آفات و بیماری‌های گیاهی
جلد ۷۳، شماره ۱، شهریور ۱۳۸۴

زیست‌سنجی چند جدایه ایرانی *Bacillus thuringiensis* (Bacteria: Bacillaceae) روی کرم قوزه پنبه *Helicoverpa armigera* (Lep.: Noctuidae)

Bioassay of some Iranian strains of *Bacillus thuringiensis* (Bacteria: Bacillaceae) against *Helicoverpa armigera* (Lep.: Noctuidae)

سودابه ایزدیار[۱]، حسن عسکری[۲]، خلیل طالبی جهرمی[۳] و محمدرضا رضاپناه[۱]

۱- مؤسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی، تهران

۲- مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، تهران

۳- دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران

(تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۸۱، تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۸۳)

چکیده

این بررسی برای ارزیابی کارایی تعدادی جدایه‌های ایرانی باکتری *Bacillus thuringiensis* (Bacteria: Bacillaceae) روی کرم قوزه پنبه *Helicoverpa armigera* Hub. انجام گرفت. جدایه‌های مذکور به روش‌های استاندارد از خاک‌های مناطق جنگلی شمال کشور و خاک‌های زراعی نقاط مختلف ایران جدا گردید. تفاوت‌های بیولوژیک ۱۲ جدایه ایرانی و دایپل به عنوان شاهد روی لاروهای چهار روزه کرم قوزه پنبه، در قالب یک طرح آماری کاملاً تصادفی با ۱٤ تیمار، سه تکرار و هر تکرار شامل ۱۵ عدد لارو انجام شد. مرگ و میر لاروها پس از سه، هفت و سیزده روز تغذیه از غلظت باکتری که با غذای مصنوعی تهیه شده بود، ارزیابی شد. مقایسه میانگین مرگ و میر ایجاد شده روی لاروها نشان داد که بین جدایه‌ها تفاوت معنی‌دار وجود داشته و برخی از آن‌ها با نمونه تجارتی دایپل در یک گروه آماری قرار گرفتند. جدایه

6R به عنوان نمونه‌ای از جدایه‌های مؤثر و مناسب انتخاب گردید. LC_{50} این جدایه ٦×١٠^{٦} واحد زنده (CFU) در میلی‌لیتر بدست آمد که نسبت به فرآورده تجارتی دایپل با دز کشندگی پنجاه درصد ٨×١٠^{٦} CFU در میلی‌لیتر اثر یکسانی را روی کرم قوزه پنبه داشت. مدت زمان لازم برای اینکه باکتری بتواند ٥٠ درصد مرگ و میر در جمعیت لاروهای چهار روزه کرم قوزه پنبه ایجاد کند، برای جدایه‌های Dh11، Dipel، 6R، 3R، 4T و Krm23 به ترتیب ٣/٣٧، ٣/٨١، ٤/٠٥، ٤/٤١، ٤/٨٥ و ٢٧/٢ روز بود، که نشان دهنده اثر سریع یا اثر توأم با تأخیر آن‌ها است.
واژه‌های کلیدی: *Bacillus thuringiensis*، جدایه‌های ایرانی، تفاوت‌های بیولوژیک، زیست‌سنجی، کرم قوزه پنبه، LC_{50}، LT_{50}.

