کارآیی باکتری *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* (3a 3b) روی لاروهای سن سوم شب‌پره تک‌نقطه‌ای برنج، *Mythimna unipuncta*

جابر کریمی[۱]، غلامحسین حسن‌شاهی*[۱]، حبیب عباسی‌پور[۱]، معصومه نصیری‌مقدم[۱] و داریوش طالعی[۲]
۱- دانشگاه شاهد، دانشکده کشاورزی، گروه گیاهپزشکی، تهران، ایران
۲- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد، تهران، ایران
*Hasanshahi.entomo@yahoo.com

چکیده

شب پره تک نقطه ای، *Mythimna unipuncta* (Haworth) (Lep.: Noctuidae) از آفات مهم غلات به ویژه برنج می‌باشد. در این تحقیق، حساسیت لاروهای سن سوم شب پره تک نقطه ای نسبت به باکتری *Bacillus thuringiensis* در شرایط مزرعه مورد مطالعه قرار گرفت. بدین منظور در منطقه بند رود نشتارود قطعه زمینی به مساحت ۲۰۰۰ متر مربع انتخاب گردید. رقم برنج مورد استفاده در این مطالعه رقم طارم دیلمانی بود. این آزمایش در قالب طرح کرت های خرد شده بر پایه بلوک های کامل تصادفی اجرا شد. غلظت های باکتری مورد استفاده علیه لاروهای سن سوم در این پژوهش ۴۰۰، ۷۹۸/۲۰، ۱۵۱۲/۵۰ و ۳۰۰۲/۳۰ پی پی ام تعیین گردید. با توجه به رفتار تغذیه ای لارو های شب پره تک نقطه ای که در شب تغذیه دارند، سم پاشی در هنگام غروب آفتاب صورت گرفت. نتایج حاصل از آزمایشات مربوط به میزان مرگ و میر نشان داد که این باکتری روی مرگ و میر لارو سن سوم شب پره تک نقطه ای برنج بسیار موثر بوده است. همچنین نتایج بدست آمده نشان می دهد که با افزایش غلظت و زمان، میزان مرگ و میر لاروها افزایش می یابد. بالاترین غلظت از باکتری سبب مرگ ۷۵/۴۰ درصد لاروهای سن سوم شب پره تک نقطه ای شد. با توجه به اثرات نامطلوب سموم شیمیایی توصیه می‌شود از باکتری *B. thuringiensis* برای کنترل این آفت در مزارع شمال کشور استفاده شود.

کلمات کلیدی: برنج، شب پره تک‌نقطه‌ای، لارو سن سوم، *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* (3a 3b)، فعالیت حشره‌کشی

مقدمه

باکتری *Bacillus thuringiensis* (*B.t*) بیشتر روی راسته های بالپولکداران، دوبالان و سخت بالپوشان مؤثر است. به دلیل تولید توکسین های مختلف تولید شده توسط استرین ها جدایه های مختلف باکتریایی حتی در یک گونه ممکن است در میزان بیماریزایی برای یک حشره خاص متفاوت باشند (Dulmage, 1970). باکتری *B.t* از رده باکتریهای گرم مثبت و دیواره سلولی آن از پپتید و گلیکان تشکیل شده است (کریمی، ۱۳۷۲). تعداد زیادی از زیرگونه های *B.t* از اجساد مرده حشرات میزبان جداسازی شده اند (Hansen *et al*., 1996). بنابراین استفاده از این عامل بیولوژیک در مدیریت شالیزارهای شمال کشور می‌تواند موثر و سازگار با دیگر عوامل مدیریت تلفیقی آفات بکار برده شود. از آفات

