دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اراک
شاپا ۴۶۶۸-۲۰۰۸
www.entomologicalresearch.ir

فصلنامه تخصصی تحقیقات حشره‌شناسی
(علمی- پژوهشی)
جلد ۵، شماره ۲، سال ۱۳۹۲، (۱۷۱-۱۸۱)

ارزیابی تاثیر دو فرآورده *Bacillus thuringiensis* در کنترل لاروهای پروانه ابریشم‌باف ناجور در جنگل‌های ارسباران

مصطفی نیکدل[1]، رسول امید[2]، علی اصغر دردایی[1]*

۱- به‌ترتیب استادیار و مربی پژوهشی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی، تبریز
۲- مربی پژوهشی موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور

چکیده

پروانه ابریشم‌باف ناجور، *Lymantria dispar* L. شب‌پره‌ای از خانواده Lymantriidae بوده و یکی از آفات مهم برگ‌خوار درختان و درختچه‌های جنگلی در منطقه ارسباران محسوب می‌شود که به‌صورت دوره‌ای خسارت قابل توجهی به گونه‌های میزبان به‌ویژه درختان بلوط وارد می‌نماید. در این بررسی تاثیر دو فرآورده *Bacillus thuringiensis* شامل *Btk* (فرآورده تجاری Dipel) و *BtH* (تولید شده در ایران) روی لاروهای ابریشم باف ناجور مورد ارزیابی قرار گرفت. بر اساس نتایج حاصله مشخص گردید که بین تیمارهای دو فرآورده Dipel و *BtH* اختلاف معنی‌دار وجود دارد به‌طوری که تیمارهای ۱/۲ گرم در لیتر دایپل و ۶ گرم در لیتر *BtH* به‌ترتیب با میانگین تلفات ۲۹/۲۳ و ۲۳/۰۵ درصد بیشترین و دز ۱/۲ گرم در لیتر *BtH* با میانگین تلفات ۱۳/۶۱ درصد کمترین تلفات را در لاروها ایجاد نمودند. مقایسه میانگین درصد مرگ و میر لاروها در زمان‌های ۱، ۳، ۷ و ۱۴ روز بعد از پاشش در هر دو نوع فرآورده نشان داد که بین روز اول و روز سوم تفاوتی وجود نداشته اما اختلاف بین آن دو روز با روزهای ۷ و ۱۴ معنی‌دار است. به‌طوری که با گذشت زمان تاثیر تیمارها افزایش یافت. بر اساس مقایسه میانگین زنبورهای پارازیتویید و نماتد انگل خارج شده از لاروهای زنده مانده تحت تیمار، تاثیر تیمارهای *Bt* در جلوگیری از خروج دشمنان طبیعی کاملا مشهود بود. به‌طوری که دشمنان طبیعی خارج شده از تیمارهای ۱/۲، ۳ و ۶ گرم در لیتر *BtH* و دایپل به‌ترتیب۱۲/۳، ۳۴/۷، ۵۹/۸ و ۸۱/۶ درصد نسبت به شاهد کاهش یافت. به‌عبارت دیگر با افزایش تاثیر *Bt* در تیمارها امکان خروج دشمنان طبیعی از لاروهای زنده مانده تحت تیمار کاهش یافت. در این رابطه غلظت بالای *BtH* و Dipel بیشترین تاثیر را در کاهش دشمنان طبیعی داشتند. بررسی میزان تغذیه لاروهای مورد آزمایش در برگ‌های تحت تیمار نشان داد که به علت تاثیر سریع *Bt* بر روی لاروهای سن دوم امکان تغذیه بیشتر آن‌ها وجود نداشت، اما در لاروهای سن چهارم تاثیر آن تدریجی بوده و تغذیه لاروها از برگ‌ها در برخی از تیمارها تا ۱۰۰ درصد هم ادامه یافت. بنابر این کاربرد فرآورده Dipel و غلظت بالای *BtH* علیه لاروهای سن دوم آفت در ارسباران نسبت به سایر تیمارها تاثیر بیشتری خواهد داشت.

واژه‌های کلیدی: جنگل‌های ارسباران، پروانه ابریشم باف ناجور، *Bacillus thuringiensis*، درختان بلوط، زیست‌سنجی

* نویسنده رابط، پست الکترونیکی: *mnikdel1374@gmail.com*
تاریخ دریافت مقاله (۹۰/۱۱/۱۳) - تاریخ پذیرش مقاله (۹۱/۹/۱)

مقدمه

جنگل‌های ارسباران به‌دلیل دارا بودن ذخایر ارزشمند ژنتیکی و تنوع زیستی از طرف سازمان جهانی یونسکو به‌عنوان یکی از ذخیره‌گاه‌های زیست کره جهانی شناخته شده و تحت حفاظت و نظارت قرار گرفته است (Alijanpour & Mahmoudzadeh, 2007). مساحت زیر پوشش جنگلی در ارسباران حدود ۱۴۰ هزار هکتار برآورد شده است. این منطقه از نظر توپوگرافی بسیار متنوع بوده و از ارتفاعات حدود ۲۰۰ متر (در حواشی رودخانه ارس) تا ۲۹۵۰ متر در غرب ورزقان (کوه کسبه)، ۳۳۴۷ متر در کوه کیامکی داغ و بالاخره ۴۸۱۱ متر در کوه سبلان جنوب مشکین‌شهر در آن دیده می‌شود. هرچند آمار بارندگی حدود ۳۰۰ تا ۵۰۰ میلی‌متر را نشان می‌دهد، ولی تعداد روزهای مه‌خیز زیاد بوده و نقش عمده‌ای در افزایش بیلان آب در خاک جنگل دارد. ریزش قطرات آب از سطح برگ‌ها کاملا مشهود و قابل اندازه‌گیری بوده و این مقدار باران نامریی در ارتفاعاتی که ابر تجمع می‌یابد به حداکثر خود می‌رسد و به‌علت سرمای این ارتفاعات، با سرعت بیشتری در برخورد با سطح برگ‌ها به زمین می‌ریزد (Nikdel & Sadaghian, 2001). ناحیه رویشی ارسباران به‌دلیل قرار گرفتن در منطقه ویژه‌ای که تحت تاثیر اقلیم‌های مختلف قفقازی، مدیترانه‌ای و خزری بوده و نیز به‌دلیل تنوع ارتفاعی ذکر شده به‌عنوان زیست‌گاه انواع زیادی از گیاهان و حیوانات می‌باشد. طبق مطالعات به‌عمل آمده در منطقه ارسباران ۱۳۳۴ گونه گیاهی مورد شناسایی قرار گرفته که به ۴۹۳ جنس و ۹۷ تیره تعلق دارند (Jalili *et al.*, 2003) ارقام فوق به‌خوبی موید غنای گونه‌ای در این منطقه و قابل مقایسه با تنوع گیاهی سایر مناطق کشور می‌باشند. به‌همین دلیل این منطقه از نظر دارا بودن مجموعه‌ای از گونه‌های مختلف و نیز تنوع ژنتیکی مربوط به این گونه‌ها از اهمیت و جایگاه ویژه‌ای برخوردار است، در جنگل‌های ارسباران گونه‌های ممرز، بلوط، افرا و گیلاس وحشی از عمده گونه‌های چوبی به حساب می‌آیند (Nikdel *et al.*, 2002).