مقدمه

باکتری *Bacillus thuringiensis* Ber. (B.t.) بعنوان شاخص‌ترین عامل کنترل میکربی آفات گیاهی بشمار آمده و بطور وسیع توسط کشورهای مختلف تولید می‌شود. بیش از یک هزار جدایه از باکتری فوق جداسازی و نزدیک به ٦٠ درصد آن‌ها روی راسته‌های Diptera، Lepidoptera و Coleoptera مؤثر می‌باشد (Tanada & Kaya, 1993). دامنه میزبانی جدایه‌های این باکتری متنوع و حتی روی یک گونه حشره شدت بیماریزایی جدایه‌ها تفاوت قابل توجه دارد (Dulmage, 1970; Dulmage *et al.*, 1990). این پدیده ممکن است در اثر نوع کریستال پروتئینی و توکسین‌ها و یا تفاوت‌های فیزیولوژیک حشره باشد. اما مهم‌ترین عامل تأثیرگذار ساختار کریستال پروتئینی بیان شده است. بطوریکه مشخص شده است که جدایه‌های حاوی ژن‌های گروه CryI روی لارو پروانه‌ها، گروه CryII روی لارو پروانه‌ها و دوبالان، گروه CryIII روی لارو سخت‌بالپوشان، گروه CryIV روی لارو دوبالان، گروه CryV روی لارو پروانه‌ها و سخت‌بالپوشان مؤثر هستند (Bajwa & Kogan, 2001). این تنوع ژنتیکی ناشی از تنوع شرایط جغرافیایی و میزبان‌های باکتری بوده و به همین دلیل باکتری را می‌توان از اغلب نقاط دنیا جمع‌آوری نمود (Glare & O'Callaghan, 2000). B.t. در طبیعت از مزارع مختلف، محصولات انباری، لارو حشرات مرده و یا بیمار نیز جدا شده است (Bajwa & Kogan, 2001). در بررسی‌هایی که در کشورهای مختلف انجام شده است، B.t. از اغلب نمونه‌های خاک بدست آمده ولی در برخی از موارد جداسازی بسیار محدود بوده است. بعنوان مثال در آمریکا از

٤٦٣٧٣ نمونه تنها ۲۵۰ جدایه .B.t (۰/۵ درصد) جدا شده است (Delucca *et al*., 1981).

در ایران جدایه‌هایی از .B.t از خاک‌های زراعی کرمانشاه (Marzban, 1997) و از لاروهای بیمار ابریشم‌باف ناجور در منطقه کهگیلویه و بویراحمد جمع‌آوری گردیده (Izadyar *et al*., 1995) که کروستاکی تشخیص داده شد. در بررسی‌های بعدی Izadyar *et al*. (1996) جدایه دیگری را از خاک‌های زراعی و مناطق جنگلی شمال کشور جدا نمودند. .B.t روی آفات گوناگون مورد بررسی قرار گرفته است. از جمله می‌توان به ارزیابی‌های انجام شده روی آفات بلوط، برگخوار سویا و کرم قوزه پنبه، کرم پیله‌خوار نخود، ابریشم باف ناجور و کرم ساقه‌خوار اروپایی ذرت اشاره نمود (Safar-Alizadeh, 1976; Daniali & Izadyar, 1993; Adldoust & Izadyar, 1995; Javan-Moghadam & Heidari, 1995; Askary, 1992). تأثیر باکتری روی لیسه سیب نتایج قابل قبولی در حد تأثیر حشره‌کش‌های شیمیایی متداول ارایه کرده است (Daniali & Aria 1996; Mashhadi-Jafarloo & Daniali, 1996). برای کنترل کرم ساقه‌خوار برنج در راستای کاهش مصرف سموم شیمیایی از واریته Kurstaki این باکتری استفاده شده است (Karimi & Abbasipour, 2000).

باکتری .B.t بخاطر مزیت‌های فراوان جایگاه ویژه‌ای را در مدیریت کنترل آفات دارد (Kurstak & Tijssen, 1982). کریستال یا توکسین اصلی این باکتری بصورت حشره‌کش‌های اختصاصی عمل کرده و روی موجودات غیرهدف اثر نداشته و یا اثرات سوء کمی دارند. به همین لحاظ شناسایی جدایه‌های بومی و سازگار با شرایط اقلیمی هر منطقه به منظور یافتن عوامل کنترل کننده طبیعی آفات به عنوان گام نخست و آگاهی از دامنه میزبانی و شدت بیماریزایی آن‌ها روی آفات هدف، به عنوان گام بعدی می‌باشد. برای ارزیابی تفاوت‌های بیولوژیک بین جدایه‌های این باکتری و اندازه‌گیری فعالیت اسپور و کریستال آن‌ها بطور معمول آزمایش زیست‌سنجی انجام می‌شود که برای مقایسه عملکرد از یک فراورده استاندارد از زیرگونه کورستاکی این باکتری استفاده می‌شود (Navon & Ascher, 2000). هدف از این تحقیق ارزیابی اثر کشندگی چند جدایه ایرانی .B.t که از مناطق مختلف ایران جمع‌آوری شده بودند، روی کرم قوزه پنبه بوده تا مؤثرترین جدایه تعیین شود.