مهم در شالیزارهای کشور شب پره تک نقطه ای، *Mythimna unipuncta* (Haworth) (Lep.: Noctuidae) می باشد. این آفت خسارت زیادی روی برنج ایجاد می‌کند. در خسارت های شدید لارو های این آفت علاوه بر برگ ها در اوایل شهریور ماه به خوشه ها حمله نموده و بر اثر تغذیه از گلوم و گلومل دانه ها و حتی خود دانه ها، موجب ریزش مقدار زیادی از خوشه ها می‌گردند. در این زمان بیش از ۲۰ لارو روی هر خوشه مشاهده شده است (برومند، ۱۳۴۲). همچنین لارو های سن پنجم و ششم این آفت با تغذیه از ساقه برنج باعث قطع ساقه خوشه دهنده می شوند (Ahmad, 1990). خزانه برنج به علت تراکم بوته ها و علفی بودن بوته ها نیز مورد حمله این آفت قرار می‌گیرد و در بعضی از نمونه برداری ها تا ۱۲۰ عدد لارو در یک متر مربع نیز گزارش شده است (سیاهپوش، ۱۳۷۰). استفاده از پودر وتابل سوین، اندوسولفان و د.د.ت در کاهش جمعیت لاروی این آفت بسیار موثر بوده است (Ecarneige and Dick, 1972). در بین عوامل عوامل بیماری زایی که روی شب پره تک نقطه ای تاثیرگذار است می‌توان به باکتری *B. thuringiensis* اشاره کرد. این باکتری دارای تاثیر زیادی روی حشرات راسته بالپولک داران می باشد (عسکری، ۱۳۷۱). به منظور جایگزین مناسبی برای سموم شیمیایی دراین تحقیق از باکتری *B.t* جهت کنترل لاروهای سن سوم شب پره تک نقطه ای برنج در شرایط مزرعه استفاده گردید.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی کارآیی پودر وتابل باکتری *B. thuringiensis* subsp. *Kurstaki* (3a 3b) در کنترل لاروهای سن سوم شب پره تک نقطه ای برنج در منطقه بند رود نشتارود قطعه زمینی به مساحت ۲۰۰۰ متر مربع انتخاب گردید. رقم برنج مورد استفاده در این مطالعه رقم طارم دیلمانی بود. این آزمایش در قالب طرح کرت های خرد شده بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی اجرا شد.

به منظور اجرای دقیق عملیات باکتری پاشی نیاز به پیش آگاهی کامل نسبت به اوج زمان تخم ریزی حشرات کامل بود که با استفاده از تله نوری و جمع آوری حشرات کامل انجام گرفت. با بررسی بیولوژی آفت و اندازه گیری عرض کپسول سر زمان دقیق سم پاشی علیه لاروهای سن سوم مشخص گردید. غلظت های باکتری مورد استفاده علیه لاروهای سن سوم در این پژوهش ۴۰۰، ۷۹۸/۲۰، ۱۵۱۲/۵۰ و ۳۰۰۲/۳۰ پی پی ام تعیین گردید. با توجه به رفتار تغذیه ای لارو های شب پره تک نقطه ای که در شب تغذیه دارند، سم پاشی در هنگام غروب آفتاب صورت گرفت. نمونه برداری از کرت های آزمایشی بدین صورت بود که از هر کرت تعداد ۱۰ عدد لارو به طور تصادفی به روش کادر برداری جمع آوری و جهت معاینه دقیق به آزمایشگاه انتقال داده شدند.

آنالیز آماری: تعیین غلظت های کشنده از جمله LC_{50} توسط آزمون پروبیت و با استفاده از نرم افزار SAS (2004) انجام گرفت.