در پی تعرضات و تخریب‌هایی که در طول سالیان دراز به علل مختلف از جانب انسان به عرصه‌های جنگلی و مرتعی ارسباران صورت گرفته، امکان توسعه جمعیت برخی از حشرات فراهم شده و به‌عنوان آفات کلیدی بروز کرده‌اند. در بین آفات شناخته شده پروانه‌های خانواده Lymantriidae از جمله حشرات برگ‌خواری هستند که چند گونه خسارت‌زای مهم آن از جمله پروانه برگ‌خوار دم قهوه‌ای[1]، و پروانه ابریشم‌باف ناجور[2]، در جنگل‌های ارسباران وجود دارند و به‌صورت دوره‌ای حالت طغیانی پیدا می‌کنند. دو گونه مذکور از آفات خطرناک درختان و درختچه‌های جنگلی در ارسباران محسوب می‌شوند اما پروانه برگ‌خوار سفید بلوط[3]، تا کنون در جنگل‌های ارسباران مشاهده نشده است (Abaei, 2000). همان‌طور که اشاره شد در سال‌های گذشته جمعیت شب پره‌های دم قهوه‌ای بلوط و ابریشم‌باف ناجور به‌صورت دوره‌ای در نوسان بوده و حداقل در هر چهار تا پنج سال یک‌بار در کانون‌های خاص و یا در کل منطقه به‌صورت طغیانی فعالیت می‌کنند. گرچه میزبان ترجیحی هر دو گونه آفت مذکور درختان بلوط می‌باشند، ولی به‌سبب پلی‌فاژ بودن آن‌ها به‌ویژه در مواقعی که تراکم جمعیت رو به‌فزونی می‌رود روی اکثر درختان و درختچه‌های جنگلی و حتی باغی تغذیه نموده و میزبان‌های خود را عاری از برگ می‌کنند. طی طغیان‌های اخیر پروانه ابریشم‌باف ناجور در ارسباران علاوه بر درختان پهن برگ، درختان سوزنی برگ دست کاشت (در منطقه کلاله علیا و وایان) نیز مورد هجوم لاروهای آفت قرار گرفته و خسارت چشم‌گیری را متحمل شده‌اند. درختان بلوط (شامل دو گونه *Qurecus petraea* Krassiin و *Q. macranther* Fish & Meyer) و ممرز (شامل دو گونه *Carpinus orientalis* Mill. و *C. betulus* L.) به‌ترتیب از میزبان‌های اصلی و

1- *Euproctis chrysorhoea*
2- *Lymantria dispa*r
3- *Leucoma wiltshirei*

ترجیحی پروانه ابریشم‌باف ناجور هستند، ولی همان‌طور که اشاره شد اکثر گونه‌های جنگلی از جمله *Prunus spinosa*، *Malus orientalis*، *Cotoneaster* sp.، *C. meyer*، *Crataegus orientalis*، *A. monspessulanum*، *Acer hgrcanum*، *Sorbus*، *Ulmus glabra*، *Rosa iberica*، *Rosa canina*، *Pyrus* spp.، *Mespilus germanica*، *Paliurus spina–christi*، *graeca*، *Lonicera*، *J. excelsa*، *Juniperus oblanga*، *Sorbus sp.*، *Rubus caesius*، *Salix sp.*، *Salix aegyptica*، *iberica*، *Cerasus avium*، *C. mahaleb*، *Cornus mas*، *Berberis vulgaris*، *Celtis caucasica* و *Corylus avellana* و حتی گونه‌های باغی میزبان‌های بعدی پروانه ابریشم‌باف ناجور در ارسباران می‌باشند (Nikdel & Sadaghian, 2001). بیشترین تغذیه این آفت توسط لاروهای سنین آخر صورت می‌گیرد که در مدت کوتاهی خسارت قابل توجهی را ایجاد می‌کنند. بروز خسارت آفت در سال‌های متوالی موجب ضعف درختان شده، آن‌ها را مستعد حمله آفات ثانوی از جمله چوب‌خواران و پوست‌خواران و حتی پاتوژن‌های مختلف خواهد کرد و در نتیجه باعث انهدام درختان و درختچه‌ها می‌گردد.