روش بررسی

جمع‌آوری و پرورش آزمایشگاهی میزبان: لاروهای حشره میزبان *Helicoverpa armigera* در اوایل تیرماه و اواخر مهرماه از مزارع پنبه آلوده در استان گلستان جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. برای پرورش لارو از غذای مصنوعی به روش Teakle & Jensen (1985) و به شرح زیر استفاده گردید.

– لوبیا چشم بلبلی	۲۰۵ گرم	– میتل پاراهیدروکسی بنزوات	۲/۲ گرم
– مخمر	۳۵ گرم	– فرمالدئید ۳۷٪	۲/۵ میلی‌لیتر
– پودر جوانه گندم	۳۰ گرم	– روغن آفتابگردان	٤/۲ میلی‌لیتر
– اسید سوربیک	۱/۱ گرم	– آگار	١٤ گرم
– اسید اسکوربیک	۳/۵ گرم	– آب مقطر	۷۰۰ میلی‌لیتر

ابتدا لوبیا چشم بلبلی خیس خورده را با مخمر، پودر جوانه گندم، اسید سوربیک و ۳۵۰ میلی‌لیتر آب، مخلوط و پس از خرد شدن، فرمالدئید و روغن آفتابگردان اضافه گردید. آگار و نیپاژین (میتل پاراهیدروکسی بنزوات) در ۳۵۰ میلی‌لیتر آب روی شعله حرارت داده شده و پس از حل شدن به مواد قبلی اضافه گردید. پس از خنک شدن مواد، در حرارت ۵۸–۵۵ درجه سانتی‌گراد اسید اسکوربیک اضافه و مدت یک دقیقه بهم زده و داخل تشتک‌های شیشه‌ای ریخته شد. و برای مصارف بعدی در یخچال نگهداری گردید. پرورش لاروهای نئونات روی غذای مصنوعی و بصورت دسته جمعی در ظرف‌های پلاستیکی شفاف درب‌دار و لاروهای سنین بالاتر بصورت انفرادی در قوطی‌های خالی فیلم عکاسی انجام شد (Izadyar, 2003). در هر قوطی یک قطعه غذای مصنوعی به ابعاد تقریبی یک سانتی‌متر مکعب قرار داده و یک روز در میان تعویض شد. شفیره‌ها بطور روزانه جمع‌آوری و بداخل ظرف‌هایی به ابعاد ۵/۵×۱۸×۱۱ سانتی‌متر حاوی خاک‌اره منتقل شدند. حشرات بالغ نیز هر روز جمع‌آوری و برای تخم‌گذاری، به ظرف‌های استوانه‌ای از جنس پلاستیک شفاف (به ابعاد ۱۷×۳۵ سانتی‌متر) حاوی نوارهای سلولزی جاذب رطوبت منتقل شدند. برای تغذیه پروانه‌ها از آب و عسل ۱۰ درصد استفاده شد. نوارهای حاوی تخم، در محلول فرمالین ٤٪ بمدت ۲۰ دقیقه ضدعفونی و سه مرتبه با آب

معمولی شسته شد. پرورش حشره در شرایط کنترل شده دما ۲ ± ۲۷ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵ ± ٦٥٪، دوره روشنایی ١٦ ساعت و تاریکی ۸ ساعت انجام گردید (Izadyar, 2003).

کشت جدایه‌های باکتری: جدایه‌های ایرانی باکتری B.t. به دو روش از خاک مناطق جنگلی و خاک زراعی جدا گردید (Izadyar *et al*., 1996; Marzban *et al*., 1999) (جدول ۱). برای کشت جدایه‌ها روی محیط غذایی نوترینت آگار با pH = 7.4 در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. هفت روز پس از کشت، کریستال‌ها و اسپورهای تولید شده با آب مقطر برداشت و غلظت پایه از آن‌ها تهیه شد. برای تعیین دقیق تعداد اسپور زنده در سوسپانسیون از روش شمارش تعداد کلنی (CFU) در تشتک شیشه‌ای پتری حاوی آگار استفاده شد. برای بررسی شکل‌شناسی و اندازه کریستال‌های تولید شده توسط جدایه‌ها از میکروسکوپ فاز کنتراست با عدسی شیئی صد استفاده گردید.

