for controlling the first and second instars larvae was calculated 635, 4540 and 256, 5190 ppm, respectively. The field experiment was conducted in 3,000 m² orchard of 30 hectares. In this experiment, four treatments namely, Malathion (2000 ppm), *B. thuringiensis* (0.5 and 1 percent) and water as a control compared with each other. The average number of alive larvae of *A. rosanus* on sample units trees in the first year had no significant difference, but in the second year on the trees for the control, *B. thuringiensis* (0.5, 1 percent) and Malathion 7 days after treatment, were 5.466a, 2.4c, 4.4ab and 3.266bc, respectively. Overall results showed that microbial insecticide Bt has killing efficiency for the larvae in the orchards.

Key words: *Archips rosanus*, *Bacillus thuringiensis*, Bioassay, Citrus orchard.

✉ Corresponding author: m.r.damavandian@gmail.com

مقدمه

ویژه‌ای پیدا می‌کند. به طور کلی کنترل میکروبی نسبت به کنترل شیمیایی سالم‌تر و ایمن‌تر است، ضمن اینکه ترکیب میکروبی در زنجیره غذایی جمع و ذخیره نمی‌شود (Shikano and Cory, 2014). عوامل کنترل میکروبی از دوام بیشتری برخوردار بوده و در نهایت اثر کمتری بر تعادل اکولوژیکی محیط زیست می‌گذارند و اغلب با سایر روش‌های کنترل سازگار می‌باشند (Vatandoost, 2013). باکتری *B. thuringiensis* مجموعه‌ای از زیرگونه‌ها و صدها جدایه است که توانایی زیادی در تولید سم دارند و میزبان‌های مختلفی را تحت تاثیر قرار می‌دهند (Talaei-Hassanloei et al., 2014). علی‌نیازی (AliNiizee, 1974) تاثیر دو فرمولاسیون پودر قابل پخش در آب و گرد Bt را علیه لاروهای سن اول *A. rosanus* مورد بررسی قرار داد. حساسیت مراحل لاروی و شفیرگی پروانه برگ‌خوار چغندر قند *Spodoptera exigua* Hubner به باکتری *B. thuringiensis* var. *kurstaki* در شرایط آزمایشگاهی سنجیده شده است (Aramideh et al., 2006). همچنین اثر کشندگی سویه‌های *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* و *B. thuringiensis* var. *kurstaki* روی لاروهای سن اول *Spodoptera frugiperda* Smith بررسی شده است (Knaak et al., 2010). تاثیر آزادی‌راختین و باکتری *B. thuringiensis* var. *kurstaki* و اثرات متقابل آن‌ها روی لارو سن دوم کرم غوزه پنبه *Helicoverpa armigera* Hubner نیز بررسی شده است (Abedi et al., 2011). تاثیر باکتری *B. thuringiensis* var. *kurstaki* علیه لاروهای سن دوم کرم برگ‌خوار چغندر قند *Spodoptera exigua* نیز مطالعه شده است (Banna et al., 2012).

در این تحقیق اثر میزان کشندگی غلظت‌های مختلف حشره‌کش زیستی *B. thuringiensis* subsp *kurstaki* روی لاروهای سن اول، دوم و سوم آفت *A. rosanus* در شرایط آزمایشگاه، لاروهای سن اول و دوم روی نهال در گلخانه، تعیین دز کشنده ۵۰ و ۹۰ درصدی روی مراحل لاروی و میزان تاثیر آن روی لاروهای سنین مختلف در شرایط باغ

پروانه جوانه‌خوار *Archips rosanus* (Linnaeus) (Lep.: Tortricidae) از جمله آفات همه چیزخوار بوده که در باغ‌های مرکبات غرب استان مازندران در حال گسترش می‌باشد (Mafi Pashakolaee et al., 2014). این جنس به سبب تعداد زیاد گونه‌های خسارت‌زا و فراوانی آن در کشت‌های مختلف نقش مهمی در گیاه‌پزشکی ایفا می‌کند (Aydogdu, 2014; Gu et al., 2014). مشاهدات انجام شده در سال‌های اخیر نشان داده است که جمعیت و اهمیت اقتصادی این آفت در حال افزایش است به طوری‌که اغلب استفاده از کنترل شیمیایی را ضروری می‌سازد (Kot, 2007). علی‌رغم افزایش مصرف آفت‌کش‌های مصنوعی به میزان ۱۰ برابر تا سال ۱۹۸۹ محصول بیشتری توسط حشرات از بین رفت که این معضل به عوامل گوناگونی، مثل از بین رفتن دشمنان طبیعی، به وجود آمدن مقاومت و رعایت نکردن اصول بهداشتی نسبت داده شد (Damavandian, 2007).

آینده کشاورزی پایدار تا حد زیادی به تلفیق بیوتکنولوژی و روش‌های رایج در کشاورزی سنتی بستگی دارد (Karaca et al., 2010). کنترل پایدار و مبتنی بر حفاظت از محیط زیست به کمک عوامل کنترل زیستی قابل دسترس است چرا که منجر به کاهش استفاده از مواد شیمیایی و باقیمانده آنها در محیط زیست و زنجیره غذایی می‌شود. شناسایی و کاربرد میکروارگانیسم‌ها و فرآورده‌های میکروبی جهت کنترل بیماری‌ها و آفات که با هدف افزایش محصول صورت می‌گیرد، از اجزای مهم و جدانشدنی کشاورزی پایدار است (Mohamed Haggag and Mohamed, 2007) و همچنین حشره‌کش‌های میکروبی به عنوان سنگ بنای سیستم مدیریت تلفیقی آفات محسوب می‌شوند (Aslam Khan, 2012). با توجه به محدودیت کاربرد روش‌های شیمیایی، استفاده از روش‌های مبارزه سالم و کم‌خطر برای محیط زیست و دشمنان طبیعی ضروری به نظر می‌رسد. لذا کاربرد ترکیبات بیولوژیک نظیر حشره‌کش میکروبی *Bacillus thuringiensis* Berliner اهمیت

سلسیوس، رطوبت نسبی 60 ± 5 درصد)، آزمایشات مقدماتی انجام شد. پس از تعیین محدوده غلظت‌ها، آزمایش‌های نهایی با هفت تیمار در محدوده غلظت‌های حداقل و حداکثر و تیمار شاهد انجام شد. تجزیه پروبیت داده‌های آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار P/PROBAN انجام شد (Van Arc, 1983). درصد مرگ و میر کلیه تیمارها برآورد شده و با توجه به درصد مرگ‌ومیر محاسبه شده شاهد با فرمول ابوت تصحیح شد (Finney, 1971).