با توجه به گسترش وسیع، تنوع میزبان‌ها و خسارت شدید پروانه ابریشم‌باف ناجور در دنیا، در مقاطع مختلف زمانی از سموم متعددی نظیر کاربارایل، دیفلوبنزرون، مالاتیون، متوکسی‌کلر، تری کلروفن، پیرترین و نیز دیمیلین از گروه حشره‌کش‌های بازدارنده رشد[1] برای کنترل آن استفاده شده است. با مشخص شدن عوارض زیست محیطی سموم شیمیایی مذکور و مخاطرات گسترده کاربرد آن‌ها در عرصه‌های جنگلی و از طرفی تاثیر نامطلوب سموم بازدارنده رشد در حشرات غیر هدف و سایر موجودات تولید کننده کیتین، امروزه استفاده از عوامل میکروبی نظیر قارچ‌ها و باکتری‌ها به‌عنوان مهم‌ترین گزینه در کنترل آفات جنگلی از جمله ابریشم‌باف ناجور محسوب می‌شود (Reardon *et al.*, 1994).

باکتری *Bacillus thuringiensis* یکی از باکتری‌های حشره‌کش متداول در کنترل جمعیت پروانه ابریشم‌باف ناجور در دنیا می‌باشد (Reardon *et al.*, 1994; Liebhold & McManus 1999). به‌ویژه در مناطقی که آفت تازه شیوع یافته و فاقد دشمنان طبیعی در آن منطقه می‌باشد، کاربرد این باکتری حایز اهمیت بیشتری است (Frederici & Maddox 1996). با اهمیت‌ترین موضوع در کاربرد *Bt* این است که برخلاف سموم شیمیایی تهدیدی نسبت به بهداشت و سلامتی انسان یا حیوانات دیگر ایجاد نمی‌کند. باکتری *B. thuringiensis* هم‌زمان با تشکیل اسپور در داخل اسپورانژیوم، تولید بلورهای سمی[2] می‌کند که عمدتا لوزی شکل بوده و حاوی دلتا اندوتوکسین می‌باشند. این بلورهای لوزی شکل خاصیت بیماری‌زایی روی حشرات را ایجاد نموده و نیز وجه تمایز *B. thuringiensis* از سایر گونه‌های باسیلوس هستند (Marzban, 2002). یکی از مشکلات عمده استفاده از باکتری *Bt* در کنترل این آفت تاثیرپذیری باکتری از شرایط آب و هوایی، روش کاربرد، سن لارو، گیاه میزبان و تنوع ژنوتیپی در لاروهای حشره می‌باشد (Rossiter *et al.*, 1990; Farrar *et al.*, 1996) بنابراین، لازم است در هر یک از کانون‌های آلوده به آفت، بررسی‌هایی در رابطه با نحوه و میزان اثرگذاری فاکتورهای فوق‌الذکر در تاثیر *Bt* صورت پذیرد. به‌علت طغیان‌های وسیعی که در سال‌های اخیر توسط ابریشم‌باف ناجور در اکثر مناطق ارسباران رخ داده است، در جهت کنترل جمعیت آفت و به‌منظور پیش‌بینی تدابیر کنترلی آن از سال ۱۳۸۳ به‌مدت سه سال تاثیر دو فرآورده *B. thuringiensis* شامل *BtH* (تولید داخل کشور) و *Btk* (فرآورده تجاری دایپل[3]) بر لاروهای ابریشم‌باف ناجور در شرایط ارسباران مورد مطالعه قرار گرفت.

1- IGR
2- Crystal
3- Dipel

مواد و روش‌ها

محل انجام آزمایش: برای انجام مطالعه ابتدا محلی که بتواند با مشخصات عمومی ارسباران تطبیق داشته و امکان محافظت از اداوات آزمایش وجود داشته باشد، انتخاب گردید. به این ترتیب نهالستان سوزنی برگان در محدوده ایستگاه تحقیقاتی جنگل ارسباران در حدفاصل روستاهای کلاله علیا و گرمناب انتخاب شد. این محل یکی از کانون‌های مهم آلودگی به پروانه ابریشم‌باف ناجور در چند سال اخیر بوده و دارای پوشش درختی مخلوطی از پایه‌های طبیعی درختان ممرز، بلوط و همچنین پایه‌های طبیعی و نهال‌های دست کاشت سوزنی برگان شامل کاج میلاد .*Picea* sp، *Pinus sylvestris*، *P. brotia*، *P. nigra var. austriaca* و *P. eldarica* می‌باشد.

تعیین دزها و نوع *Bt* مصرفی: بعد از انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی اولیه و تعیین LC_{50} و LC_{90} در آزمایشگاه (توسط موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور و سفارش دهنده انجام طرح)، تیمارهای آزمایشی توصیه شده برای آزمایش صحرایی عبارت بودند از سه غلظت، پایین، متوسط و بالای (به‌ترتیب ۱/۲، ۳ و ۶ گرم در لیتر) فرآورده میکروبیولوژیک (*BtH*) ساخت داخل و یک غلظت از فرآورده *Bt*k با نام تجارتی Dipel به میزان ۱/۲ گرم در لیتر و آب خالص (به‌عنوان شاهد) بودند. بدین ترتیب آزمایش‌ها با پنج تیمار (چهار تیمار *Bt* به‌علاوه شاهد) در سه تکرار و در دو مرحله (مرحله اول هم‌زمان با سن دوم لاروی و مرحله دوم هم‌زمان با سن چهارم لاروی) در طبیعت انجام گرفت.