جدول ۱- چند جدایه ایرانی *B. thuringiensis* که در این تحقیق مورد ارزیابی قرار گرفتند

Table 1- Some Iranian isolates of *B. thuringiensis* used in the research.

کد جدایه Code	منطقه جمع‌آوری Location	بستر جمع‌آوری Substrate	روش جداسازی Isolation method
3R	Rasht	Soil of Forest	Ohba & Aizawa, 1986
5R	Rasht	Soil of Forest	Ohba & Aizawa, 1986
6R	Rasht	Soil of Forest	Ohba & Aizawa, 1986
2t	Sari	Tobacco field	Ohba & Aizawa, 1986
4t	Sari	Tobacco field	Ohba & Aizawa, 1986
E4	Sari	Soil of Forest	Ohba & Aizawa, 1986
11C	Noshahr	Soil of Forest	Ohba & Aizawa, 1986
Dh11	Dehloran	Soil of field	Anwar *et al*. (1997)
Krm4	Karmanshah	Soil of field	Anwar *et al*. (1997)
Crp19	Polzahab	Soil of field	Anwar *et al*. (1997)
Krm23	Kermanshah	Soil of field	Anwar *et al*. (1997)
Kn4	Kangavar	Soil of field	Anwar *et al*. (1997)

تفاوت‌های بیولوژیک جدایه‌های باکتری .B.t روی کرم قوزه پنبه: از ۱۲ جدایه ایرانی و فراورده تجارتی Dipel (واریته کورستاکی، ساخت کشور هلند که دو سال در سردخانه نگهداری شده بود) به عنوان تیمار شاهد مثبت بر اساس روش Navon *et al*. (1990) استفاده گردید. اسپور و کریستال جدایه‌ها با غلظت ۳×۱۰^{۸} CFU در میلی‌لیتر تهیه شد. این غلظت بر اساس آزمایش اولیه روی میزبان و همچنین حدود غلظت‌های استفاده شده توسط سایر محققین انتخاب شد. میزان ٦ میلی‌لیتر از آن به ٤٤ میلی‌لیتر غذای مصنوعی اضافه و کاملاً مخلوط گردید. زیست‌سنجی روی لاروهای چهار روزه (سن دوم) کرم قوزه پنبه (سن بکار رفته برای آزمایش‌های زیست‌سنجی توسط سایر محققین) انجام شد. برای شاهد از غذای مصنوعی همراه با آب مقطر استریل استفاده گردید. آزمایش در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با ١٤ تیمار و در ۳ تکرار انجام و هر تکرار شامل ۱۵ عدد لارو که بصورت انفرادی در داخل قوطی‌های نیمه شفاف فیلم عکاسی نگهداری شدند، بود. تیمارها در دمای ۲ ± ۲۷ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵ ± ٦٥ درصد، ١٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار داده شدند. مرگ و میر لاروها هر روز یادداشت برداری شد. معیار مرگ و میر برای لاروها، سیاه شدن بدن و عدم پاسخ به ضربه سوزن بود.

مقایسه LT_{50} جدایه‌های ایرانی برتر با دایپل: جدایه‌های 6R، 3R، 4T، Krm23 و Dh11 برای مقایسه با دایپل در نظر گرفته شدند. برای محاسبه LT_{50} جدایه‌ها، اطلاعات مربوط به مرگ و میر روزانه لاروها (که از آزمایش نخست بدست آمده بود) با استفاده از برنامه پروبیت بررسی و با یکدیگر مقایسه گردیدند.