زیست‌سنجی به شیوه غوطه‌ورسازی: آزمایش‌ها برای سنین لاروی اول، دوم و سوم به طور جداگانه انجام شدند. به این ترتیب که برای لارو سن اول، برای هر تیمار ۲ عدد جوانه برگ درخت مرکبات در نظر گرفته شد. برگ‌ها داخل هر تیمار (غلظت‌های بین ۲۰۰۰ تا ۱۴۰۰۰ پی‌پی‌ام) به مدت ۳۰ ثانیه غوطه‌ور و سپس داخل ظروف پتری قرار گرفتند. پس از خشک شدن برگ‌ها به کمک یک قلم‌موی ظریف تعداد ۵ عدد لارو در هر ظرف پتری رهاسازی شد. تیمارها دارای ۱۰ تکرار بودند و در مجموع واکنش ۳۰۰ لارو سن ۱ مورد بررسی قرار گرفت. زیست‌سنجی لاروهای سنین دوم و سوم مانند آزمایش بالا بود، با این تفاوت که در هر ظرف پتری یک عدد لارو سن دوم و یک عدد لارو سن سوم رهاسازی شد. این آزمایش‌ها شامل ۵ تکرار بودند و در مجموع واکنش ۷۰ لارو بررسی شد. سپس ظروف پتری به اتاقک رشد در دمای 26 ± 1 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 60 ± 5 درصد و ۱۲ ساعت روشنایی و تاریکی منتقل و نگهداری شدند. تعداد لاروهای مرده و زنده با گذشت، ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ روز از زمان تیمار شمارش و ثبت شدند. معیار مرگ لاروها تغییر رنگ و عدم حرکت بود.

زیست‌سنجی لاروهای سن اول و دوم با استفاده از نهال‌های مرکبات: به منظور بررسی اثرات کشندگی غلظت‌های مختلف حشره‌کش میکروبی Bt روی لاروهای سنین اول و دوم *A. rosanus* بر روی نهال‌های دو ساله رقم واشنگتن ناول دو آزمایش به صورت جداگانه و هر کدام با ۵

پرتقال واشنگتن ناول ارزیابی شده است.

روش بررسی

محل اجرای تحقیق: این تحقیق در مجتمع کشاورزی بوستان واقع در روستای مقری کلا از توابع شهرستان بابلسر صورت گرفت. کل مساحت باغ ۳۰ هکتار بود و آزمایش در زمینی به مساحت ۳۰۰۰ متر مربع از باغ مورد استفاده قرار گرفت. درختان باغ همگی از واریته واشنگتن ناول *Citrus sinensis* (L) Osbeck. Var novel بودند. بررسی‌های آزمایشگاهی در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد.

پرورش لاروهای *A. rosanus* به منظور انجام زیست

سنجی‌ها: اواخر زمستان توده‌های تخم *A. rosanus* از روی تنه درخت مرکبات روستای مقری کلا بابل جمع‌آوری و به آزمایشگاه انتقال داده شد و داخل یخچال در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند. اوایل فروردین تخم‌ها از داخل یخچال به محیط آزمایشگاه منتقل شدند. پس از خروج لاروهای سن اول از تخم، این حشرات به منظور زیست‌سنجی مورد استفاده قرار گرفتند. همچنین لاروهای سن اول آفت به ظروف پتری حاوی جوانه‌های تازه مرکبات در محیط آزمایشگاه (26 ± 1 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 60 ± 5 درصد و ۱۲ ساعت روشنایی) منتقل شده و روزانه بازدید شد. پس از پوست‌اندازی لاروهای سن اول، لاروهای سن دوم و سپس لاروهای سن سوم برای انجام زیست‌سنجی استفاده شد.

آزمایش‌های زیست‌سنجی:

آزمایش‌های مقدماتی زیست‌سنجی و تعیین محدوده

غلظت‌ها: آزمایش زیست‌سنجی لاروها به شیوه غوطه‌ورسازی (Dipping method) و روی نهال‌های دو ساله واشنگتن ناول انجام گرفت. جهت تعیین غلظت‌های موثر حشره‌کش Bt روی لاروهای سن اول، دوم و سوم جوانه خوار *A. rosanus* در شرایط آزمایشگاهی (26 ± 1 درجه

تیمار و آب به عنوان شاهد انجام شد. قبل از انجام آزمایش، نهال‌ها از لحاظ وجود هر گونه آفت بررسی و از سالم بودن آنها اطمینان حاصل شد. برای هر نهال ۲۰۰ میلی‌لیتر از غلظت تهیه شده استفاده شد. بعد از اجرای هر تیمار داخل سمپاش و نازل به‌طور کامل با آب شسته شد و سپس تیمار بعدی اجرا گردید. لازم به ذکر است سمپاش از نوع پشتی و ۵ لیتری بود (با فشار پاشش ۱ بار بر اینچ مربع). پس از گذشت یک ساعت و خشک شدن نهال‌ها ۵ شاخه از هر نهال از بقیه شاخه‌ها با اتیکت مشخص شد. بدلیل تحرک زیاد لارو این آفت و جهت جلوگیری از افتادن لارو روی شاخه‌های پایین‌تر، هر شاخه بوسیله صفحه کاغذی که در دور و زیر شاخه قرار می‌گرفت از شاخه‌های اطراف مجزا می‌شد به طوریکه لاروها نمی‌توانستند از آن محدوده خارج شوند. سپس ۱۰ عدد لارو سن یک آفت توسط قلم مو ظریف به آرامی برداشته و روی هر شاخه قرار داده شد. تعداد لاروهای مرده و زنده ۴۸، ۷۲، و ۹۶ ساعت پس از تیمار شمارش و ثبت شدند. معیار مرگ لاروها تغییر رنگ و عدم حرکت بود. قابل ذکر است که برای هر تیمار ۵۰ لارو بررسی شد.

آزمایش در شرایط باغ: این آزمایش در یک قطعه باغ مرکبات به مساحت ۳۰۰۰ متر مربع از یک باغ ۳۰ هکتاری انجام شد. قطعه باغ مورد نظر دارای ۲۰ ردیف و هر ردیف شامل ۳۰ درخت بود. درختان مورد آزمایش همگی رقم واشنگتن ناول و بیش از ۱۵ سال داشتند. در این آزمایش کارایی ۴ تیمار شامل حشره‌کش مالاتیون (۵۷٪ EC) به نسبت ۲ در هزار، باکتری *B. thuringiensis* subsp *kurstaki* به نسبت ۰/۵ درصد (۵۰۰۰ پی پی ام) و ۱ درصد (۱۰۰۰۰ پی پی ام) (حشره‌کش میکروبی Bt فرآورده داخلی بایولپ ساخت شرکت فناوری طبیعی زیستگرا که ماده مؤثر آن اسپور ^{۱۰} (۱۰ سلول/میلی لیتر) و کریستال به صورت فرمولاسیون مایع (EC) است) و تیمار شاهد آب‌پاشی، با یکدیگر مقایسه شدند. این آزمایش در دو سال انجام شد. در سال اول ۳ تیمار شامل Bt با غلظت یک درصد، مالاتیون به نسبت ۲ در هزار و