باکتری پاشی: در هر مرحله آزمایش ابتدا پانزده اصله درخت بلوط آلوده به آفت به فاصله تقریبی ۱۰ تا ۱۵ متر به‌صورت تصادفی انتخاب شده، پلاک حاوی نام تیمار و شماره تکرار روی آن‌ها نصب گردید. در هر درخت انتخابی، شاخه مناسبی به طول ۳۰ سانتی‌متر با برگ‌های سالم انتخاب و با تیمار آزمایشی مد نظر باکتری پاشی شد. سپس لاروهای آزمایشی روی شاخه‌ها رها گردیده و با آستین توری کیسه‌ای شکل که شاخه در آن قرار گرفته و قسمت پایین آن با کش بسته می‌شد، محصور گردیدند. بدین ترتیب شاخه انتخاب شده عاری از هر گونه آفت (به غیر از لاروهای آزمایشی) و نیز دشمنان طبیعی بودند. در پاشش باکتری که در اوایل یا اواخر روز انجام می‌گرفت، برای هر یک از تیمارها از سمپاش‌های دستی دو لیتری مجزا استفاده گردید. سمپاش‌های مورد استفاده ساخت کشور هلند با مارک Hogdruk بودند. مقادیر لازم از هر دو فرآورده *Bt* قبلا توزین شده و در ظروف پلاستیک آماده شده بودند تا در حین استفاده مقدار لازم آب به آن‌ها اضافه شده و به غلظت نهایی رسانده شوند. برای رعایت دقت لازم سمپاش‌ها و ظروف و حتی وسیله بهم‌زن هر تیمار با اتیکت علامت‌گذاری شدند. برای تامین لاروهای یکنواخت و هم سن در انجام آزمایش لاروهای سن دوم و چهارم از روی درختان بلوط محل آزمایش یا نواحی هم‌جوار جمع‌آوری و به تعداد ۳۰ عدد لارو سن دوم (دوره اول) یا سن چهارم (دوره دوم) که از نظر وزن و جثه یکنواخت و همسان بودند در شاخه مورد نظر رهاسازی شدند. در سم‌پاشی هر شاخه ۶۰۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون حاوی تیمارهای مورد نظر جهت آغشته نمودن شاخه‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

آمار برداری: کار آماربرداری از مرگ و میر لاروهای تیمار شده بعد از گذشت زمان‌های ۱، ۳، ۷ و ۱۴ روز از سم‌پاشی انجام گرفت. به‌طوری که در هر بازدید از شاخه‌های تحت آزمایش لاروهای مرده ریخته شده شمارش و لاروهای زنده مجددا به داخل آستین و روی شاخه برگردانده می‌شدند و لاروهای مرده به تفکیک هر تیمار در ظروف پلاستیکی مشخص به آزمایشگاه انتقال داده شدند تا با بازدید روزانه احتمال خروج دشمن طبیعی از آن‌ها مد نظر قرار گیرد. در نمونه‌برداری روز چهاردهم هر دوره آستین‌های توری به‌طور مرتب باز و ضمن شمارش لاروهای تلف شده لاروهای زنده هر تیمار جهت بررسی تاثیر تیمارها روی دشمنان طبیعی به آزمایشگاه منتقل و ادامه مراحل زیستی و

خروج دشمنان طبیعی از لاروها تحت مطالعه قرار گرفتند. ادامه زندگی لاروهای زنده مورد تیمار در جعبه‌های پرورش به همراه برگ‌های بلوط و در داخل آزمایشگاه انجام گرفت و بازبینی روزانه از خروج احتمالی دشمنان طبیعی حشره انجام و براساس نوع گونه و تعداد یادداشت‌برداری شد. این مرحله تا تبدیل لاروها به حشره کامل و خروج حشرات کامل ابریشم‌باف ناجور ادامه یافت. علاوه بر لاروها، برگ‌های تغذیه شده توسط لاروها نیز در روز چهاردهم از شاخه‌ها جدا شدند تا خسارت وارده از طریق لاروهای هر تیمار به‌طور جداگانه محاسبه گردد. به‌طوری که کل برگ‌های آسیب دیده در هر تیمار، با توجه به اندازه سطح خورده شده، در پنج سطح خسارت شامل سطوح تغذیه ۵- ۲۰ درصد، ۲۱- ۴۰ درصد، ۴۱- ۶۰ درصد، ۶۱- ۸۰ درصد و ۸۱- ۱۰۰ درصد تقسیم‌بندی شده و به‌ترتیب با کدهای یک تا پنج مشخص شدند. سپس تعداد برگ‌های مورد تغذیه قرار گرفته متعلق به هر سطح در هر تیمار شمارش گردیدند. داده‌های مربوط به درصد مرگ و میر ناشی از دو فرآورده مورد آزمایش در قالب آزمون اسپلیت پلات و داده‌های مربوط به میزان خسارت و تعداد برگ‌های خسارت دیده در قالب بلوک‌های کامل تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و رسم جدول‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام گرفت.

نتایج

داده‌های حاصل از انجام آزمایش و تجزیه واریانس مرکب درصد تاثیر تیمارهای مختلف فرآورده *B. thuringiensis* علیه آفت نشان داد که بین تیمارهای فرآورده‌های به‌کار رفته (دایپل تجاری و دزهای ۱/۲، ۳ و ۶ گرم در لیتر *Bt* تولید داخل) اختلاف معنی‌دار وجود دارد (F=37.3, df=4, P>0.0001) و بین زمان‌های مختلف تاثیر بعد از پاشش (۱، ۳، ۷ و ۱۴ روز) نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (F=465, df=3, P>0.0001) اما بین دو سن لاروی مورد آزمایش (سنین دوم و چهارم) اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (F=0.06, df=1, P>0.8044).

مقایسه میانگین مرگ و میر لاروهای ناشی از تاثیر تیمارهای مختلف *Bt* طی دو سال نشان داد که تیمار دایپل و تیمار *BtH* با دز ۶ گرم در لیتر (به‌ترتیب با میانگین تلفات ۲۹/۲۳ و ۲۳/۰۵ درصد) بیشترین و دز ۱/۲ گرم در لیتر *BtH* (با میانگین تلفات ۱۳/۶۱ درصد) کمترین اثر را دارد. فرآورده دایپل و *BtH* با دز ۶ گرم در لیتر نسبت به سایر تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان دادند، در حالی که بین دزهای ۱/۲ و ۳ گرم در لیتر*BtH* هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول ۱).

