بررسی توانایی باکتری *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* (3a 3b) علیه شب‌پره تک‌نقطه‌ای، *Mythimna unipuncta* و کرم ساقه‌خوار برنج، *Chilo suppressalis*

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

چکیده

شب پره تک نقطه‌ای برنج، *Mythimna unipuncta* (Haworth) (Lep.: Noctuidae) و کرم ساقه خوار برنج، *Chilo suppressalis* walker (Lep.: Pyralidae) از جمله آفات مهم غلات به ویژه برنج می باشند. در این تحقیق، حساسیت لاروهای دو آفت مذکور نسبت به باکتری *Basillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* (3a 3b) 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 شب پره تک نقطه ای ۴۰۰، ۷۹۸/۲۰، ۱۵۱۲/۵۰ و ۳۰۰۲/۳۰ پی پی ام و برای کرم ساقه خوار برنج ۱۵۰۰، ۲۰۰۰، ۲۵۰۰ و ۳۰۰۰ پی پی ام در نظر گرفته شدند. نتایج آزمایشات نشان داد که این باکتری روی مرگ و میر هر دو آفت موثر واقع گردیده است. همچنین نتایج نشان داد که با افزایش غلظت و زمان، میزان مرگ و میر لاروی افزایش می یابد. به طوری که در بالاترین غلظت ۸۱/۳۰ درصد لارو های کرم ساقه خوار برنج و ۷۰/۶۹ درصد از لارو های شب پره تک نقطه ای تلف شدند.

کلمات کلیدی: برنج، شب پره تک نقطه ای برنج، کرم ساقه خوار برنج، *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* (3a 3b)، فعالیت حشره‌کشی

مقدمه

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 نیز 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). کرم ساقه خوار نواری برنج، *Chilo suppressalis* walker (Lep.: Pyralidae) از آفات مهم و کلیدی در شالیزار های شمال ایران می باشد به طوری که این آفت قادر به نابود کردن بیش از ۳۰ درصد محصول می باشد (خسرو شاهی و همکاران، ۱۳۸۵). این آفت بوته های برنج را در مراحل مختلف رشدی مورد حمله قرار می دهد و باعث خشک شدن جوانه مرکزی و سفید شدن خوشه ها می شود (Rubia-Sanchez *et al.*, 1997).

باکتری *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* (3a 3b) بیشتر روی راسته های بالپولکداران موثر است. جدایه های مختلف باکتریایی حتی در یک گونه ممکن است در میزان بیماریزایی برای یک حشره خاص متفاوت باشند که به دلیل توکسین های مختلف تولید شده توسط استرین ها می باشد (Dulmage, 1970). باکتری *B. thuringiensis* (*B.t*) در سطح خاک، حشره میزبان، محصولات انباری و مواد گیاهی و غیره یافت می شود. به طور مثال زمانی که حشره آلوده می میرد، لاشه آن معمولاً حاوی میزان زیادی اسپور و کریستال است که در محیط آزاد می شوند (Aly *et al*., 1985). 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 بکار برده شود.

این تحقیق با هدف بررسی اثر باکتری *B.t* روی مرگ و میر شب پره تک نقطه ای برنج و کرم ساقه خوار برنج در شرایط مزرعه ای انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی توانایی پودر وتابل باکتری *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* (3a 3b) در کنترل لاروهای شب پره تک نقطه ای و کرم ساقه خوار برنج در منطقه بند رود نشتارود قطعه زمینی به مساحت ۲۰۰۰ متر مربع برای هر آفت به طور جداگانه جهت انجام این پژوهش انتخاب گردید. رقم برنج مورد استفاده در این مطالعه رقم طارم دیلمانی بود. این آزمایش در قالب طرح کرتهای خرد شده بر پایه بلوک های 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 لارو ها مشخص گردید.

غلظت های باکتری مورد استفاده علیه لاروهای شب پره تک نقطه ای 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. همچنین غلظت های ۱۵۰۰، ۲۰۰۰، ۲۵۰۰ و ۳۰۰۰ پی پی ام برای کرم ساقه خوار برنج در نظر گرفته شد. برای مشخصکردن زمان مرگ و میر بعد از باکتری پاشی غلظت ۱۵۱۲/۶۰ پی پی ام برای شب پره تک نقطه ای برنج و غلظت ۲۰۰۰ پی پی ام برای کرم ساقه خواربرنج مورد استفاده قرار گرفت.

نمونه برداری از کرت های آزمایشی بدین صورت بود که از هر کرت تعداد ۱۰ عدد لارو به طور تصادفی جمع آوری و جهت معاینه دقیق به آزمایشگاه انتقال داده شد.

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 شب پره تک نقطه ای و کرم ساقه خوار برنج نشان داد که این باکتری روی مرگ و میر هر دو آفت موثر بوده است. نتایج بدست آمده نشان می دهد که با افزایش غلظت و

زمان، میزان مرگ و میر افزایش می یابد. به طوری که در بالاترین غلظت از این باکتری ۸۱/۳۰ درصد لارو های کرم ساقه خوار برنج و ۷۰/۶۹ درصد از لارو های شب پره تک نقطه ای تلف شدند (جدول ۱).