آب‌پاشی (شاهد) با ۵ تکرار (هر تکرار شامل یک ردیف که هر ردیف شامل ۳۰ درخت بود) بررسی شد. از هر ردیف سه درخت به‌طور تصادفی و در مجموع ۱۵ درخت برای هر تیمار انتخاب و بررسی شد. نمونه برداری‌ها یک روز قبل از محلول‌پاشی، ۷ و ۱۴ روز بعد از محلول‌پاشی انجام و داده‌ها ثبت شدند. چهار جوانه آلوده از چهار جهت جغرافیایی درخت برای نمونه‌برداری انتخاب شده و تعداد لاروهای زنده و مرده آن ثبت شدند. در سال دوم، آزمایش با دو غلظت از حشره‌کش میکروبی Bt (۵۰۰۰ و ۱۰۰۰۰ پی پی ام)، یک غلظت از حشره‌کش شیمیایی مالاتیون (۲۰۰۰ پی پی ام) و شاهد (آب‌پاشی) انجام شد. حداکثر ۴ روز پس از مشاهده اولین تفریح تخم‌ها محلول‌پاشی انجام شد. نمونه‌برداری‌ها یک روز قبل از تیمار، ۳، ۵، ۷، ۱۰، ۱۲ و ۱۴ روز بعد از محلول‌پاشی انجام شد. در سال دوم علاوه بر نمونه‌برداری از جوانه‌های آلوده، نمونه‌برداری از شاخه‌های ۵۰ سانتیمتری در ۲۱، ۲۹ و ۳۵ روز پس از اولین محلول‌پاشی صورت گرفت. نمونه‌برداری از چهار جهت جغرافیایی درختان مورد آزمایش (۳ درخت در هر ردیف)، چهار شاخه ۵۰ سانتیمتری به‌طور تصادفی انجام شد. جوانه‌های آلوده به آفت از شاخه جدا و تعداد لاروهای موجود در آن شمارش و ثبت شد. معیار مرگ لاروها تغییر رنگ و عدم حرکت بود.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌ها به کمک نرم افزار آماری SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه آماری میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتیجه و بحث

زیست‌سنجی آزمایشگاهی: نتایج زیست‌سنجی آزمایشگاهی حشره‌کش Bt روی لارو سن اول، دوم و سوم *A. rosanus* در جدول ۱ ارائه شده است. مرگ و میر لاروهای سن یک در اکثر تیمارها پس از گذشت ۴ روز بسیار زیاد بود و قابل تجزیه و تحلیل نبود، لذا از داده‌هایی استفاده شد که ۷۲ ساعت پس از محلول‌پاشی به دست آمدند. البته لازم به

غلظت مورد نیاز Bt برای مهار ۹۰ درصدی لاروهای سن ۳ و ۲ بیش از دو برابر لاروهای سن ۱ است. در واقع می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که لاروهای سن یک *A. rosanus* به باکتری ذکر شده حساس‌تر و مرگ و میرشان نیز بیشتر است.

زیست‌سنجی حشره‌کش *B. thuringiensis* روی نهال‌های آزمایشگاهی: با توجه به رفتارهای پرخاشگرانه لاروهای *A. rosanus* و از آنجائی که عدم تغذیه از جوانه‌های قرار داده شده در ظروف پتری منجر به کاهش دقت در محاسبه LC50 و LC90 شد، این بررسی روی نهال‌ها انجام شد تا شرایط طبیعی مناسب‌تری برای لاروها ایجاد شود. درصد مرگ و میر لاروهای سن اول و دوم کرم جوانه‌خوار تیمار شده با غلظت‌های مختلف Bt در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج نشان داد که پایین‌ترین غلظت به کار برده شده (۲۰۰۰ پی‌پی‌ام) نیز باعث مرگ و میر ۸/۸ و ۱۰ درصدی به ترتیب در لاروهای سن اول و دوم ۴۸ ساعت پس از تیمار شد. با افزایش غلظت و زمان، میزان مرگ‌ومیر نیز افزایش یافت. غلظت پایین و بالا (۲۰۰۰ و ۱۴۰۰۰ پی‌پی‌ام) ۹۶ ساعت بعد از تیمار برای لاروهای سن اول و دوم به ترتیب ۹۴/۱ و ۴۶/۱، ۸۱/۱ درصد تلفات را ایجاد نمودند. ۹۶ ساعت پس از تیمار و در نقطه پایان آزمایش به جز غلظت پایین سایر غلظت‌های به کار برده شده سبب مرگ و میر بالای ۵۰ درصد شد.

ذکر است که لاروهای سن یک *A. rosanus* به دلیل ظریف بودن و تحرک زیاد، هنگام جابجایی به خود آسیب می‌زدند، به طوری که لاروهای شاهد که هیچ‌گونه حشره‌کشی برای آنها مصرف نشد حدود ۳۰ درصد مرگ‌ومیر داشتند. بنابراین با توجه به سن کم و حساسیت آفت از یک‌سو و رفتار پرخاشگرانه آفت از سوی دیگر و علی‌رغم دقت بسیار زیاد در انجام آزمایش‌های مربوطه، امکان محاسبه محدوده میزان مصرف Bt وجود نداشت و خطای استاندارد مربوط به هر غلظت نیز بسیار بزرگ به دست آمد (جدول ۱).

برای لاروهای سنین دوم و سوم داده‌هایی که ۶ روز (۱۴۴ ساعت) پس از تیمار به دست آمدند، مؤید بیشترین اختلاف در میزان مرگ و میر لاروها بودند، بنابراین از آن داده‌ها برای تجزیه و تحلیل استفاده شد. همان‌طور که از جدول ۱ مشاهده می‌شود، تعیین محدوده میزان مصرف به دلایل ذکر شده همچنان قابل محاسبه نبود. مقدار LC₅₀ باکتری Bt برای لاروهای سن ۱ و مجموع سن ۲ و ۳ آفت مذکور به ترتیب ۴۴۸۰ و ۴۶۶۰ پی‌پی‌ام محاسبه شد. همان‌طور که مشخص است این دو عدد اختلاف چندانی با یکدیگر ندارند، اگرچه اندکی میزان غلظت Bt برای لاروهای سن ۲ و ۳ بیشتر شده است. در مقابل LC₉₀ باکتری فوق برای لاروهای سن ۱ و مجموع سن ۲ و ۳ آفت، به ترتیب ۹۰۱۰ و ۱۹۰۴۰ پی‌پی‌ام محاسبه گردید. همان‌طور که مشخص است

جدول ۱- نتایج زیست‌سنجی لاروهای سن اول، دوم و سوم *Archips rosanus* تیمار شده با غلظت‌های مختلف

حشره‌کش *Bacillus thuringiensis* در شرایط آزمایشگاهی

Table 1. The results of laboratory bioassay of L₁, L₂ and L₃ of *Archips rosanus* treated with the different concentrations of *Bacillus thuringiensis*

Larval stage	The used dose (ppm)	The predicted mortality (%)	(± SE)
L1 (3 days after treatment)	4480	50	11150
	9010	90	34030
	10290	95	41120
	12700	99	54550
	15400	99.9	69700
L2 and L3 (6 days after treatment)	4660	50	43470
	19040	90	271170
	23120	95	337830
	30760	99	463060
	39340	99.9	603610

همه لاروها در غلظت ۱۴۰۰۰ پی پی ام مرده بودند. همچنین با گذشت زمان میزان مرگومیر لاروهای سن دوم افزایش یافت، در نهایت LC₉₀ محاسبه شده از ۲۵۶۱۰ پی پی ام به ۱۶۸۴۰ پی پی ام کاهش یافت اگرچه کاهش LC₅₀ نسبت به LC₉₀ بیشتر بود. با افزایش سن لاروی میزان مقاومت به Bt نیز بیشتر شد و LC₉₀ از ۱۳۷۹۰ پی پی ام به ۱۶۸۴۰ پی پی ام افزایش یافت.