در مقایسه میانگین درصد مرگ و میر لاروها در زمان‌های تاثیر تیمارها، روز چهاردهم بعد از سم‌پاشی (با میانگین تلفات ۴۸/۵۵ درصد) اختلاف معنی‌داری نسبت به روز هفتم بعد از پاشش (با میانگین تلفات ۱۹/۸۸ درصد) نشان داد و در هر دو زمان بالاترین میزان مرگ و میر لاروی رخ داد، ولی در روزهای اول و سوم بعد از پاشش تلفات لاروها اندک بود و فاقد اختلاف معنی‌دار بودند (جدول۲)

مقایسه میانگین میزان تغذیه و تعداد برگ‌های مورد تغذیه توسط لاروهای سنین دوم و چهارم ابریشم‌باف ناجور در هر تیمار تا روز چهاردهم نشان داد که در مورد لاروهای سن دوم نسبت به لاروهای سن چهارم، تغذیه در سطوح سه، چهار و پنج خیلی کم می‌باشد. در جدول ۴ مقایسه میانگین تعداد برگ‌های تغذیه شده به تفکیک هر سطح تغذیه‌ای نشان داده شده است. چنانچه در داده‌های جدول مشاهده می‌گردد، ادامه تغذیه در لاروهای سن دوم امکان‌پذیر نبوده و عمدتا تغذیه آن‌ها در دو سطح یک (۵-۲۰٪) و دو (۲۱-۴۰٪) رخ داده است در حالی‌که با توجه به داده‌های جدول ۵ در مورد

لاروهای سن چهارم تمامی سطوح تغذیه‌ای (از یک تا پنج) در برگ‌ها قابل مشاهده است. به‌طوری که حتی تا سطح ۱۰۰٪ نیز خسارت در برگ‌های تیمار شده دیده می‌شود.

جدول ۱- مقایسه میانگین درصد مرگ و میر لاروهای ابریشم‌باف ناجور ناشی از کاربرد *Bt* در طی سال‌های ۱۳۸۴ و ۱۳۸۵

Table 1- Mean mortality comparison of *L. dispar* larvae exposed to different doses of *Bt* during 2006 and 2007

Treatment	%Mean mortality
Control	7.43 [d]
Dipel (1.2 gr/l)	29.33 [a]
BtH (1.2 gr/l)	13.61 [c]
BtH (3 gr/l)	15.61 [c]
BtH (6 gr/l)	23.05 [b]
LSD %5	3.46

* Means within column followed by the same letter not found significant (P<0.05)

جدول ۲- مقایسه میانگین مرگ و میر لاروهای ابریشم‌باف ناجور در زمان‌های مختلف تاثیر *Bt* طی سال‌های ۱۳۸۴ و ۱۳۸۵

Table 2- Mean mortality comparison of *L. dispar* larvae in different times of exposed during 2006 and 2007

Elapsed time after spraying (day)	%Mean mortality
1	0.278 c
3	2.722 c
7	19.88 b
14	48.55 a
LSD %5	3.099

* Means within column followed by the same letter not found significant (P<0.05)

به‌طور کلی در هر دو سن لاروی دوم و چهارم، لاروهای زنده مانده در تیمارها نسبت به لاروهای شاهد، در ادامه رشد خود با اختلالاتی مواجه شده و عمدتا این لاروها دارای بدنی لاغر و چروکیده بودند به‌طوری که کپسول سر آن‌ها خیلی عریض‌تر از بدن دیده می‌شد. اکثر این لاروها سیکل ناقصی را در ادامه زندگی طی نمودند.

در طی دو سال ۱۳۸۴ و ۱۳۸۵ در مجموع هفت گونه دشمن طبیعی در ارتباط با لاروها و شفیره پروانه ابریشم‌باف ناجور در ارسباران مشاهده شدند. این گونه‌ها شامل دوگونه زنبور از خانواده Braconidae، یک گونه زنبور از خانواده Torymidae، نماتد *Hexamermis albicans* Siebold پارازیت لارو آفت از خانواده Mermithidae، یک گونه زنبور از خانواده Pteromalidae، زنبوری از خانواده Eluphidae و سوسک کارابید *Calosoma scycophanta* L. بودند که در طول بررسی‌ها به‌وفور در محل‌های مختلف مشاهده شدند. اما دشمنان طبیعی خارج شده از لاروهای تحت تیمار زنده مانده عمدتا شامل زنبورهای پارازیتویید Braconidae و Torymidae و نماتد انگل Mermithidae بودند (جدول ۳). از مجموع ۸۵ نمونه نماتد خارج شده در سال ۱۳۸۴ تعداد ۷۰ نمونه (۸۲٪) مربوط به لاروهای سن دوم و بقیه (۱۸٪) متعلق به لاروهای سن چهارم بودند. در سال ۱۳۸۵ هیچ آلودگی نماتدی در لاروها دیده نشد و تنها زنبورهای پارازیتویید از لاروهای زنده مانده خارج شدند. مقایسه میانگین درصد زنبورهای پارازیتویید و نماتد انگل خارج شده از لاروهای تحت تیمار نشان داد که درصد خروج این دشمنان طبیعی در سال دوم نسبت به سال اول حدود سه برابر افزایش یافته است با این وجود در سال دوم نیز تاثیر تیمارهای *Bt* بر خروج دشمنان طبیعی کاملا مشهود بود. به‌طوری که در طی دو سال بررسی تعداد دشمنان طبیعی خارج شده از لاروهای زنده مانده در تیمارهای دز پایین، دز متوسط و دز بالای *BtH* و Dipel به‌ترتیب ۱۲/۳، ۳۴/۷، ۵۹/۱۸ و ۸۱/۶ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت و در این رابطه دز بالای *BtH* (فرآورده تولید داخل) و Dipel بیشترین تاثیر در کاهش دشمنان طبیعی داشتند (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه تعداد دشمنان طبیعی خارج شده از لاروهای زنده مانده تحت تیمار ابریشم‌باف ناجور طی سال‌های ۱۳۸۴ و ۱۳۸۵

Table 3- Comparing the number of natural enemies of gypsy moth emerged from surviving treated larvae during 2006 and 2007

Treatment	2006		2007		Two years		
	Wasp numbers	Nematode numbers	Wasp numbers	Nematode numbers	Wasp numbers	Nematode numbers	Reduction of natural enemies (%)
Control	10	27	12	0	22	27	-
BtH (1.2 gr/l)	3	24	16	0	19	24	12.3
BtH (3 gr/l)	3	17	12	0	15	17	34.7
BtH (6 gr/l)	-	12	8	0	8	12	59.18
Dipel (1.2 gr/l)	2	5	2	0	4	5	81.6

