



Effective control of tomato leaf miner, *Tuta absoluta* by combining use of Thiocyclam insecticide and *Bacillus thuringiensis*

Zahra Pourmir¹ | Ali Mirshekar^{2✉} | Abbas Khani³

1. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran. E-mail: zahrapourmir@yahoo.com

2. Corresponding Author, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran. E-mail: mirshekar@uoz.ac.ir

3. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran. E-mail: abbkhani@yahoo.com

Article Info	ABSTRACT
Article type: Research Article	<p>The tomato leaf miner moth, <i>Tuta absoluta</i> (Meyrick) (Lep.: Gelechiidae), is one of the most important and destructive pests of tomatoes in fields and greenhouses and causes severe damage. The integration use of biological and chemical pesticides, with the aim of reducing the consumption and concentration of chemicals, and in order to lessen pollution in the environment and insect resistance, is considered. Therefore, this study aims to investigate the effect of different concentrations of Thiocyclam insecticide (Evisect® SP50%) and biological insecticide Problett® (<i>Bacillus thuringiensis</i> supsp. <i>kurstaki</i>), on the mortality of the 1st and 4th instar larva of <i>T. absoluta</i> with the aim of achieving the most effective insecticide mixture. For this purpose, experiments were performed with 0.5, one, and twice the recommended concentration of insecticides, and their combined use during 48 and 72 hours. The results showed that the mortality rate of the 1st and 4th instar larva of <i>T. absoluta</i> increased with increasing concentration and time of application of two insecticides. The LC50 values for the first and fourth instar larvae of <i>T. absoluta</i> were 15.13 and 32.80 ppm after 72 hours from the application of bacteria and Thiocyclam respectively. The recommended concentrations of insecticides caused 66.07 and 66.41% mortality in 1st larvae after 48 hours for Thiocyclam and bacteria respectively at half their recommended concentration (500 ppm). Thiocyclam + bacteria values for first and fourth instar larvae were 98.25 and 99.25%, respectively, at their recommended concentration (1000 ppm) after 72 hours.</p>
Article history: Received: 5 March 2023 Revised: 15 June 2023 Accepted: 11 July 2023 Published online: 22 June 2022	
Keywords: <i>Bacillus thuringiensis</i> , insecticide, tomato leaf miner, biological control.	

Cite this article: Pourmir, Z., Mirshekar, A., & Khani, A. (2022). Effective control of tomato leaf miner, *Tuta absoluta* by combining use of Thiocyclam insecticide and *Bacillus thuringiensis*. *Biological Control of Pests and Plant Diseases*, 11 (1), 1-14. DOI: <https://doi.org/10.22059/jbioc.2023.355819.320>



© The Author(s).

DOI: <https://doi.org/10.22059/jbioc.2023.355819.320>

Publisher: The University of Tehran Press.

کنترل موثر شب پره مینوز گوجه فرنگی *Tuta absoluta* در کاربرد توام حشره کش تیوسیکلوم و باکتری *Bacillus thuringiensis*

زهرا پورمیر^۱ | علی میرشکار^۲ | عباس خانی^۳۱. گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران. رایانامه: zahrapourmir@yahoo.com۲. نویسنده مسئول، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران. رایانامه: mirshekar@uoz.ac.ir۳. گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران. رایانامه: abbkhani@yahoo.com