آزمایش‌ها در شرایط باغ: نتایج مقایسه میانگین‌های سه تیمار Bt، مالاتیون و شاهد در سال اول در سه زمان نمونه برداری در جدول ۴ ارائه شده است. با توجه به این نتایج تفاوت معنی داری از لحاظ آماری در بین تیمارها در هر سه زمان نمونه برداری مشاهده نشد. این نکته قابل ذکر است که در زمان انجام آزمایش در سال اول لاروهای سنین سه، چهار و بعضاً سن آخر مشاهده شد. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که تاثیر Bt در سال اول با گذشت زمان بیشتر شده است، به طوری که در ۱۴ روز بعد از تیمار بیشترین کشندگی را روی لاروها داشته است. همین روند نیز در تیمار آفتکش مالاتیون مشاهده شد.

نتایج مقایسه میانگین داده‌های سه تیمار Bt، مالاتیون و شاهد، در سال دوم در جدول ۵ نشان داده شده است. نتایج مقایسه میانگین ۳ روز بعد از تیمار نشان داد که B.t.۱٪ و مالاتیون از نظر تاثیر و کشندگی در بالاترین سطح بوده و بیشترین تاثیر را روی آفت دارند.

بین تیمارها ۷ روز بعد از تیمار اختلاف معنی داری از لحاظ آماری وجود داشت اما تیمارهای B.t.۱٪، B.t.۰/۵٪ و مالاتیون از نظر عملکرد یعنی ایجاد مرگومیر در لاروهای *A. rosanus* در یک سطح قرار گرفتند ($P \leq 0.05$) و تاثیر هر یک از آنها بر روی آفت یکسان است. مقایسه میانگین در جدول ۵ نشان داد که ۷ روز پس از تیمار، مالاتیون با اختلافی ناچیز، بیشترین تاثیر را در کنار B.t.۱٪ دارد. میزان تاثیر تیمار B.t.۰/۵٪ نیز اگرچه از تیمار B.t.۱٪ کمتر بوده اما از لحاظ آماری معنی دار نبود.

نتایج مقایسات میانگین تیمارها ۱۰ و ۱۲ روز پس از

مقایسه داده‌های حاصل از زیست‌سنجی لارو سن اول نشان داد که ۴۸ ساعت پس از تیمار، مرگومیر ایجاد شده توسط غلظت بالا به طور معنی داری بیشتر از سایر تیمارها بود. ۷۲ ساعت پس از تیمار مرگومیر ایجاد شده غلظت ۱۴۰۰۰ پی پی ام به طور معنی داری بالاتر از سه غلظت ۲۰۰۰، ۵۰۰۰ و ۸۰۰۰ پی پی ام بود. اما بین دو غلظت ۱۱۰۰۰ و ۱۴۰۰۰ پی پی ام اختلاف معنی داری وجود نداشت. ۷۲ ساعت پس از تیمار گرچه مرگومیر ایجاد شده توسط غلظت ۵۰۰۰ پی پی ام بالاتر از ۲۰۰۰ پی پی ام بود اما این تفاوت از لحاظ آماری معنی دار نبود ($P \geq 0.05$).

مقایسه میانگین داده‌های زیست‌سنجی برای لارو سن دوم (جدول ۲) نشان داد در هر سه زمان ثبت نتایج، مرگومیر ایجاد شده در غلظت بالا به طور معنی داری بیشتر از مرگومیر ایجاد شده توسط غلظت پایین حشره‌کش است. گرچه تلفات ایجاد شده در دو غلظت ۲۰۰۰ و ۵۰۰۰ پی پی ام در هر سه زمان ثبت نتایج با هم تفاوت عددی داشت اما این تفاوت از لحاظ آماری معنی دار نبود ($P \geq 0.05$). ۹۶ ساعت پس از تیمار، مرگومیر ایجاد شده در سه غلظت ۸۰۰۰، ۱۱۰۰۰ و ۱۴۰۰۰ پی پی ام گرچه از لحاظ عددی با یکدیگر تفاوت داشت اما از لحاظ آماری اختلاف معنی داری مشاهده نشد و هر سه در یک گروه قرار گرفتند اما با دو غلظت ۲۰۰۰ و ۵۰۰۰ پی پی ام از لحاظ آماری دارای اختلاف معنی دار بودند ($P \leq 0.05$).

مقادیر LC₅₀ و LC₉₀ لاروهای سن اول و دوم ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت پس از تیمار با Bt در جدول ۳ نشان داده شده است. همان‌طور که از جدول ۳ مشخص است، دقت آزمایش در شرایط استفاده از نهال بسیار بیشتر از شرایط استفاده از جوانه‌ها و ظروف پتری است، لذا امکان محاسبه غلظت‌های حداقل و حداکثر نیز فراهم شد. از سوی دیگر با گذشت زمان میزان مرگومیر نیز افزایش یافت، به طوری که با گذشت ۴ روز پس از مبارزه LC₉₀ در لاروهای سن اول از ۳۹۵۴۰ پی پی ام به ۱۳۷۹۰ پی پی ام کاهش یافت و روزهای بعد تقریباً

آفت به ازای هر تیمار نشان داد که کمترین تعداد لاروها در تیمار مالاتیون و بعد از آن در تیمار ۱٪ Bt بدست آمد. تجزیه واریانس در هر سه تاریخ نمونه برداری نشان داد که بین تیمارها از نظر آماری در سطح یک درصد اختلاف معنی داری وجود دارد ($p < 0/01$). نتایج مقایسه میانگین تیمارها در سه تاریخ نمونه برداری در جدول ۶ آورده شده است. همانطور که نتایج بدست آمده نشان می‌دهند، در هر سه تاریخ نمونه برداری بین تیمارهای مالاتیون و ۱٪ B.t از نظر تاثیر اختلاف معنی داری وجود نداشته و هر دوی این تیمارها از نظر تاثیر بر لاروهای آفت دارای بیشترین تاثیر بوده‌اند.