جدول ۴- مقایسه میانگین میزان تغذیه لاروهای سن دوم از برگ‌های تحت تیمار *Bt*

Table 4- Comparison of mean amount of 2nd instar larvae feeding on *Bt* treated leaves

Treatment	The number of eaten leaves at each level				
	Level 1 (5-20%)	Level 2 (21-40%)	Level 3 (41-60%)	Level 4 (61-80%)	Level 5 (81-100%)
Control	102.33 ab	29.33 a	28.7 a	11 a	11.6 a
BtH (1.2 gr/l)	149 a	12.4 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b
BtH (3 gr/l)	113 ab	6.33 b	0.33 b	0.00 b	0.00 b
BtH (6 gr/l)	117.32 ab	9.7 b	0.33 b	0.00 b	0.00 b
Dipel (1.2 gr/l)	94.67 ab	2.66 b	0.00 b	0.00 b	0.00 b
LSD %5	48.31	10.27	13.58	5.12	8.47

جدول ۵- مقایسه میانگین میزان تغذیه لاروهای سن چهارم از برگ‌های تحت تیمار *Bt*

Table 5- Comparison of mean amount of 4th instar larvae feeding on *Bt* treated leaves

Treatment	The number of eaten leaves at each level				
	Level 1 (5-20%)	Level 2 (21-40%)	Level 3 (41-60%)	Level 4 (61-80%)	Level 5 (81-100%)
Control	42 b	83.67 a	53.32 a	28.66 a	29.66 a
BtH (1.2 gr/l)	113 a	38 b	15.3 b	6 b	2 b
BtH (3 gr/l)	122.6 a	34.33 b	10 b	9 b	1.7 b
BtH (6 gr/l)	109.6 a	16.67 b	5.23 b	.33 b	0.00 b
Dipel (1.2 gr/l)	125.3 a	13.7 b	5 b	3.66 b	0.00 b
LSD %5	38.033	32.16	13.53	16.22	13.98

بحث

در تجزیه واریانس داده‌های حاصل از تاثیر تیمارهای مختلف *Bt* روی لاروهای ابریشم‌باف ناجور ملاحظه می‌شود که آفت‌کش‌های *Bt* تجاری Dipel و *BtH* (فرآورده تولید داخل)با دز ۶ گرم در لیتر نسبت به سایر تیمارها دارای اختلاف معنی دار بوده (F=37.3, df=4, P>0.0001) و با توجه به میانگین مرگ و میر نسبتا نزدیک به‌هم حاصل از دو فرآورده که به‌ترتیب ۲۹,۲۳٪ و ۲۳,۰۵٪ برای Dipel و دز بالای *BtH* به‌دست آمده است و نیز به‌دلیل تاثیر منفی زیاد Dipel در جلوگیری از خروج دشمنان طبیعی (جدول ۳)، می‌توان از *Bt* تولید داخل با دز بالا در تلفیق با سایر روش‌های کنترل پرونه ابریشم‌باف ناجور به‌عنوان جایگزین Dipel استفاده نمود. به شرط این‌که قیمت تمام شده آن برای استفاده کنندگان نسبت به نوع مشابه خارجی با صرفه‌تر باشد. از طرفی مقایسه میانگین سطوح تغذیه لاروهای سن دوم و چهارم روی برگ‌های تیمار شده (جدول‌های ۴ و ۵) نشان داد که ادامه تغذیه در لاروهای سن دوم به‌علت تاثیر سریع تیمارهای باکتری

و در نهایت مرگ سریع لاروها امکان‌پذیر نبوده است. اما در مورد لاروهای سن چهارم به‌دلیل تاثیر بطئی سم، تغذیه لاروها تا سطح ۱۰۰٪ هم ادامه یافته است و لذا کاربرد *Bt* در سن دوم لاروی پروانه ابریشم‌باف ناجور اثر مطلوب‌تری دارد. بنابراین می‌توان گفت کاربرد فرآورده Dipel و غلظت بالای *BtH* علیه سن دوم لاروی آفت ابریشم‌باف ناجور در ارسباران نسبت به سایر تیمارها و نیز نسبت به کاربرد *Bt* علیه سن چهارم لاروی آن تاثیر بیشتری خواهد داشت.

طبق بررسی‌های عسگری و همکاران در رابطه با اثر *B. thuringiensis* روی لاروهای کرم ساقه‌خوار اروپایی ذرت نیز نتایجی مشابه نتایج این بررسی به‌دست آمده است. به‌طوری که با افزایش زمان تاثیر تلفات بیشتری در لاروها ایجاد شده و حساسیت سن اول لاروی نسبت به لاروهای سنین بالا بیشتر بوده است (Askary *et al*., 2001).