چکیده	اطلاعات مقاله
شب پره مینوز گوجه فرنگی (<i>Tuta absoluta</i> (Meyrick) (Lep.: Gelechiidae) یکی از آفات مهم و مخرب گوجه فرنگی در مزارع و گلخانه ها است. کاربرد هم زمان آفت کش های بیولوژیک و شیمیایی، با هدف کاهش مصرف و غلظت سموم شیمیایی، و به منظور جلوگیری از آلودگی محیط زیست و مقاومت حشرات مورد توجه است. لذا این پژوهش به منظور بررسی اثر غلظت های مختلف حشره کش تیوسیکلوم (اویسکت® (SP50% و حشره کش زیستی پروبلت® حاوی باکتری <i>Bacillus thuringiensis</i> supsp. <i>kurstaki</i> ، بر میزان تلفات لاروهای سنین اول و چهارم شب پره مینوز گوجه فرنگی با هدف دستیابی به کارآترین ترکیب حشره کش صورت گرفت. به این منظور، آزمایش هایی با نصف، یک و دو برابر غلظت توصیه شده مزرعه ای حشره کش ها و اختلاط آن ها در طی زمان های ۴۸ و ۷۲ ساعت انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت و زمان کاربرد دو حشره کش، میزان تلفات لاروهای سنین اول و چهارم مینوز به ترتیب ۱۵/۱۳ و ۳۲/۸۰ پی-پی ام پس از ۷۲ ساعت از کاربرد باکتری و تیوسیکلوم تعیین شد. تلفات ناشی از اثر غلظت توصیه شده حشره کش ها روی لارو سن اول مینوز، ۶۶/۰۷ و ۶۶/۴۱ درصد به ترتیب برای تیوسیکلوم و باکتری، در نصف غلظت توصیه شده آن ها (۵۰ پی پی ام)، پس از ۴۸ ساعت بود. این مقادیر برای ترکیب تیوسیکلوم + باکتری، برای لاروهای سن اول و چهارم مینوز، به ترتیب برابر با ۹۸/۲۵ و ۹۹/۲۵ درصد، در غلظت توصیه شده آن ها (۱۰۰ پی پی ام)، پس از ۷۲ ساعت به دست آمد.	نوع مقاله: مقاله پژوهشی تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۱۴ تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۳/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۲۰ تاریخ انتشار: ۱۴۰۱/۰۴/۰۱ کلیدواژه ها: <i>Bacillus thuringiensis</i> حشره کش، شب پره مینوز گوجه فرنگی، مهار زیستی.

استناد: پورمیر، زهرا؛ میرشکار، علی؛ و خانی، عباس (۱۴۰۱). کنترل موثر شب پره مینوز گوجه فرنگی *Tuta absoluta* در کاربرد توام حشره کش تیوسیکلوم و باکتری *Bacillus thuringiensis*. کنترل بیولوژیک آفات و بیماری های گیاهی، ۱۱ (۱)، ۱-۱۴. DOI: <https://doi.org/10.22059/jbioc.2023.355819.320>



© نویسندگان.

DOI: <https://doi.org/10.22059/jbioc.2023.355819.320>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

مقدمه

گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Mill.) گیاهی یک‌ساله و علفی متعلق به تیره بادمجانیان است که به عنوان یک محصول اقتصادی، تولید آن در سراسر جهان در چند دهه اخیر افزایش یافته است به طوری که میزان تولید آن در سال ۲۰۲۲ بالغ بر ۱۸۹/۱ میلیون تن و متوسط افزایش آن ۳۷/۱ میلیون تن در سال گزارش شده است (Sandeep Kumar et al., 2020). آفات مختلفی سبب کاهش عملکرد گوجه‌فرنگی می‌شوند. یکی از مخرب‌ترین این آفات شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی، *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) است که از برگ، ساقه، میوه و گل این گیاه تغذیه می‌کند و موجب کاهش عملکرد کیفی و کمی آن می‌شود (Ayalew, 2015; Sandeep Kumar et al., 2020). این آفت موجب کاهش ۶۰ تا ۱۰۰ درصدی محصول گوجه‌فرنگی می‌شود (Gonzalez-Cabrera et al., 2011). لارو این آفت به تمام مراحل رشد گیاه حمله کرده و باعث ایجاد زخم‌هایی می‌شود که ورود بیمارگرها را تسهیل می‌کنند (Selale et al., 2017). این آفت پتانسیل زایشی بالایی با ۱۲ نسل در سال دارد و حشره ماده می‌تواند تا ۲۶۰ تخم بگذارد (Ayalew, 2015).

راهکارهای مدیریتی مختلفی از جمله روش‌های زراعی (مثل شخم عمیق و گیاهان تله) و حشره‌کش‌های شیمیایی برای کاهش خسارت آفات استفاده می‌شوند (Sandeep Kumar et al., 2020). روش شیمیایی در برابر شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی رایج‌ترین و سریع‌ترین روش کنترل این آفت در سراسر جهان است. این آفت به حشره‌کش‌های پیروتروتوئید، کاربامات و ارگانوفسفره مقاوم است اما حشره‌کش‌های جدیدتر مانند کلرناپیر، ایندوکساکارب، اسپینوساد و ایمیداکلوپرید به طور مناسبی این آفت را کنترل می‌کنند (Guedes et al., 2019; Kandil et al., 2020). از جمله سطوح آلودگی به شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی پس از ۷ روز سمپاشی با حشره‌کش‌های نسل جدید امپرور و کوراژن، به ترتیب ۹۸/۷۴ و ۹۵/۵۱ درصد کاهش یافت (Kandil et al., 2020).