تیمار نشان می‌دهد که اختلاف معنی داری بین تیمارها وجود دارد اما این اختلاف بین Bt و مالاتیون با شاهد بوده و این دو حشره‌کش مورد نظر در یک سطح آماری قرار دارند و اختلاف معنی داری بین آن‌ها وجود ندارد. نتایج مقایسه میانگین ۱۴ روز پس از تیمار نشان داد که اختلاف معنی داری از لحاظ آماری بین تیمارها وجود داشت. به طوریکه، ۱٪ B.t بالاترین و بیشترین تاثیر را در کنترل آفت ۱۴ روز پس از تیمار داشته است و از نظر تاثیر ۵٪ B.t و مالاتیون در رده‌های بعدی قرار گرفتند. نتایج حاصل از نمونه برداری از شاخه‌های ۵۰ سانتی متری براساس مجموع تعداد لاروها

جدول ۲- میانگین درصد مرگ و میر (\pm خطای استاندارد) لاروهای سن اول و دوم *Archips rosanus* تیمار شده

با غلظت‌های مختلف حشره‌کش *Bacillus thuringiensis* در شرایط گلدانی

Table 2. The mean mortality percentage (\pm SE) of L₁, L₂ and L₃ of *Archips rosanus* treated with the different concentrations of *Bacillus thuringiensis*

Larval stage	Dose (ppm)	Mean mortality percentage (\pm SE)		
		48 (hr) after treatment	72 (hr) after treatment	96 (hr) after treatment
L1	2000	8.8 \pm 2.2a	18.2 \pm 5.3a	49.1 \pm 5.1a
	5000	13.3 \pm 4.1ab	31.07 \pm 6.01ab	61.06 \pm 4.8a
	8000	18.05 \pm 2.5bc	39.2 \pm 5.2b	74.7 \pm 5.04b
	11000	22.7 \pm 0.5c	48.9 \pm 9.2bc	83.09 \pm 3.01bc
	14000	31.6 \pm 3.8d	59.9 \pm 5.1c	94.1 \pm 3.6c
L2	2000	10 \pm 3.1a	22.8 \pm 7.1a	46.1 \pm 4.05a
	5000	14.2 \pm 3.9a	31.7 \pm 2.8a	55.2 \pm 6.5a
	8000	18 \pm 5.8ab	44.6 \pm 3.8b	72.2 \pm 5.4b
	11000	24.4 \pm 2.3bc	53.1 \pm 2.6bc	76.6 \pm 3.5b
	14000	30.4 \pm 4.2c	59.3 \pm 4.4c	81.1 \pm 3.2b

Mean with the same letters in mortality column are not significantly different

جدول ۳- مقادیر LC₅₀ و LC₉₀ محاسبه شده حشره‌کش *Bacillus thuringiensis* بر روی لاروهای سن اول و دوم *Archips rosanus*

Table 3. The LC50 and LC90 calculated for biopesticide, *Bacillus thuringiensis* on L₁ and L₂ of *Archips rosanus*

Larval stage	Time (hr) after treatment	LC50 (ppm) (95%CI)	LC90 (ppm) (95%CI)
L1	48	21120 (15140 – 101790)	39540 (25330 – 247370)
	72	11230 (9100 – 14980)	23390 (40490 – 18130)
	96	2130 (635 – 4540)	13790 (10380 – 28120)
L2	48	10370 (8330 – 13700)	25610 (19670 – 42710)
	72	2840 (256 – 5190)	16840 (13360 – 26200)
	96		

جدول ۴- نتایج مقایسه میانگین تعداد لاروهای زنده *Archips rosanus* در سه تیمار ۱٪ Bt، مالاتیون و شاهد با

آزمون چند دامنه‌ای دانکن در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری (سال اول)

Table 4. The mean comparisons of number of alive larvae of *Archips rosanus* at three treatments (1% Bt, malathion and control) by Duncan test at different sampling times (first year)

Treatment	Mean number of alive larvae (%mortality)	
	7d after treatment	14d after treatment
Control	2.068±0.03a (0)	0.332±0.001a (0)
Malathion	2.334±0.02a (32.99)	0.132±0.003a (53.14)
B.t	1.8±0.04a (17.59)	0.534±0.004a (35.20)

Mean with the same letters in mortality column are not significantly different

جدول ۵- نتایج مقایسه میانگین چهار تیمار ۱٪ Bt، ۰/۵٪ Bt، مالاتیون و شاهد با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در زمان‌های مختلف نمونه‌برداری (سال دوم)

Table 5. The mean comparisons of four treatments (1%Bt, 0.5% Bt, malathion and control) by Duncan test at different sampling times (second year)

Treatment	Mean number of alive larvae (%mortality)					
	After treatment					
	3	5	7	10	12	14
Control	6.066±0.07a (0)	6.334±0.05a (0)	5.466±0.05a (0)	6.734±0.07a (0)	6.8±0.06a (0)	8.866±0.05a (0)
Malathion	1.00±0.02c (82.69)	1.666±0.02b (72.39)	2.4±0.06c (53.9)	2.466±0.03b (61.56)	1.866±0.03b (71.2)	4.798±0.08b (26.64)
0.5% B.t	2.798±0.03b (56.78)	2.668±0.02b (60.52)	4.4±0.04ab (24.55)	3.132±0.03b (56.4)	2.536±0.04b (5.05)	5.4±0.04b (26.28)
1% B.t	2.534±0.02bc (56.15)	2.666±0.03b (55.82)	3.266±0.05bc (32.28)	2.134±0.02b (66.74)	2.202±0.05b (66.01)	3.4±0.04c (48.02)

Mean with the same letters in mortality column are not significantly different

جدول ۶- مقایسات میانگین چهار تیمار (۱٪ Bt، ۰/۵٪ Bt، مالاتیون و شاهد) با آزمون دانکن ۲۱، ۲۹ و ۳۵

روز پس از محلول‌پاشی (واحد نمونه برداری = شاخه ۵۰ سانتی‌متری)

Table 6. The mean comparisons of four treatments (1% Bt, 0.5% Bt, malathion and control) by Duncan test at sampling dates (21, 29 and 35 days after treatment) (sampling unit = 50 cm sprout)

Time (days) after treatment	Treatment	Mean
21	Control	25.60±3.5a
	0.5% B.t	18.798±1.7b
	1% B.t	11.132±2.3c
	Malathion	10.532±3.1c
29	Control	22.932±3.8a
	0.5% B.t	18.734±2.4a
	1% B.t	14.066±3.2b
	Malathion	9.932±1.9b
35	Control	14.466±2.5a
	0.5% B.t	10.2±3.1b
	1% B.t	6.066±2.2c
	Malathion	3.532±0.9c