جدول ۱. درصد مرگ و میر شب پره تک نقطه ای و کرم ساقه خوار برنج در اثر تغذیه از باکتری *B.t* به مدت ۹۶ ساعت

شب پره تک نقطه ای		کرم ساقه خوار برنج	
مرگ ومیر (٪)	غلظت باکتری (ppm)	مرگ ومیر (٪)	غلظت باکتری (ppm)
۱۰/۰۰c*	۴۰۰	۳۲/۱۲b	۱۵۰۰
۱۶/۹۰b	۷۸۹/۲۰	۷۹/۶۰a	۲۰۰۰
۷۰/۰۰a	۱۵۱۲/۵	۸۰/۰۱a	۲۵۰۰
۷۰/۶۹a	۳۰۰۲/۲	۸۱/۳۰a	۳۰۰۰

*حروف یکسان در هر ستون نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار می باشد

مرگ و میر شب پره تک نقطه ای و کرم ساقه خوار در اثر تغذیه از باکتری *B.t* در زمان های مختلف نشان می دهد که بین زمان های مختلف اختلاف معنی داری وجود دارد و بیشترین میزان مرگ و میر بعد از ۹۵ ساعت اتفاق افتاده است (جدول ۲).

جدول ۲. مرگ و میر شب پره تک نقطه ای و کرم ساقه خوار برنج در اثر تغذیه از باکتری *B.t* در زمان های مختلف

شب پره تک نقطه ای		کرم ساقه خوار برنج	
مرگ و میر (٪)	زمان تغذیه (ppm)	مرگ ومیر (٪)	زمان تغذیه (ppm)
۸/۹۱d*	۸	۱/۳۶c	۱۲
۱۷/۸۲c	۱۵	۲۵/۹۵b	۲۴
۲۸/۳۰b	۳۰	۷۹/۰۲a	۲۸
۷۳/۳۰a	۵۴	۷۹/۸۵a	۷۲
۷۶/۶۰a	۹۶	۸۱/۱۵a	۹۶

*حروف یکسان در هر ستون نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار می باشد

محققیق مختلفی روی میزان کارایی باکتری *B. thuringiensis* روی حشرات مختلف کار کرده اند. مرزبان و همکاران (۱۳۷۷) اثر فرمولاسیون پودر وتابل جدایه تجاری Dipel، فرمولاسیون گرد باکتری *B.t* و 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 کردند. دیلمی (۱۳۸۹) بیان کرد که مقدار LT_{50} جدایه 20 باکتری در غلظت 10^{6}CFU/mL روی لاروسن دوم شب پره پشت الماسی، *P. xylostella* به میزان ۷۰/۴۴ ساعت می باشد. سیلوا و همکاران (۲۰۰۴)، مقدار

غلظت کشنده ۵۰ درصد (LC_{50}) برای کنترل لاروهای سن دوم شب پره برگخوار پاییزی، *Spodoptera frugiperda* و *Anticarsia gemmatalis* را به ترتیب ۱/۷ و۱/۸۷ پی پی ام بیان کردند. با توجه به اینکه باکتری *B.t* دارای تاثیرات کمتری روی موجودات غیرهدف، حشرات مفید، محیط زیست و انسان می باشد (Ignoffo, 1973) و از طرفی با توجه به نتایج این آزمایش و اثر حشره کشی مناسب آن روی شب پره تک نقطه ای برنج و کرم ساقه‌خوار برنج، می‌توان از این عامل بیولوژیک در مدیریت تلفیقی IPM آفات مهم برنج استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر در گروه گیاهپزشکی دانشگاه شاهد انجام گرفته و بدینوسیله از همکاری دانشکده علوم کشاورزی و حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه شاهد به خاطر حمایت مالی تشکر میگردد.

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.

خسروشاهی م، نیکخو ف، دزفولیان ع و بنی هاشمیان ا، ۱۳۸۵. ارزیابی خسارت ساقه خوار برنج و مبارزه با آن. نشریه آفات و بیماری ها. ۴۷: ۱۰۷-۱۱۹.

دیلمی ع، ۱۳۸۹. بررسی زیست سنجی ایزوله های ایرانی باکتری *Bacillus thuringiensis* بر روی لارو شب پره پشت الماسی، *Plutella xylostella* (L.) (Lep.: Plutellidae)، پایان نامه کارشناسی ارشد حشره شناسی کشاورزی، دانشگاه شاهد، ۱۱۰ صفحه.

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

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.

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

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 Environmental Protection Agency.

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

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.

Rubia-Sanchez EG, Diah N, Heong KL, Zaluki M and Norton GA, 1997. White stem borer damage and grain yield in irrigated rice in WEST Java, Indonesia. Crop Protection, 16(7): 665-671.

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

Silva SMB, Silva-werneck JO, Falcão R, Gomes AC, Fragoso RR, Quezado MT, Neto OBO, Aguiar BJ, deSá MFG, Bravo A and Monnerat RG, 2004. Characterization of novel Brazilian *Bacillus thuringiensis* strainsactive against *Spodoptera frugiperda* and other insect pests. Journal of Applied Entomology, 128: 102-107.