مقایسه LC_{50} جدایه ایرانی برتر با دایپل: در یک زیست‌سنجی بیماریزایی جدایه ایرانی برتر 6R (برگزیده از آزمون قبل) با دایپل روی لاروهای چهار روزه کرم قوزه پنبه مورد مقایسه قرار گرفت. غلظت‌های مختلف باکتری با فواصل لگاریتمی بین دزهای حداقل و حداکثر در نظر گرفته شد (Khagehnori, 1995). برای هر غلظت، پانزده قوطی نیمه‌شفاف فیلم عکاسی با ۱/۵ گرم غذای مصنوعی حاوی باکتری استفاده شد. آزمایش سه بار متوالی در شرایطی همانند شرایط آزمایش قبل انجام و مرگ و میر لاروها در تیمارهای مختلف در روز هفتم یادداشت برداری و نتایج با استفاده از برنامه پروبیت ارائه شد.

نتیجه و بحث

تفاوت‌های بیولوژیک جدایه‌های باکتری روی کرم قوزه پنبه: داده‌های مربوط به تیمارها در روز سوم نشان داد که بین جدایه‌ها از نظر مرگ و میر روی کرم قوزه پنبه در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری وجود دارد (F = 2.327, df = 38, P = 0.0157). مقایسه میانگین تلفات نشان داد جدایه‌های 6R و Krm4 با دایپل اختلاف معنی‌داری نداشته و در گروه AB قرار گرفتند و حتی جدایه Dh11 با ٤٨/٨٧ درصد تلفات در گروه A قرار گرفت و قدرت کشندگی بیشتری نسبت به دایپل داشت. بقیه جدایه‌ها نیز با دایپل اختلاف معنی‌داری نداشته و در گروه BC قرار گرفتند. جدایه Krm23 با کل جدایه‌ها اختلاف معنی‌دار داشته و با تلفات بسیار کم روی کرم قوزه در گروه C قرار گرفت (جدول ۲). نتایج در روز هفتم نشان داد که بین تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود داشته (F = 22.847, df = 38, P = 0.0001) و تلفات لاروی در دو گروه A و B قرار گرفتند (با اطمینان ۹۹٪). جدایه Krm23 با ۲/۲ درصد تلفات، با دایپل و بقیه جدایه‌ها اختلاف معنی‌داری داشته و در گروه B قرار گرفت. بقیه جدایه‌ها با دایپل اختلاف معنی‌دار نداشته و در گروه A قرار گرفتند (جدول ۲). نتایج در روز سیزدهم نیز نشان می‌دهد که بین آن‌ها در سطح ۱٪ اختلاف معنی‌دار وجود داشته (F= 59.360, df = 38, P = 0.0001) و در دو گروه A و B قرار می‌گیرند. جدایه Krm23 با ۱۵/۵ درصد تلفات با دایپل و ۱۱ جدایه دیگر اختلاف معنی‌دار داشته و به عنوان یک جدایه ضعیف در گروه B قرار گرفت (جدول ۲). بقیه جدایه‌ها از نظر کشندگی با دایپل در یک گروه بوده و در بعضی موارد بهتر از آن عمل کردند. مقایسه نتایج در این سه روز نشان داد که بعضی جدایه‌ها اثر سریعی داشته و بعضی اثر معمولی و عده دیگر دارای اثر تأخیری بودند. Bernhard *et al.* (1997) و Anwar *et al.* (1997) هم برای تعیین فعالیت جدایه‌های B.t. از هلیوتیس و یک غلظت B.t. استفاده کرده‌اند، البته در حالتی که حجم نمونه‌های ایشان بسیار بیشتر بوده است. نتایج حاصل از ارزیابی در زمان‌های مختلف در آزمایش نشان داد که در روز هفتم اکثر جدایه‌ها تلفاتی در حدود ۹۰-۸۰ درصد و در روز سیزدهم تا ۱۰۰ درصد ایجاد نمودند. سه جدایه ایرانی 6R، Krm4، Dh11 و دایپل سرعت عمل بیشتری داشتند، لذا روی جدایه Dh11 آزمایش‌های بیشتری انجام شد و لازم است که این آزمایشات ادامه یابد.