دشمنان طبیعی بهترین عوامل کنترلی ابریشم‌باف ناجور محسوب می‌شوند. این عوامل خصوصا زمانی که جمعیت حشره بالا نبوده و در حالت طغیانی نیست موجب نگهداری حشره زیر سطح زیان اقتصادی می‌شوند (Tobina *et al*., 2012). از این رو در ارسباران نیز این موضوع به وضوح مشاهده می‌شود. در بررسی‌های قبلی در منطقه عواملی نظیر زنبور *Monodontomerus aereus* Walker پارازیتویید شفیره آفت از خانواده Torymidae، زنبورهای *Glyptapanteles porthetriae* Mues. و *G. indiensis* (Wilk.) پارازیتویید لارو آفت از خانواده Braconidae، زنبور *Brachymeria intermedia* (Nees) پارازیتویید شفیره آفت از خانواده Chalcididae، نماتد *Hexamermis albicans* Siebold پارازیت لارو از خانواده Mermithidae و دو گونه ناشناخته از مگس‌های خانواده Tachinidae به‌عنوان پارازیتویید شفیره معرفی شده‌اند (Nikdel *et al*., 2002) اما دشمنان طبیعی خارج شده از لاروهای تحت تیمار زنده مانده در این بررسی عمدتا شامل زنبورهای پارازیتویید Braconidae و Torymidae و نماتد انگل Mermithidae بودند (جدول ۳). مقایسه میانگین تعداد دشمنان طبیعی خارج شده از لاروهای تحت تیمار نشان داد که با افزایش تاثیر باکتری امکان خروج دشمنان طبیعی از لاروهای زنده مانده تحت تیمار کاهش می‌یابد و در این رابطه غلظت‌های ۶ گرم در لیتر باکتری بیشترین تاثیر در کاهش دشمنان طبیعی را داشتند. در سال دوم آزمایش برخلاف سال اول هیچ نماتدی از لاروهای تیمار شده خارج نشد که این موضوع به‌احتمال قوی به پراکنش لکه‌ای این نماتدها مربوط می‌شود نه به تاثیر باکتری. به‌عبارت دیگر محل جمع‌آوری لاروهای مورد آزمایش در سال ۱۳۸۵ غیر از محل مربوط به سال ۱۳۸۴ بود که کانونی عاری از آلودگی به نماتد بوده است (جدول ۳).

مشابه نتایج فوق در مورد تاکینیدهای *Compsilura concinnata* (Meigen) و *Blepharipa pratensis* (Meigen) (Ticehurst *et al*., 1982) و هم چنین در رابطه با زنبور کالسیدیده *B. intermedia* (Reardon *et al*., 1979) گزارش گردیده است. در حالی‌که سایر مطالعات نشان داده است در کنترل با باکتری *Bt* میزان پارازیتیسم توسط زنبور *Cotesia melanoscelus* (Ratz.) افزایش یافته و حالت هم‌افزایی[1] ایجاد می‌شود. علت این هم‌افزایی را ایجاد تاخیر در رشد لاروهای *L. dispar* در نتیجه ایجاد حالت فلجی در سیستم گوارش آن‌ها بعد از تغذیه از دزهای زیرکشنده *Bt* دانسته‌اند (Andreadis *et al*., 1983 و Weseloh *et al*., 1983).

همان‌طور که اشاره شد تاثیر Dipel و دز ۶ گرم در لیتر *BtH* در کنترل لاروهای پروانه ابریشم‌باف ناجور بیشتر است ولی از طرفی دو فرآورده مذکور بر خروج دشمنان طبیعی آفت از بدن لاروهای تحت تیمار اثر بازدارنده دارند که ظاهرا نوعی امتیاز منفی در کاربرد باکتری به‌نظر می‌رسد. در توضیح این موضوع باید اشاره نمود که اکثر پارازیتویید‌های آفت در ارسباران به‌جز نماتد *H. albicans* پس از سن دوم لاروی آفت را مورد حمله قرار می‌دهند

1- Synergism

(Nikdel & Sadaghian, 2001). با توجه به این‌که مناسب‌ترین زمان کاربرد *B. thuringiensis* سن دوم لاروی آفت ذکر شد لذا با رعایت این شرط صدمه کمتری به دشمنان طبیعی ذکر شده وارد خواهد گردید.

بر اساس بررسی‌هایMarchenko و همکاران با اضافه کردن مقداری از Dimilin (۱۰kg/ha) به محصولات *Bt* اثر سینرژیستی بروز کرده و مقدار مصرف *Bt* تا۴۰٪ کاهش می‌یابد (Marchenko *et al.*, 1982). همچنین آزمایش‌های Novotny & Svestka (1986) و Novotny (1988) نشان داده است که استفاده از اختلاط *Bt* و دز زیرکشندگی Dimilin (به‌میزان ۱۰Kg/ha -۵) علاوه بر بهبود تاثیر *Bt* در شرایط بارندگی و بدی آب و هوا، سبب بروز پدیده سینرژیستی شده و اثر *Bt* را ۱۶ تا ۲۱ درصد افزایش می‌دهد. بر این اساس به‌نظر می‌رسد بررسی امکان استفاده تلقیقی از فرآورده‌های IGR به‌همراه *Bt* و اثر نسبت‌های مختلف اختلاط دو فرآورده در کنترل پروانه ابریشم‌باف ناجور در ارسباران ضرورت داشته باشد.

References

Abaei, M. 2000. Pests of forest trees and shrubs of Iran. Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran, 178 pp. [In Persian with English summary].

Alijanpour, A. and Mahmoudzadeh, A. 2007. Investigation and comparison of natural regeneration structure of forest stands in protected and non-protected areas in Arasbaran. Pakistan Journal of Biological Sciences, 10: 1697-1702.

Andreadis, T. G., Dubois, N. R., Moore, R. E. B., Anderson, J. F. and Lewis, F. B. 1983. Single applications of high concentrations of *Bacillus thuringiensis* for control of gypsy moth populations and their impact on parasitism and disease. Journal of Economic Entomology, 76: 1417-1422.

Askary, H., Kharai Pakdel, A. and Sadeghi, S. E. 2001. Evaluation of *Bacillus thuringiensis* Ber. on *Ostrinia nubilalis* (Lep.: Pyralidae) Larvae. Journal of Entomological Society of Iran, 21: 89-106. [In Persian with English summary].

Farrar, R. R., Martin, P. A. W. and Ridgway, R. L. 1996. Host plant effects on activity of *Bacillus thuringiensis* against gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae) larvae. Environmental Entomology, 25: 1215-1223.

Frederici, B. A., and Maddox, J. V. 1996. Host specificity in microbe-insect interactions. BioScience, 46: 410-421.

Jalili, A., Hamzeh'ee, B., Asri, Y., Shirvany, A., Yazdani, S., Khoshnevis, M., Zarrinkamar, F., Ghahramani, M. A., Safavi, R. and Shaw, S. 2003. Soil seed banks in the Arasbaran protected area of Iran and their significance for conservation management. Biological Conservation, 109: 425-431.

Liebhold, A., and McManus, M. 1999. The evolving use of insecticides in gypsy moth management. Journal of Forests, 97: 20-23.