تلفات بالای ۷۵ درصدی را در سنین ۱ و ۲ لاروی ایجاد نمودند. بالاترین غلظت حشره کش B.t (۲۰۰ گرم) روی *Hyphantria cunea* Durry ۱۰۰ درصد مرگ و میر را بعد از ۷ روز موجب شده است (Saruhan et al., 2014)، که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. میزان LC₅₀ روی لاروهای سن اول و دوم ۹۶ ساعت پس از تیمار به ترتیب ۲۱۳۰ و ۲۸۴۰

نتایج زیست‌سنجی Bt بیانگر این بود که لاروهای *A. rosanus* چنانچه در معرض آن قرار گیرند، به علت مسمومیت ایجاد شده از بین می‌روند که نتایج حاصله با گزارش‌های (Yezza and Tyagi 2006) در ارتباط با خاصیت حشره‌کشی Bt همخوانی دارد. دو غلظت ۱۱۰۰۰ و ۱۴۰۰۰ پی‌پی‌ام در شرایط گلدانی

درصد بوده (Khalil Arya et al., 1998)، در حالی که تاثیر Bt روی همان آفت در آذربایجان شرقی ۵۳ الی ۷۹ درصد گزارش شد (Mashhadi Jafarloo and Danyali, 1998). در بررسی‌های مختلفی اثر حشره‌کشی سویه‌های مختلف باکتری باسیلوس روی آفات به اثبات رسیده است. (Boulton 2003) اثر حشره‌کشی Bt سویه کورستاکی را روی ابریشم باف ناجور بررسی کرد. نتایج نشان داد جمعیت لارو پروانه‌ها در قطعات تیمار شده با Bt بسیار کمتر از شاهد است. تاثیر این سویه بر میزان مرگ‌ومیر آفت در نتایج این محقق با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد.

نتایج کاربرد باکتری *B. thuringiensis* var *Kurstaki* روی لاروهای سن دوم کرم برگ‌خوار چغندر قند *S. exigua* (Hübner) نشان داد دومین سن لاروی این آفت به باکتری فوق حساس‌تر از سن چهارم لاروی بوده و میزان LC₅₀ و LC₉₀ ترکیب به ترتیب $2/889 \times 10^6$ و $6/267 \times 10^{13}$ اسپور در میلی لیتر به دست آمد (El-Banna et al., 2012). نتایج این محققان با نتایج مطالعه حاضر به لحاظ میزان حساسیت سنین لاروی متفاوت می‌باشد. چراکه در مطالعه حاضر سن ۲ لاروی نسبت به سن ۱ حساس‌تر بوده که این امر می‌تواند ناشی از میزان تغذیه کمتر لارو سن ۱ باشد. اثر کشندگی سه فرمولاسیون تجاری Bt (دو فرمولاسیون خارجی به نام‌های آنتاریو و بلتیروول و یک ترکیب داخلی به نام بایولپ) روی لارو سن سوم بید کلم ارزیابی شده است (Karimzadeh Esfahani et al., 2012) و نتایج نشان داد از میان فرمولاسیون‌های به کار برده شده از نظر ایجاد مرگ و میر روی بید کلم، تفاوت معنی‌داری وجود داشته، به طوری که LC₅₀ فرمولاسیون آنتاریو ($1/67 \times 10^{-3}$ میلی گرم بر لیتر) به طور معنی‌داری کمتر از فرمولاسیون بلتیروول ($1/05 \times 10^{-1}$ میلی گرم بر لیتر) و بایولپ ($4/39 \times 10^{-1}$ میلی گرم بر لیتر) بود.

تحقیقات زیادی پیرامون اثرات حشره‌کش‌های میکروبی روی جوانه‌خوار *A. rosanus* انجام نگرفته است. در یک تحقیق از دو فرمولاسیون پودر قابل تعلیق در آب و گرد

پی‌پی‌ام و میزان LC₉₀ به ترتیب ۱۳۷۹۰ و ۱۶۸۴۰ پی‌پی‌ام برآورد شد. همان‌طوری که ملاحظه می‌شود با افزایش سن لاروی میزان حساسیت آنها به غلظت‌های کشنده ۵۰ و ۹۰ درصدی کاهش یافته است. اگرچه نتایج حاصل از بررسی‌های Vatandoost (2013) نشان دهنده این است که حشره‌کش Bt روی لاروهای سنین اول و دوم پروانه برگ‌خوار *Ennomus querecinaria* (Hauptnagel) برعکس عمل کرده است، میزان LC₅₀ برای لاروهای سنین اول و دوم به ترتیب ۲۱۴۰ و ۶۰ پی‌پی‌ام و میزان LC₉₀ به ترتیب ۴۳۳۰ و ۱۹۰۰ پی‌پی‌ام برآورد شد. ولی مقایسه حساسیت کرم جوانه‌خوار *A. rosanus* و پروانه برگ‌خوار *Ennomus querecinaria* به غلظت کشنده ۹۰ درصدی حشره‌کش Bt نشان داد لاروهای پروانه برگ‌خوار حساسیت بالاتری نسبت به لاروهای جوانه‌خوار دارند. لازم به ذکر است که سایر محققین از جمله Ferro and Lopez (1995) و Javvi et al. (2005) میزان LC₅₀ حشره‌کش Bt را روی لاروهای سنین مختلف سوسک کلرادو سیب زمینی و Aramideh et al. (2006) روی مراحل لاروی و شفیرگی پروانه برگ‌خوار چغندر قند مورد ارزیابی قرار داده و دریافتند با افزایش سن لاروی، میزان مقاومت به B.t هم افزایش یافته و میزان مرگ‌ومیر کاهش یافت. نتایج این محققین با نتایج پژوهش حاضر سازگار می‌باشد.

تفاوت در نوع واریته می‌تواند در مرگ‌ومیر ایجاد شده تفاوت ایجاد نماید. بعنوان مثال Knaak et al. (2010) با بررسی اثر کشندگی سویه‌های *B. thuringiensis thuringiensis* و *B. thuringiensis kurstaki* را بر روی لاروهای سن اول *Spodoptera frugiperda* نشان دادند که سویه اول به دلیل شروع اثر کشندگی ۹ ساعت بعد از تیمار در مقایسه با سویه دوم که همان اثر را تنها بعد از ۱۲ ساعت بعد از تیمار نشان داد، موثرتر و درصد تاثیر دو ترکیب با یکدیگر متفاوت بود. همچنین یک نوع فرمولاسیون با توجه به شرایط جوی مناطق مختلف ممکن است اثرات متفاوتی داشته باشد. به عنوان مثال تاثیر Bt روی لیسه سبب در آذربایجان غربی به میزان ۶۷/۵

آفات لازم باشد (Ferrari and Trevisan, 1978) که با نتایج بدست آمده در تحقیق حاضر مطابقت دارد. به طوری که میانگین تعداد آفت زنده در واحدهای تیمار شده با هر دو غلظت به کار برده شده حشره کش باسیلوس ۷ روز پس از تیمار بالاتر از ۵ روز بود. این امر می تواند به دلیل غیر فعال شدن حشره کش باسیلوس چند روز پس از کاربرد باشد. از طرفی این حشره کش به دلیل نحوه اثر، روی تخم این آفت تأثیری نداشته و شاید یکی از دلایل کاهش درصد تأثیر حشره کش Bt تفریح تدریجی تخم ها و عدم تماس لاروها با حشره کش است (Vatandoost, 2013).