جدایه Krm23 دارای عملکرد ضعیفی بود، هر چند که ممکن است این جدایه و حتی

سایر جدایه‌ها از نظر بیماریزایی روی گونه‌های دیگری از حشرات بسیار مؤثر باشند. مطالعات Ohba & Aizawa (1986) نشان داده است که از ۱۸۹ جدایه .B.t، ٤٨ جدایه برای پروانه‌ها و ۲۰ جدایه برای پشه‌ها سمی بودند. Bernhard *et al.* (1997) در بررسی مشابهی ۵۳۰۳ جدایه را روی هلیوتیس آزمایش کرده و به این نتیجه رسیدند که ٤٤٪ از جدایه‌ها تلفاتی کمتر از ۲۵٪ به لارو وارد می‌سازند که آن‌ها را به عنوان جدایه‌های غیر فعال در نظر گرفتند. Anwar *et al.* (1997) ٦۵۰ جدایه .B.t را روی *H. armigera* آزمایش کردند و جدایه‌هایی که ۵۰/۵ درصد یا بیشتر تلفات ایجاد کردند را به عنوان جدایه‌های فعال در نظر گرفتند. Izadyar (2003) با مطالعه میکروسکوپی جدایه‌های بومی روی محیط کشت نشان داد که همه آن‌ها دارای کریستال‌های لوزی شکل بودند و از نظر اندازه و تعداد با یکدیگر تفاوت داشتند ولی اندازه کریستال در قدرت بیماریزایی نقش چندانی نداشت، زیرا جدایه‌های Krm4، Krm23 و 6R با اندازه کریستال ۰/٦۱، ۰/٦۳ و ۱/۱۹ میکرون از نظر بیماریزایی تفاوت داشتند. جدایه Krm4 و 6R که بترتیب دارای کریستال‌های ریز و درشت بودند تلفات ۱۰۰٪ ایجاد کردند در صورتی که در جدایه Krm23 که کریستال ریز داشت میزان تلفات پایین بود.

مقایسه LC_{50} و LT_{50} جدایه‌های برتر: نتیجه تجزیه اطلاعات مربوط به تلفات لاروی در اثر غلظت‌های مختلف جدایه 6R و داپیل (جدول ۳) و معادله خط رگرسیونی (شکل ۱) نشان داد برای جدایه 6R مقدار LC_{50} معادل ٦×١٠^{٦} CFU در میلی‌لیتر و حدود اطمینان ۹۵٪ برای آن بین $١٠^{٧} \times ١ - ١٠^{٦} \times ٤$ می‌باشد. مقدار LC_{50} برای داپیل برابر با ٨×١٠^{٦} CFU و حدود اطمینان ۹۵٪ آن بین $١٠^{٧} \times ١ - ١٠^{٦} \times ٥$ است. مقایسه حدود اطمینان LC_{50} جدایه 6R و داپیل نشان می‌دهد که همپوشانی وجود داشته و بین آن‌ها اختلاف معنی‌دار وجود ندارد. LC_{50} داپیل ۱/٦ برابر LC_{50} جدایه 6R می‌باشد. اشتباه استاندارد آزمون تقریباً ۰/۰۹۲ بود. اطلاعات بدست آمده از تجزیه پروبیت نشان می‌دهد که روند نسبتاً یکنواختی، با توجه به شیب خطوط و غلظت‌های لگاریتمی در مرگ و میر لاروها وجود دارد (شکل۱).

برای بدست آوردن LT_{50} هر یک از جدایه‌ها، داده‌های مربوط به زمان، تعداد لارو مورد آزمایش و تعداد تلفات لاروی در روزهای مختلف با استفاده از برنامه پروبیت تجزیه و نتایج بدست آمده (جدول ٤) نشان داد که مدت زمان لازم برای اینکه باکتری بتواند ۵۰ درصد مرگ و میر در جمعیت لاروهای چهار روزه کرم قوزه پنبه ایجاد کند، برای جدایه‌های 6R، 3R، 4T،