استفاده مکرر و زیاد از آفت‌کش‌های شیمیایی باعث ایجاد مقاومت حشرات به آن‌ها و آلودگی محیط زیست شده است، از این رو توجه پژوهشگران به روش‌های جایگزین حشره‌کش‌های شیمیایی بیش‌تر شده است (Sandeep Kumar et al., 2020). در این مورد، حشره‌کش‌های زیستی مانند باکتری *Bacillus thuringiensis* Berliner و تیوسیکلام می‌توانند جایگزین‌های مناسبی برای کنترل آفات محسوب شوند (Jalpathi et al., 2020; Sadeghi Nasab et al., 2021)؛ در مطالعات پیشین اثر حشره‌کش‌های زیستی بر پایه باکتری *Bacillus thuringiensis* Berliner روی بال‌پولکی‌های زیان‌آور (Pinheiro and Valicente, 2021)، آفات سخت‌بال‌پوش (Domínguez-Arrizabalaga et al., 2020)، دوبالان ناقل عوامل بیماریزا (Valtierra-de-Luis et al., 2020) و هم‌چنین تاثیر تیوسیکلام روی مگس‌های مینوز (Forouzan and Sheikhi Garjan, 2023) به تفکیک مورد بررسی قرار گرفته و کارایی مطلوب آن‌ها در ایجاد کشندگی روی آفات گیاهی به اثبات رسیده است.

Bt یک باکتری گرم مثبت اسپوردار است که در زمان اسپورزایی پروتئین‌های کریستالی با خاصیت حشره‌کشی تولید می‌کند و عموماً در خاک و طبیعت یافت می‌شود (Jalali et al., 2018; Jalpathi et al., 2020; Sandeep Kumar et al., 2020). این باکتری به علت سمیت این پروتئین‌ها، یک منبع اصلی برای کنترل آفات به ویژه پروانه‌سانان، سخت‌بالپوشان و دوبالان می‌باشد (Sandeep Kumar et al., 2020). این باکتری یک حشره‌کش بیولوژیک بسیار مؤثر و ایمن برای محیط زیست می‌باشد (Palma et al., 2014). زیرگونه‌های Bt روی تمام مراحل لاروی شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی موثر هستند (Gonzalez-Cabrera et al., 2011). بررسی‌ها نشان داده‌اند که حشره‌کش زیستی Bt آسیب ناشی از شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی را به میزان ۹۰ درصد کاهش می‌دهد، اما کنترل طولانی مدت آن نیاز به کاربردهای مکرر آن دارد (Gonzalez-Cabrera et al., 2011). زیرگونه *kurstaki* این باکتری در برابر هجوم لاروهای شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی اثر رضایت بخشی داشت (Sanda et al., 2018). مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که کاربرد Bt در شرایط آزمایشگاهی، گلخانه‌ای و مزرعه‌ای علیه شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی موثر بوده است (Ghazwan et al., 2017).

حشره کش تیوسیکلآم هیدروژن اکسالات^۱ SP 50% (اویسکت[®]) از جمله حشره‌کش‌های تماسی و نفوذی با منشأ زیستی است که روی مگس‌های مینوز جالیز کارایی قابل قبولی دارد (Aghdam *et al.*, 2015). ماده مؤثره‌ی این آفت‌کش، ساختاری مشابه زهرآبه‌ی ترشح شده از غدد بزاقی نوعی کرم حلقوی آبزی (*Lumbriconereis heteropoda*) دارد (Nitta *et al.*, 1934). آنالوگ‌های این ترکیب سمی به صورت مصنوعی سنتز شده‌اند (Okaichi and Hashimoto, 1962). نقطه اثر این ترکیب سمی، سیناپس‌های تراونده استیل کولین معده حشره است که از استیل کولین به عنوان پیام‌رسان عصبی استفاده می‌کنند. فعالیت آن در محل سیناپس، منجر به بروز اختلال در عملکرد سلول عصبی می‌شود. این ترکیب به صورت تماسی و سیستمیک اثر دارد. آنالوگ‌های متعددی از آن سنتز شده و به صورت تجاری علیه آفات به کار می‌روند (Sakai, 2010; Ghosal, 2018).