در تحقیق ما مشخص شد حشره کش مالاتیون و Bt با غلظت ادرصد سمیت مشابهی برای لاروهای کرم جوانه خوار دارند اما بایستی به اثرات زیانبار ترکیبات شیمیایی بر سلامتی انسان ها نیز توجه ویژه ای شود.

علاوه بر اثرات مستقیم کشندگی، آلودگی با حشره کش Bt می تواند روی اندازه بدن و دوره نشوونمای یک حشره تأثیر بگذارد به طوری که چنین حشره ای آهسته تر رشد نموده و کوچک تر خواهد بود. بنابراین نسبت به پارازیتوئیدها و پرداتورها حساس تر خواهد بود (Mascarenhas and Luttrell, 1997). حشره کش میکروبی Bt چون از نوع تماسی نیست، بنابراین به موجودات غیر هدفی که در معرض تماس مستقیم این ترکیب قرار می گیرند آسیبی وارد نمی کند (Yezza and Tyagi, 2006; Ibrahim et al., 2010). از این رو، بررسی دقیق تر در آینده بر روی تلفیق حشره کش های میکروبی *B. thuringiensis* و پارازیتوئیدهای فعال بر روی *A. rosanus* به منظور توسعه برنامه های موثر مدیریت تلفیقی آفات مورد نیاز می باشد.

نتیجه گیری کلی: نتایج به صورت کلی نشان داد

حشره کش میکروبی بر پایه Bt قابلیت کشندگی مناسبی برای لاروهای جوانه خوار، *A. rosanus* در شرایط باغی دارد. با توجه به این که در آزمایشات باغی سال اول اطلاع دقیقی از بیولوژی آفت وجود نداشت و آفت وارد سن چهارم شده بود، نتایج

حشره کش زیستی باسیلوس برای کنترل لاروهای سن اول *A. rosanus* استفاده گردید. در شرایط آزمایشگاهی میزان مرگ-ومیر لاروهایی که به مدت ۴۸ ساعت از برگ های گیاه فندق آلوده به حشره کش Bt تغذیه کرده، یک هفته پس از تیمار به ۱۰۰ درصد رسید. آزمایش های مزرعه ای این تحقیق فوق نیز نشان داد حشره کش Bt قابلیت کشندگی مناسبی برای لاروهای جوانه خوار دارد و فرمولاسیون گرد نسبت به پودر و تابل عملکرد بهتری داشت (AliNiizee, 1974). نتایج پژوهش فوق با نتایج تحقیق حاضر در رابطه با تأثیر کشندگی حشره کش میکروبی Bt بر لاروهای جوانه خوار همسو می باشد.

تجزیه واریانس داده های حاصل از شش نوبت نمونه برداری سال دوم این تحقیق نشان می دهد که در نمونه برداری های ۳ روز پس از تیمار اختلاف معنی داری بین تیمارهای آزمایشی وجود داشت. ۷ روز پس از تیمار، تیمار Bt با غلظت نیم درصد با شاهد اختلاف معنی داری از نظر تعداد لاروهای زنده نداشت. در صورتیکه تیمارهای Bt با غلظت یک درصد و مالاتیون کمترین تعداد لاروهای زنده را داشته که حاکی از تأثیر بیشتر این دو تیمار بوده است. در هر سه زمان ۱۰، ۱۲ و ۱۴ روز پس از تیمار تعداد لاروهای زنده در قطعه شاهد نسبت به سه تیمار دیگر از لحاظ آماری بالاتر بود. در ۱۴ روز پس از تیمار تعداد لاروهای زنده در تیمار Bt با غلظت یک درصد به طور معنی داری کمتر از دو تیمار دیگر بود که نشان می دهد تأثیر این تیمار با گذشت زمان افزایش می یابد. با توجه به نتایج حاصله همان طور که انتظار می رفت با گذشت زمان میزان مرگ و میر مشاهده شده در آفت مورد بررسی در اثر حشره کش میکروبی Bt بیشتر می شد، طوری که در آخرین نمونه برداری بیشترین کاهش لاروهای زنده را در Bt با غلظت یک درصد ثبت شد.

تیمارهای Bt پس از کاربرد در محیط آزاد نسبتاً سریع (در طی یک الی چند روز) غیر فعال می گردند و ممکن است که تکرار سمپاشی برای بعضی از محصولات یا روی بعضی

شیمیایی و مشکلات ناشی از طغیان آفات به‌نظر می‌رسد استفاده از غلظت یک درصد حشره‌کش میکروبی Bt با عنایت به زمان مناسب مبارزه، برای کنترل کرم جوانه‌خوار *A. rosanus* در باغات مرکبات استان مازندران منطقی باشد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از گروه گیاهپزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به سبب در اختیار قرار دادن امکانات و تجهیزات آزمایشگاهی در اجرای این پژوهش از آقای مهندس جاوید جعفریان به دلیل در اختیار قرار دادن باغ مرکبات و برخی امکانات اجرایی صمیمانه تقدیر و تشکر می‌گردد.

References

- ABEDI, Z., M. SABER, G. H. GHARAKHANI and E. PARSAEYAN, 2011. Efficacy Azadirachtin and *Bacillus thuringiensis* and their interactions on *Helicoverpa armigera* (Lep.: Noctuidae). 2nd Iranian Pest Management Conference (IPMC)- 14 and 15 September 2011, Kerman, Iran.
- ALINIAZEE, M. 1974. Evaluation of *Bacillus thuringiensis* against *Archips rosanus* (Lep.: Tortricidae). Canadian Entomologist, No. 106:393-398.
- ANONUMOUS. 2011. Pesticides as water pollutants - FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations. Home, <http://www.fao.org>
- ARAMIDEH, S. H., M. H. SAFARALIZADEH, A. A. PORMIRZA and R. PARVIZI, 2006. The survey of susceptibility of larval, prepupal and pupal stages of *Spodoptera exigua* H. to *Steinernema carpocapsae* in laboratory conditions and on the beet plant, Journal of Agricultural sciences and Natural Resources, No. 12: 159-166. (in Persian with English summary)
- ASLAM KHAN, M. D. 2012. Microbial control of *Spilarctia obliqua* (Lep.: Arctiidae), Department of Biology, Faculty of Science, Jazan University. Jazan -114. Kingdom of Saudi Arabia.
- AYDOĞDU, M. 2014. Parasitoid abundance of *Archips rosana* (Linnaeus, 1758) (Lep.: Tortricidae) in organic cherry orchards, North-Western Journal of Zoology, No. 10: 42-47.
- BOULTON, T. J. 2003. Response of non target Lepidoptera to Foray 48 B *Bacillus thuringiensis* Var *kurstaki* on Vancouver Island, British Columbia, Canada, Environmental Toxicology and Chemistry, No. 23: 1297-1304.
- DAMAVANDIAN, M. R. 2007. Laboratory and field evaluation of mineral oil spray for the control of citrus red mite, *panonychus citri* (McGregor). Acta Agriculturae Scandinavica, Section B- Soil and Plant Science, no. 57: 92-96.
- EL-BANNA, A., I. S. ABDEL-WAHAB, A. S. EL-AKAD, and N. S. AMIN, 2012. Efficiency of the bioagent *Bacillus thuringiensis* *Kurstaki* on the lesser cottonleafworm, *Spodoptera exigua* (Hb), Journal of Biological Science, No. 5:141-145.
- FERRARI, R. and M. TREVISAN, 1978. Control of *Hyphantria cunea* and repercussion cultures of *Bombyx mori*, Informatore fitopatologico, No. 37:55-58.
- FERRO, D. N. and R. LOPEZ, 1995. Larviposition response of *Myiopharus doryphora* to Colorado potato larvae treated with lethal and sublethal doses of *Bacillus thuringiensis* Berliner subsp. *tenebrionis*. Journal of Economic Entomology, No. 88: 870-874.