Dh11، Dipel و Krm23 به ترتیب ۳/۳۷، ۳/۸۱، ٤/۰٥، ٤/٤۱، ٤/۸٥ و ۲۷/۲ روز می‌باشد. با توجه به LT_{50} بدست آمده، مشخص می‌گردد که جدایه‌های 6R، 3R، 4T، Dh11 و دایپل از نظر سرعت تأثیر روی لاروهای چهار روزه کرم قوزه پنبه تقریباً یکسان می‌باشند. فقط جدایه Krm23 با LT_{50} معادل ۲۷/۲ روز کند عمل کرده است (جدول ٤). همچنین مقایسه درصد تلفات جدایه‌های مذکور و دایپل در روزهای مختلف آزمایش نشان می‌دهد که جدایه Dh11 از روز سوم شروع به تأثیر کرده است و در روز هفتم حدود ۸۰ درصد تلفات ایجاد کرده و پس از سیزده روز به حداکثر تلفات ۱۰۰ درصد رسیده است و دایپل و سایر جدایه‌ها از این نظر در درجه‌های بعد قرار گرفتند. جدایه Krm23 تا روز هفتم تأثیر چندانی نداشته و پس از سیزده روز فقط ۱٥/٥ درصد تلفات ایجاد کرد. مقایسه آمار مربوط به خط رگرسیون در جدایه‌ها نشان می‌دهد که در همگی آن‌ها بین پروبیت تلفات و لگاریتم روزهای مختلف آزمایش ارتباط مستقیم و معنی‌داری وجود داشته (با توجه به مقادیر ضریب همبستگی از ۰/۹٦ تا ۰/۹۹) و با توجه به شیب خطوط (از ۳/۰٦ تا ٥/۳٤) با گذشت زمان میزان تلفات افزایش یافته است (جدول ٤).

در این بررسی اثر طول زمان تغذیه از ماده غذایی حاوی ۳×۱۰^{۸} CFU دیده شده که زمان‌های ۲۷/۲– ۳/۳۷ روز تغذیه، ٥۰٪ مرگ و میر روی لاروهای چهار روزه کرم قوزه پنبه ایجاد می‌کند. هر قدر طول زمان تغذیه برای دریافت دز مؤثر کوتاه‌تر باشد اثر باکتری سریع‌تر است. جدایه‌های 4T، 3R، 6R و Dh11 با ٤/٥۸ – ۳/۳۷ روز و جدایه krm23 با ۲۷/۲ روز به ترتیب دارای سریع‌ترین و کندترین اثر بودند.

Roome (1971) غلظت مؤثر برای کنترل خوب *H. armigera* را $۲/۷۸ \times ۱۰^{۸}$ اسپور و کریستال در میلی‌لیتر بدست آورد. در بررسی اخیر LC_{50} جدایه 6R، ٦×۱۰^{٦} CFU بدست آمد که نسبت به فراورده دایپل با دز کشندگی پنجاه درصد ۸×۱۰^{٦} CFU اثر تقریباً یکسانی را نشان داد. همچنین Anwar *et al.* (1997) نیز فعالیت بیماریزایی ٦٥۰ جدایه B.t. را روی هلیوتیس ارزیابی کرده و LC_{50} جدایه‌ها را از $۳/٥\times۱۰^{۳}$ تا $٥/٥\times۱۰^{۷}$ CFU بدست آوردند.

با توجه به اینکه در مناطق مختلف کشور سروتیپ‌های مختلف این باکتری بطور پراکنده استفاده می‌شوند، لازم است برای جمع‌آوری جدایه‌های بومی هر منطقه قبل از ورود جدایه‌های غیر بومی هر چه سریع‌تر اقدام شود. چه‌بسا جدایه‌های بومی با شرایط همان منطقه

محل قرارگیری جدول ۲

سازگاری بیشتری داشته و مؤثرتر عمل نمایند. لذا می‌توان پس از بررسی‌های تکمیلی به خصوص در مورد میزان تولید بتااگزوتوکسین (Izadyar *et al*., 2003) اقدام به تولید جدایه مناسب نمود. لازم است جدایه‌های بدست آمده روی میزبان‌های مختلف بخصوص آن‌هایی که تفاوت‌های سیستماتیک، بیولوژیک و فیزیولوژیک ویژه‌ای با یکدیگر دارند، ارزیابی گردند.

جدول ۳- LC_{50} جدایه 6R و فراوده دایپل روی لاروهای چهار روزه کرم قوزه پنبه پس از ۷ روز.