نتایج مطالعه کاربرد حشره‌کش‌های تیوسیکلآم و اسپینوساد برای کنترل شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی بیانگر کارایی بالاتر تیوسیکلآم در شرایط آزمایشگاهی بود به طوری که مقادیر LC₅₀ برای تیوسیکلآم و اسپینوساد روی لارو سن سوم پس از ۷۲ ساعت به ترتیب برابر با ۹۰۲/۰۱ و ۱۷۹۳/۴۱ پی‌پی‌ام به دست آمد (Hosseinzadeh *et al.*, 2019). اثر دز زیرکشنده متوسط (LC₂₅) حشره‌کش تیوسیکلآم، (۹/۹۴ پی‌پی‌ام)، روی مراحل مختلف زیستی شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی، کاهش قابل توجه در پارامترهای جدول زندگی و رشد و نمو حشره را نشان داد (Aghdam *et al.*, 2015). در پژوهشی اثر نه حشره‌کش رایج روی لارو سن دوم شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی بررسی شد که نتایج نشان داد از بین آن‌ها تیوسیکلآم و ایمیداکلوپرید موثرتر بوده و حشره مقاومتی نسبت به آن‌ها از خود نشان نداد (Radwan and Taha, 2017). نتایج کاربرد ترکیبی سه عامل کنترل زیستی اسپینوساد، *Trichogramma brassicae* و Bt نشان داد ترکیب حشره‌کش اسپینوساد+Bt (۸۸/۳۳ درصد) در مقایسه با کاربرد ترکیبی سایر عوامل، مرگ و میر بیش‌تری در شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی ایجاد نمود و استفاده توأم عوامل کنترل کننده زیستی را امیدبخش نشان داد (Jamshidnia *et al.*, 2018). گزارش شده است که تنها ترکیب Bt+آزادیراختین، در مقایسه با سه حشره‌کش زیستی، موجب کاهش قابل توجه خسارت شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی به محصول شد (Bue *et al.*, 2012).

با توجه به خسارت زیاد شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی در ایران و بروز مقاومت آن به حشره‌کش‌های مختلف، دستیابی به روشی برای کاهش اثرات سوء ناشی از کاربرد آفت‌کش‌های شیمیایی ضروری است. از طرفی فقدان مطالعات انجام گرفته روی کاربرد توأم حشره‌کش تیوسیکلآم و باکتری Bt برای کنترل این آفت، انجام این پژوهش را برای تعیین غلظت کشندگی تیوسیکلآم و باکتری Bt در کاربرد جداگانه و توأم روی لاروهای شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی بیش‌تر نمایان می‌کند.

مواد و روش‌ها

کشت گیاه میزبان

این پژوهش در سال ۱۳۹۷ در شرایط آزمایشگاه اجرا شد. به‌منظور کشت گیاه گوجه‌فرنگی، ابتدا نشای دو برگی گیاه در گلدان‌های پلاستیکی (قطر ۱۶ سانتی‌متر) که با نسبت مساوی خاک‌برگ، خاک و کود حیوانی پوسیده پر شده بودند، قرار گرفت. داخل هر گلدان یک نشا کشت شد. تعدادی از گلدان‌ها برای پرورش حشره آفت مورد استفاده قرار گرفتند. برای دور نگه داشتن گلدان‌های دیگر از آلودگی به آفات، این گلدان‌ها در داخل قفسی با ابعاد ۱۰۰ × ۱۰۰ × ۳۰ سانتی‌متر با پوشش توری با مش مناسب قرار داده شدند.