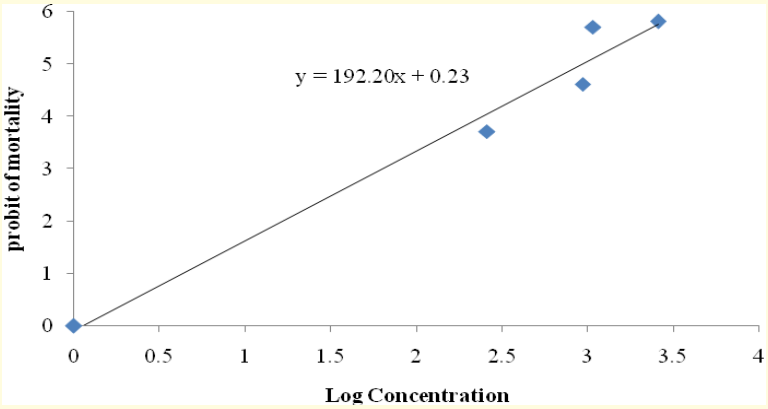
نتایج

نتایج حاصل از آزمایشات مربوط به میزان مرگ و میر لاروهای سن سوم نشان داد که این باکتری روی مرگ و میر شب پره تک نقطه ای برنج موثر واقع گردیده است. نتایج بدست آمده نشان می دهد که با افزایش غلظت و زمان، میزان مرگ و میر افزایش می یابد (شکل ۱). به طوری که در بالاترین غلظت از این باکتری ۷۵/۴۰ درصد مرگ و میر در لارو سن سوم شب پره تک نقطه ای مشاهده شده است.

مقدار غلظت مصرفی لازم برای مرگ و میر ۵۰ درصد لارو های سن سوم برابر با ۴۰۲/۳۰ پی پی ام بدست آمد (جدول ۱).

جدول۱. مرگ و میر لارو سن سوم شب پره تک نقطه ای برنج در اثر تغذیه از باکتری *B.t* به مدت ۹۶ ساعت

مرحله رشدی	χ^2	Slope	LC_{50} (µl/l)	سطح اطمینان ٪۹۵	
				حد پائین	حد بالا
لارو سن سوم	۰/۲۹	۲/۱۹	۴۰۲/۲۰	۳۸۲/۳۰	۵۱۲/۸۱



شکل ۱. مرگ و میر لارو های سن سوم شب پره تک نقطه ای برنج در غلظت های مختلف باکتری

مرزبان و همکاران (۱۳۷۷) اثر فرمولاسیون پودر وتابل جدایه تجاری Dipel، فرمولاسیون گرد باکتری *B.t* جدایه کرمانشاه را در سه غلظت ۵، ۵۰، ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم ماده غذایی روی شب پره هندی، *Plodia interpunctella* را بررسی کردند و درصد تلفات برای جدایه کرمانشاه در سه غلظت را به ترتیب ۱۶/۶۷، ۲۳/۶۶ و ۸۲/۶۶ درصد و برای جدایه Dipel، به ترتیب ۷۸/۶۶، ۸۰/۶۶ و ۸۹/۳۴ درصد بیان کردند. همینطور ایزدیار (۱۳۸۱) مقدار غلظت کشنده ۵۰ درصد (LC_{50}) جدایه 6R باکتری را روی لاروهای چهار روزه کرم قوزه پنبه، *Helicoverpa armigera* پس از ۷ روز را برابر با 6×10^{6} CFU/ml بیان کرد. محققین همچون Lereculus و همکاران (۱۹۹۳)، Monnerat and Bravo (۲۰۰۰) سروتایپ HD-1 باکتری *B. thuringiensis subsp. Kurstaki* را در کنترل بالپولکداران مؤثرتر اعلام کردند. مطالعاتی نیز جهت بررسی تأثیر *B.t* بر حشرات گرده افشان صورت گرفت و ثابت شد که تعداد بی شماری از زیرگونه ها و استرین های فرموله شده *B.t* روی زنبورها بی اثر هستند (Cantwell *et al*., 1972). Krieg و همکاران (۱۹۸۰) دریافتند که سروتایپ های مختلفی از *B.t* (*israelensis*, *thuringiensis*, *kurstaki*) روی زنبورها بی تأثیر هستند. با توجه به اینکه باکتری *B.t* دارای تاثیرات کمتری روی موجودات غیرهدف، حشرات مفید، محیط زیست و انسان می باشد (Ignoffo, 1973) و با توجه به نتایج این آزمایش و اثرات حشره کشی مناسب آن روی شب پره تک نقطه ای برنج، می‌توان از این عامل بیولوژیک در مدیریت تلفیقی IPM آفت استفاده نمود.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر در گروه گیاهپزشکی دانشگاه شاهد انجام گرفت، بدینوسیله از همکاری دانشکده علوم کشاورزی و حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه شاهد به خاطر حمایت مالی تقدیر و تشگر می گردد.