Marchenko, Y. I., Fokin, A. S., Kirienko, N. G. and Chupriyanov, Y. M. 1982. The effectiveness of bacterial preparation against *Lymantria monacha* and *Bupalus piniarius*. Lesnoe Khizyaistva, 690pp.

Marzban, R. 2002. Comparative bioassay of native isolates of *Bacillus thuringiensis* and *B.thuringiensis* subsp.kurstaki on Indian meal moth (*Plodia interponctella* Habner). Applied Entomology and Phytopathology, 70: 83-90. [In Persian with English summary].

Nikdel, M. and Sadaghian, B. 2001. Biology and natural enemies of gypsy moth in Arasbaran forests (Iran). Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources 8: 29-37. [In Persian with English summary].

Nikdel, M., Sadaghian, B., Dordaei, A. A. and Tavanaei G. H. 2002. First record of mermithid entomopathogenic nematode, *Hexamermis* sp. on *Euproctis chrysorhoea* L. from Iran. Pajouhesh-va-Sazandegi, 14: 102-103. [In Persian with English summary].

Novotny, J. 1988. Sussceptibility of *Lymantia dispar* (Lep., Lymantriidae) larvae to *Bacillus thuringiensis* and two multing inhibitors alon and in combination. Anzeiger Fur Schadlingskund Pflunzenchutz Umweltschutz, 16: 11-14.

Novotny, J. and Svestka, M. 1986. Synergism of biological and chemical insecticides against larvae of the Gypsy moth (Lep., Lymantriidae). Lesnictvi, 32(12): 1115-1128.

Reardon, R. C., Metterhouse, W. and Balaam, R. 1979. Impact of aerially-applied *Bt* and carbaryl on gypsy moth and adult parasites. Entomophaga, 24: 305-310.

Reardon, R., Dubois, N. R. and McLane, W. 1994. *Bacillus thuringiensis* for managing gypsy moth: a review. National Center of Forest Health Management FHM-NC-01-94.

Rossiter, M., Yendol, W. G. and Dubois, N. R. 1990. Resistance to *Bacillus thuringiensis* in gypsy moth (Lepidoptera: Lymantriidae): genetic and environmental causes. Journal of Economic Entomology, 83: 2211-2218.

Ticehurst, M., Fusco, R. A. and Blumenthal, E. M. 1982. Effects of reduced rates of Dipel 4L, Dylox 1.5 Oil, and Dimilin W-25 on *Lymantria dispar* parasitism and defoliation. Environmental Entomology, 11: 1058-1062.

Tobina, P. C., Bai, B., Eggen, D. A. and Leonard, **D. S. 2012.** The ecology, geopolitics and economics of managing *Lymantria dispar* in the United States. International Journal of Pest Management, 58: 195-210.

Weseloh, R. M., Andreadis, T. G., Moore, R. E. B., Dubois, N. R., Anderson, J. F. and Lewis, F. B. 1983. Field confirmation of a mechanism causing synergism between *Bacillus thuringiensis* and the gypsy moth parasitoid, *Apanteles melanoscelus*. Journal of Invertebrate Pathology, 41:99-103.

Journal of Entomological Research

Volume 5, Issue 2, pages: 171-181

Islamic Azad University, Arak Branch
ISSN 2008-4668
www.entomologicalresearch.ir

Evaluation the effect of two products of *Bacillus thuringiensis* on *Lymantria dispar* L. (Lep., Lymantriidae) larvae in the Arasbaran forests, Iran

M. Nikdel[1]*, R. Omid[2], A. A. Dordaei[1]

1- Respectively Assistant Professor and Lecturer, Research Center of Agriculture and Natural Resources of East Azarbaijan, Tabriz, Iran
2- Lecturer, Research Institute of Forest and Rangelands, Tehran, Iran

Abstract

The gypsy moth, *Lymantria dispar* L. (Lep., Lymantriidae) is one of the most destructive pests of forest shrubs and trees throughout the Arasbaran region (East Azarbaidjan, Iran). The pest causes serious periodical damage on its host plant species, especially oak trees. In this study, the effects of two formulations of *Bacillus thuringiensis* containing *Btk* (commercial product Dipel) and *BtH* (made in Iran) were evaluated on gypsy moth larvae. Results showed that there was a significant difference between Dipel and *BtH*. Dipel (1.2 g/L) and *BtH* (6 g/L) treatments caused maximum mortality 29.23% and 23.05%, respectively and 1.2 g/L dosage of *BtH* with average 13.61% caused the less mortality on the pest larvae. Mean comparison of *L. dispar* larvae mortality in different times after treatments (for both formulations) indicated that there was no significant difference between 1 and 3 days, but difference between those two mentioned days with 7 and 14 days was significant, so that the treatment effect increased with time. By comparing the number of parasitoid wasp and nematode emerged from treated survived larvae, the treatments effects on natural enemies was quite evident. Natural enemies emerged from larvae treated by 1.2 g/L, 3 g/L and 6 g/L dosage of *BtH* and Dipel were reduced 12.3, 34.7, 59.8 and 81.6 percent, respectively in comparison to control. In other words, by increasing the effectiveness of *Bt* treatments, the possibility of natural enemies emergence was reduced. In this regard, high concentrations of *BtH* and Dipel have the most impact in reduction of natural enemies emerging. Assessment of larval feeding on the treated leaves revealed that because of the rapid effects of *Bt* to 2nd instar larvae, there was no possibility to continue their feeding. But in the 4th instar larvae, because of slow effects of *Bt*, their feeding on leaves in some treatments continued for up to 100 percent. Thus, application of Dipel and high dosage *BtH* against 2nd instar larvae of the pest will be more effective than other treatments in Arasbaran forests.

Key words: Arasbaran forest, *Bacillus thuringiensis*, Bioassay, Gypsy moth, Oak trees

* Corresponding author, E-mail: *mnikdel1374@gmail.com*
Received: 2 Feb. 2012 - Accepted: 22 Nov. 2012