پرورش حشره آفت

حشرات کامل شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی، از گلخانه‌های واقع در مجتمع پژوهشی دانشگاه زابل از روی بوته‌های گوجه‌فرنگی جمع‌آوری شدند. پس از شناسایی، این حشرات روی بوته‌های گوجه‌فرنگی در داخل قفس‌های ذکر شده رها شدند. پس از چند

1Thiocyclam hydrogen oxalate

2Evisect®

روز که لکه‌های مینوز ناشی از ورود لارو سن یک به داخل بافت برگ روی برگ‌ها مشخص شد، حشرات کامل از داخل قفس جمع‌آوری شدند و به گیاهان سالم در قفس دیگری منتقل شدند. برای انجام آزمایش‌ها، برگ‌هایی که دارای علائم خسارت بودند یا روی آن‌ها تخم آفت بود، به درون ظروف پرورش منتقل شدند. محیط پرورش شامل یک برگ گوجه‌فرنگی در داخل ظروف یک بار مصرف پلاستیکی (PVC)، به قطر ۴/۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۲/۵ سانتی‌متر حاوی ژل آگار ۰/۷ درصد بود. از محیط آب آگار ۰/۷ درصد برای حفظ رطوبت برگ‌های میزبان برای مدت طولانی و جلوگیری از پژمرده شدن آن‌ها استفاده شد. برای ایجاد تهویه مناسب در ظروف، درب آن‌ها با توری (با مش مناسب) پوشانیده شد. سپس ظروف در اتاقک رشد با دمایی 25 ± 2 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 60 ± 10 درصد و دوره نوری ۱۶ : ۸ (روشنایی : تاریکی) نگهداری شدند.

هم‌سن‌سازی حشره آفت

از آن‌جا که لارو سن اول شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی نسبت به سایر سنین لاروی حساس‌تر می‌باشد و لارو سن چهارم نیز به دلیل آماده شدن برای شفیرگی دارای بیش‌ترین خسارت به علت تغذیه زیاد است (Yadav et al., 2022)، لذا لاروهای سنین اول و چهارم برای آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفتند. ابتدا چند جفت از حشرات کامل شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی، داخل قفس حاوی بوته گوجه‌فرنگی رهاسازی شدند و پس از ۲۴ تا ۴۸ ساعت از داخل قفس حذف شدند. برای تهیه لاروهای هم‌سن در آزمایش‌ها، برگ‌های گوجه‌فرنگی که دارای تخم شب‌پره مینوز بودند، جدا شدند و در داخل اتاقک رشد با دمایی مناسب 25 ± 2 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی 60 ± 10 درصد و دوره نوری ۱۶ : ۸ (روشنایی : تاریکی) قرار گرفتند. تا زمان ظهور لاروهای سن یک، برگ‌ها به طور روزانه بازدید شدند و لاروهای نوزاد برای آزمایش‌های زیست‌سنجی مورد استفاده قرار گرفتند. به منظور آماده‌سازی لاروهای سن چهارم، لاروهای خارج‌شده از تخم تا زمان ظهور لارو سن چهارم پرورش داده شدند. به این صورت که جهت تهیه تعداد کافی لاروهای هم‌سن مورد نظر (سن اول و سن چهارم) در آزمایش‌ها، لاروهای نئونات (تغذیه نکرده) پس از ظهور جداسازی شده و به برگ‌های عاری از آفت منتقل می‌شدند و تا رسیدن به سنین دوم، سوم و چهارم تحت نظر قرار می‌گرفتند. نحوه تشخیص سن چهارم لاروی از سایر لاروها، اندازه کپسول سر و رنگ متفاوت آن‌ها با سایر سنین لاروی بود. لارو سن یک کوچک (۰/۵ میلی‌متر) و زرد رنگ می‌باشد. این لاروها در سنین بعد زرد متمایل به سبز شده و یک نوار سیاه در سطح پشتی قفس‌سینه آن‌ها ظاهر می‌شود. لارو سن چهارم (لارو کامل) تقریباً ۹ میلی‌متر طول داشته و پشت آن به رنگ صورتی درمی‌آید.

حشره‌کش‌های تجاری

در این پژوهش، از حشره‌کش میکروبی حاوی اسپور و کریستال اندوتوکسین باکتری *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* با نام تجاری پروبلت® (ساخت شرکت پروبلته کشور اسپانیا) و حشره‌کش تیوسیکلام با نام تجاری اویسکت® (ساخت شرکت علوم زیستی آریستا، فرانسه)، استفاده شد.