منابع

ایزدیار س ۱۳۸۱. زیست سنجی جدایه های بومی *Bacillus thuringiensis* روی کرم قوزه پنبه، *Helicoverpa armigera* و ردیابی بتاگزوتوکسین در آنها. پایان نامه کارشناسی ارشد حشره شناسی کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی.

برومند ه، ۱۳۴۲. شب پره تک نقطه ای برنج. آفات و بیماری های گیاهی، ۲۱: ۱-۹.

سیاهپوس ع، ۱۳۷۰. بررسی بیواکولوژی شب پره تک نقطه ای و عوامل کنترل آن در مزارع ذرت خوزستان. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس.

عسکری ح، ۱۳۷۱. بررسی های آزمایشگاهی در چگونگی بیماری زایی باسیلوس تورنژنسیس روی کرم ساقه خوار اروپایی ذرت. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.

مرزبان ر، بیات اسدی ه و میرمویدی ع، ۱۳۷۷. کنترل بیولوژیک شب پره هندی توسط باکتری *Bacillus thuringiensis* Br. در پسته. خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، صفحه ۲۴۰.

کریمی ج، ۱۳۷۲. بررسب بیولوژی سفیده کلم و کنترل ان توسط باکتری *Bacillus thuringiensis*. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تربیت مدرس.

Ahmad W, 1990. Directed Muatagenesis of selected region of a *Bacillus thuringiensis* entomocide protein FEMS Microbiology Letters, 68(1-2): 91-104.

Aly C, Mulla MS and Federici BA, 1985. Sporulation and toxin production by *Bacillus thuringiensis israelensis* Cadavers of mosquito larvae (Diptera: Culicidae). Journal of Invertebrate Pathology, 46: 251-258.

Cantwell GE, Lehnert T and Fowler J, 1972. Plasmid and delta-endotoxin production in different subspecies of *Bacillus thuringiensis* on *Spodoptera frugiperda.* American Bee Journal, 112: 255-258.

Dulmage HT, 1970. Insecticidal activity of HD-1, a new isolate of *Bacillus thuringiensis* var. *alesti*. Journal of Invertebrate Pathology, 15: 232-239.

Ecarneige AJM and Dick J, 1972. Notes on sugarcane trash Caterpillars (Noctuidae) and effects of defolation on the crop. S. A. Technology Assoc. 46: 160- 167.

Hansen BM, Damgaard PH, Eilenberg J and Pedersen JC, 1996. *Bacillus thuringiensis*, ecology and environmental effect of its use for microbal pest control (Environmental project No.316). Copenhangen, Denmark, Ministry of Environment and Energy, Danish Environmentall Protection Agency.

Ignoffo CM, 1973. Insect pathology and Microbial control. Annual of New York Academical Science, 217: 141-172.

Krieg A, Gröner A, Huber J and Matter M, 1980. ber die wirkung von Mittel-und langwelligen ultravioletten Strahlen (UV-B and UV-A) auf insecten pathogen Bacterien und Pflanzenschutzd. Braunschweig, 32: 100-106.

Lereculus D, Delecluse A. and Lecadet MM, 1993. Diversity of *Bacillus thuringiensis* toxins and genes. In: *Bacillus thuringiensis*, an Environmental Biopesticide: Theory and practice. Ed. By Entwistle, P.F., Cory, J.S., Bailery, M.J., Higgs, S. Chichester: John wiley and Sons, Ltd, PP.37-69.

Monnerat RS and Bravo A, 2000. Proteínas bioinseticidas produzidas pela bactéria *Bacillus thuringiensis*: modo de ação e resistência. In: MELO, I.S.; AZEVEDO, J.L. (Ed.). *Controle Biológico*. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 3: 163-200.

SAS Institute. 2004. SAS users guide: statistics. SAS Institute, Cary, NC.