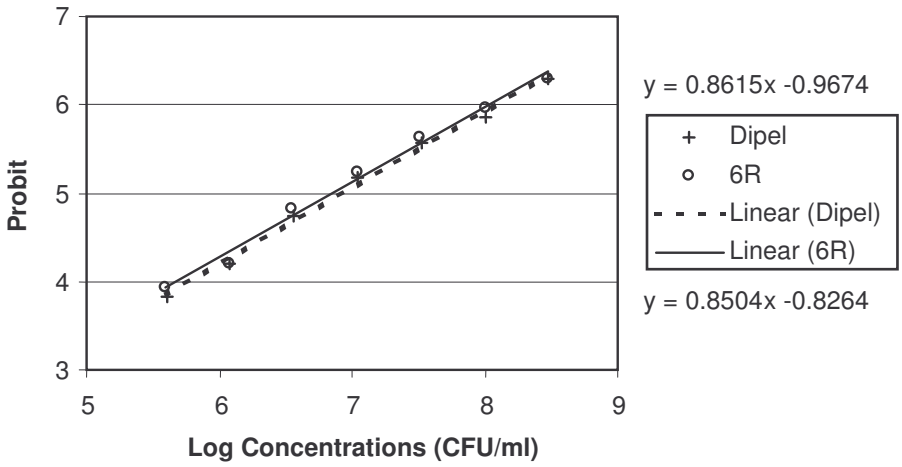
Table 3- LC_{50} of isolate 6R and Dipel on *H. armigera* (4 days old larvae) 7 days post-treatment

فرمول خط Probit line	اشتباه Error Log LC_{50}	Confidence limite of LC_{50} (95%)	LC_{50} (CFU/ml)	شیب خط ± SE Slope ± SE	کد جدایه Isolates
Y = 0.8587X-0.8728	0.093	(4×10^6-1×10^7)	6×10^6	0.85 ± (0.03)	6R
Y= 0.8636X-0.9670	0.092	(5×10^6-1×10^7)	8×10^6	0.86 ± (0.02)	Dipel

جدول ٤- LT_{50} جدایه‌های ایرانی .B.t و دایپل روی لاروهای چهار روزه کرم قوزه پنبه.

Table 4- LT_{50} of Iranian isolates and Dipel on *H. armigera* (4 days old larvae).

فرمول خط Probit line	اشتباه Error Log LC_{50}	Confidence limite of LC_{50} (95%)	LC_{50} (CFU/ml)	شیب خط ± SE Slope ± SE	کد جدایه Isolates
Y= 5.32X+2.18	0.02	3.04 - 3.66	3.37	5.34 ± .16	Dh11
Y= 6.14X+1.26	0.015	3.75 - 4.33	4.05	4.91±.23	6R
Y= 5.37X+1.53	0.016	4.07 - 4.72	4.41	3.95 ± .23	3R
Y= 4.11X+2.17	0.018	4.43-5.25	4.85	3.45±.18	4T
Y= 3.78X+0.42	0.13	18.45-147.23	27.2	3.06±.26	Km23
Y= 4.34X+2.46	0.02	3.42-4.16	3.81	3.99±.19	Dipel



شکل ۱- عکس‌العمل لاروهای ۴ روزه کرم قوزه پنبه، تغذیه کرده از غلظت‌های مختلف جدایه 6R و دایپل پس از ۷ روز

Fig. 1- Dose-response for *H. armigera* (4 days old larvae) mortality due to *B. thuringiensis* (strain 6R & Dipel) 7 days after treatment

سپاسگزاری

از بخش تحقیقات مبارزه بیولوژیک، مؤسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی و همکاری‌های خانم مهندس مریم کلانتری و خانم مهندس جهان محمدی، آقای مهندس شهرام شاهرخی خانقاه، آقای مهندس رسول مرزبان و آقای مهندس حسن ملکشی سپاسگزاری می‌نمایند.

نشانی نگارندگان: سودابه ایزدیار و محمدرضا رضاپناه، بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک، مؤسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی، صندوق پستی ۱۴۵۴، تهران ۱۹۳۹۵، ایران؛ حسن عسکری، بخش تحقیقات حمایت و حفاظت، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، تهران، صندوق پستی ۱۱٦-۱۳۱۸۵، ایران؛ خلیل طالبی‌جهرمی، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، صندوق پستی ٤١١١، ایران.