تعیین غلظت کشنده ۵۰ درصد (LC₅₀) تیوسیکلام و Bt روی لاروهای سنین اول و چهارم

زیست‌سنجی به روش غوطه‌وری برگ گوجه‌فرنگی در حشره‌کش انجام شد. در ابتدا آزمایش‌های مقدماتی برای به دست آوردن غلظت‌های کمینه و بیشینه (۲۰-۸۰ درصد) هر حشره‌کش روی این آفت از روش رقیق‌سازی (جهت تعیین غلظت‌های بینابین) انجام گردید (Robertson and Preisler, 1992). سپس بر اساس نتایج حاصل، دو غلظت کمینه و بیشینه انتخاب و سه غلظت که به صورت لگاریتمی تعیین شدند، بین این دو غلظت منظور گردید و آزمایش‌های نهایی با پنج غلظت برای هر حشره‌کش به همراه تیمار شاهد انجام شدند. این غلظت‌ها برای تیوسیکلام ۲۵۰، ۳۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام و برای باکتری Bt، ۰/۰۰۰۲۵، ۰/۰۱۶، ۰/۰۹، ۵۳ و ۳۲۰ پی‌پی‌ام به دست آمد. آب مقطر به‌عنوان تیمار شاهد استفاده گردید. جهت ایجاد

سوسپانسیون یکنواخت، یک قطره از محلول Tween ۸۰ (۰/۰۵ درصد) در شاهد و تیمارها استفاده شد. دیسک‌های برگ گوجه‌فرنگی در سوسپانسیون غوطه‌ور گردید و سپس روی کاغذ صافی منتقل و در دمای آزمایشگاه خشک شدند. پس از تبخیر آب، هر دیسک برگی در کف تشتک پتری پلاستیکی (به قطر ۶ سانتی‌متر)، که درب آن جهت تبادل هوا با توری (با مش مناسب) پوشانده و با کاغذ صافی مفروش شده بود، قرار داده شد و تعداد ۱۰ عدد لاروهای سن اول و چهارم هم‌سن با استفاده از قلم‌موی مناسب به طور مجزا روی هر دیسک برگی منتقل شد. سپس جعبه‌های حاوی تشتک‌های پتری، به اتاقک رشد با شرایط دمایی 25 ± 2 درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی 10 ± 60 درصد و دوره نوری ۱۶ : ۸ (روشنایی : تاریکی) منتقل گردید. تلفات به صورت درصد حشرات مرده به تعداد اولیه در هر تیمار، پس از ۴۸ و ۷۲ ساعت محاسبه گردید. برای اصلاح درصد تلفات از فرمول ابوت (Abbott, 1925) استفاده شد. لاروهای مرده با زدن ضربه توسط قلم مو به ناحیه سر آنها ثبت گردید. به این نحو که در صورت تحرک، لارو زنده و در صورت عدم واکنش به ضربه و تغییر رنگ بدن، مرده محسوب گردید. هر تیمار سه تکرار داشت و در مجموع ۳۶۰ لارو مورد استفاده قرار گرفت.

تعیین غلظت‌های زیر کشندگی (LC₁₀ و LC₂₅) تیوسیکللام

به منظور انجام آزمایش تاثیر اختلاط باکتری Bt با تیوسیکللام، بر اساس داده‌های خروجی نرم‌افزار در آزمایش تعیین غلظت کشنده ۵۰ درصد (LC₅₀)، دو غلظت زیر کشنده ۱۰ و ۲۵ درصد (LC₁₀ و LC₂₅) از تیوسیکللام تعیین شد. خسارت حشره‌کش‌ها روی دشمنان طبیعی را با کم کردن مقدار مصرف آن می‌توان کاهش داد. از آنجایی که انتخاب حشره‌کش با کم‌ترین غلظت مدنظر است، از غلظت‌های زیر کشنده مذکور جهت تعیین کارایی آنها بر مرگ حشره استفاده گردید. سپس این دو غلظت زیر کشنده در آزمایش تاثیر اختلاط باکتری Bt با تیوسیکللام استفاده شد.