- FINNEY, D. J. 1971. Probit analysis. 3rd Edition, Cambridge University Press, pp: 333.
- GU, K., H. MAO and Z. YIN, 2014. Production of marker-free transgenic *Jatropha curcas* expressing hybrid *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin Cry1Ab/1Ac for resistance to larvae of tortrix moth (*Archips micaceanus*), *Biotechnology for Biofuels*, No. 7:68.
- IBRAHIM, M. A., N. GRIKO, M. JUNKER and L. A. BULLA, 2010. *Bacillus thuringiensis*, a genomics and proteomics perspective, *Bioengineered Bugs*, No. 1:31-50.
- JAVVI, E., M. H. SAFAR ALI ZADEH and A. A. POURMIRZA, 2005. Studies on the effect of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* on different larval instars of Colorado Potato Beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say), and the role of synergists in enhancement of it's efficiency under laboratory conditions, *Journal of Water and Soil Science*, No. 8: 187 – 199.(in Persian with English summary)
- KARACA, G., I. KARACA, N. YARDIMIC, O. DEMIROZER, B. ASLAN and H. CULAL KILIK, 2010. Investigation on pests, diseases and present early warning system of apple orchards in Isparta, Turkey. *African Journal of Biotechnology* 9(6):834-841.
- KARIMZADEHESFAHANI, J., M.H., BESHARATNEJAD, Z. KAZEMZADEH and M. R. REZAPANAH, 2012. The lethal effect of three commercial formulations of *Bacillus thuringiensis* Berliner on *Plutella xylostella* L., The 2nd National Seminar on Food Security, Islamic Azad University Savadkooh Branch, 18-19 october, 2012 Savadkooh, Iran. (in Persian with English summary)
- KHALIL ARYA, A., M. DANYALI and M. MOSTAAN, 1998. Control of *Yponomeuta malinellus* by *Bacillus thuringiensis* and its comparison to Zolone phosphorus pesticide. Proceeding of the 13th, Iranian Plant Protection Congress 23-27 August 1998 Karaj, Iran, pp. 125. (in Persian with English summary)
- KNAAK, N., A. R., FRANZ, G. F. SANTOS and L. M. FIUZA, 2010. Histopathology and the lethal effect of Cry proteins and strains of *Bacillus thuringiensis* Berliner in *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith Caterpillars (Lep.:Noctuidae), *Brizilian Journal of Biology*, No. 70: 677 – 684.
- KOT, I. 2007. Parasitic entomofauna of leaf tortricids (Lep.: Tortricidae) occurring in apple orchards. *Electronic Journal of Polish Agricultural*, No. 10: 27.
- MAFI PASHAKOLAEI, S. A., R. NOURI, H. BARARI, and M. R. BABAEI, 2014. Preliminary investigation of biology of *Archips rosanus* (Lep.: Tortricidae) in orchards of Thomson orange in Sari, Iran. The 2nd Sustainable Agriculture and Natural Sources, Mehrarvand Institute of Technology, Abadan, Iran, 1- 8. (in Persian with English summary)
- MASCARENHAS, V. J. and R. G. LUTTRELL, 1997. Combined effect of sublethal exposure to cotton expressing the endotoxin protein of *Bacillus thuringiensis* and natural enemies on survival of bollworm (Lep.: Noctuidae) larvae, *Environmental Entomology*, No. 26: 939-945.
- MASHHADI JAFARLOO, M. and M. DANYALI, 1998. The influence of several microbial insecticides on *Yponomeuta malinellus* in East Azarbayegan province. Proceeding of the 13th, Iranian Plant Protection Congress 23-27 August 1998 Karaj, Iran. (in Persian with English summary)
- MOHAMED HAGGAG, W. and H. A. L. A. MOHAMED, 2007. Biotechnological Aspects of Microorganisms Used in Plant Biological Control, *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, No. 1: 7-12.
- ROMEIS, J., A. DUTTON and F. BIGLER, 2003. *Bacillus thuringiensis* toxin (Cry1Ab) has no direct effect on larvae of the green lacewing *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neu: Chrysopidae). *Journal of Insect Physiology*, No. 50 : 175–183.
- SARUHAN, I., I. AKCA and R. KUSHIYEV, 2014. Toxicity of Some Biopesticides to the Fall Webworm, *Hyphantria cunea* Durr (Lep.: Arctidae), *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, No. 24: 255-257.
- SHIKANO, I. and J. S. CORY, 2014. Genetic resistance to *Bacillus thuringiensis* alters feeding behaviour in the Cabbage Looper, *Trichoplusia ni* Hubner, *PLoS ONE*, No. 9: 85709.
- TALAEI-HASSANLOEI, R., R. BAKHSHAEI, V.

- HOSSEININAVEH and A. KHORRRAMNEZHAD, 2014. Effect of midgut proteolytic activity on susceptibility of Lepidopteran larvae to *Bacillus thuringiensis* Subsp *Kurstaki*, Perspective Article, No. 4:1-6.
- VAN ARC, H. 1983. Introduction to probit analysis with (LSTATS) P/PROBAN, Science Bulletin, Department of Agriculture, Republic of South Africa, No. 399.
- VATANDOOST, A. 2013. The bioassay study and calculation of LC50 and LC90 of *Bacillus thuringiensis* on *Ennomus quercinaria* (Hafnagel) in Mazandaran province. The second National Congress on Organic and Conventional Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran, 21 – 22 Aug., 2013, pp. 382 – 384. (in Persian with English summary)
- YEZZA, A. and R. D. TYAGI, 2006. Correlation between entomotoxicity potency and protease activity produced by *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* grown in wastewater sludge, Process Biochemistry, No. 41:794-800.