آزمایش اختلاط تیوسیکللام با باکتری Bt روی لاروهای شب‌پره مینوز

در این آزمایش مشابه با آزمایش تعیین غلظت کشنده حشره‌کش‌ها، ابتدا دیسک‌های برگی به روش غوطه‌وری با غلظت‌های LC₁₀ و LC₂₅ حشره‌کش تیوسیکللام تیمار شدند و لاروهای سنین اول و چهارم به روشی که در بالا اشاره شد به طور مجزا روی این دیسک‌های برگی قرار داده شدند. در همین زمان دیسک‌های برگی نیز با غلظتی برابر با LC₅₀ بیمارگر Bt که برابر با ۱۹/۸۰ پی‌پی‌ام بود، تیمار شدند. پس از گذشت ۲۴ ساعت، لاروهای سنین اول و چهارم از برگ‌های تیمار شده با حشره‌کش شیمیایی جمع‌آوری شده و روی برگ‌های دارای تیمار حشره‌کش بیولوژیک منتقل شدند. به این ترتیب شش تیمار موجود در این آزمایش شامل LC₁₀ حشره‌کش، LC₂₅ حشره‌کش، LC₅₀ بیمارگر، LC₁₀ حشره‌کش + LC₅₀ بیمارگر، LC₂₅ حشره‌کش + LC₅₀ بیمارگر Bt و شاهد (آب مقطر حاوی Tween ۰/۰۵ درصد) بودند. ثبت مرگ و میر لاروها ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تیمار باکتری Bt صورت گرفت. این آزمایش سه بار تکرار شد.

آزمایش تلفات لاروهای شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی در اثر تیمار با حشره‌کش‌ها پس از ۴۸ و ۷۲ ساعت

در این آزمون اثر کشندگی آفت‌کش‌ها به تنهایی و مطابق با غلظت توصیه شده آنها بر حسب فرمولاسیون تجاری (نصف، یک و دو برابر غلظت توصیه شده مزرعه‌ای) روی لاروهای سن اول و چهارم مینوز برگ گوجه‌فرنگی مورد بررسی قرار گرفت. هر تیمار (غلظت‌های توصیه شده آفت‌کش‌ها) ۱۰ تکرار داشت و در هر تکرار ۱۰ لارو هم‌سن در معرض غلظت‌های مختلف آفت‌کش قرار گرفت. برای هر تیمار ۱۰ جعبه روباز مقوایی، (جهت تجمع و دسترسی آسان به تکرارها)، با ابعاد ۲۵ × ۲۵ در ارتفاع ۷ سانتی‌متر، نام‌گذاری و داخل هر جعبه ۱۰ ظرف پلاستیکی به قطر ۴/۵ سانتی‌متر و ارتفاع ۲/۵ سانتی‌متر که حاوی ژل آگارز ۰/۷ درصد بودند، قرار داده شد. سپس در داخل هر ظرف برگ گوجه‌فرنگی روی ژل آگارز منتقل و لاروها به آهستگی به کمک قلم‌مو روی برگ گوجه‌فرنگی قرار گرفتند. غلظت‌های مختلف آفت‌کش‌ها با سمپلر اندازه‌گیری و به صورت همگن

روی هر ظرف ریخته شدند (Robertson and Preisler, 1992). به منظور پخش یکنواخت محلول در سطح برگ، یک قطره از محلول توپین ۸۰ (۰/۰۵ درصد) استفاده شد. در تیمار شاهد از آب مقطر به همراه توپین ۲۰ استفاده شد. برای تهیه، درپوش هر ظرف با توری (با مش مناسب) پوشانده شد. سپس جعبه‌های حاوی ظروف در داخل اتاقک رشد با شرایط دمایی 25 ± 2 درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی 60 ± 10 درصد و ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. پس از گذشت ۴۸ تا ۷۲ ساعت، لاروها زیر استریومیکروسکوپ بررسی و اگر با ضربه قلم‌مو هیچ حرکتی نکردند مرده در نظر گرفته شدند. با شمارش لاروهای مرده، میزان مرگ و میر و محاسبه‌ی درصد تلفات صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شدند. از روش تجزیه پروبیت برای محاسبه مقادیر LC استفاده شد. از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA-One-Way) برای تجزیه و تحلیل استفاده گردید. مقایسه میانگین‌ها با روش توکی در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج

نتایج تجزیه پروبیت داده‌های زیست‌سنجی حشره‌کش تیوسییکلام و باکتری بیمارگر Bt بر لارو سن یک شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ پس از کاربرد در جدول ۱ آورده شده است. نمودارهای پروبیت تلفات-لگاریتم غلظت نشان دادند که با افزایش غلظت حشره‌کش تیوسییکلام و باکتری Bt میزان تلفات لارو سن یک شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی افزایش یافت. با افزایش مدت زمان پس از کاربرد حشره‌کش تیوسییکلام، باکتری Bt و ترکیب آن‌ها، میزان LC_{10} ، LC_{25} و LC_{50} کاهش یافت و تلفات لارو سن یک افزایش یافت، به طوری که کم‌ترین میزان LC_{10} ، LC_{25} و LC_{50} ، ۷۲ ساعت پس از کاربرد آن‌ها مشاهده شد. کم‌ترین میزان LC_{50} با غلظت ۱۵/۱۳ پی‌پی‌ام، ۷۲ ساعت پس از کاربرد باکتری بیمارگر Bt به دست آمد (جدول ۱).

جدول ۱. تجزیه پروبیت داده‌های زیست‌سنجی برای پاسخ غلظت-تلفات در لارو سن یک شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی به حشره‌کش تیوسییکلام و باکتری بیمارگر *Bacillus thuringiensis* (Bt) در ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از کاربرد آن‌ها.

Insecticides	Time (h)	Number of insects	Slope \pm SE	(95% CL) ppm			χ^2 (df=1)	Probability level
				LC_{10}	LC_{25}	LC_{50}		
Thiocyclam	48	180	1.32 \pm 0.43	50.04 (0.02-143.38)	143.34 (1.94-271.87)	461.55 (203.65-819.78)	9.42	0.99
	72	180	1.43 \pm 0.25	20.25 (4.02-45.30)	53.66 (17.46-94.45)	158.47 (88.02-216.86)	33.22	0.99
Bt	48	180	1.25 \pm 0.31	31.63 (0.57-90.65)	96.63 (8.64-186.96)	334.15 (158.4-466.88)	15.93	0.99
	72	180	0.55 \pm 0.25	0.07 (0.005-4.61)	0.92 (0.07-17.69)	15.13 (0.05-79.60)	4.91	0.97
LC_{10} Thiocyclam LC_{50} Bt+	48	180	2.01 \pm 0.6	36.26 (0.05-104.11)	72.59 (0.63-158.08)	156.96 (10.98-258.8)	11.1	0.99
	72	180	2.16 \pm 0.41	22.55 (4.81-48.76)	43.06 (11.75-78.36)	88.34 (36.86-133.38)	27.07	0.99
LC_{25} Thiocyclam LC_{50} Bt+	48	180	2.58 \pm 0.22	14.76 (7.86 \pm 32.14)	30.08 (11.43 \pm 67.31)	73.11 (15.19 \pm 140.96)	3.07	0.99
	72	180	2.73 \pm 0.32	10.81 (1.98 \pm 21.90)	22.11 (9.87 \pm 45.56)	57.43 (25.69 \pm 120.76)	6.73	0.99

رابطه لگاریتم غلظت و پروبیت درصد تلفات لارو سن چهار شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی تیمار شده با حشره‌کش تیوسییکلام و باکتری بیمارگر Bt در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از کاربرد در جدول ۲ ارایه شده است. مشاهده می‌شود با افزایش غلظت حشره‌کش تیوسییکلام و باکتری بیمارگر Bt میزان تلفات لارو سن چهار شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی افزایش می‌یابد. با افزایش

مدت زمان از ۴۸ به ۷۲ ساعت میزان LC₁₀، LC₂₅ و LC₅₀ در مورد حشره کش تیوسیکلام، کاهش یافت و تلفات لارو سن چهار شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی افزایش یافت، به طوری که کم‌ترین میزان LC₁₀، LC₂₅ و LC₅₀ ۷۲ ساعت پس از کاربرد تیوسیکلام مشاهده شد (جدول ۲). در مورد ترکیب باکتری بیمارگر Bt با تیوسیکلام، نتایج متفاوتی به دست آمد و با افزایش مدت زمان از ۴۸ به ۷۲ ساعت، میزان LC₁₀، LC₂₅ و LC₅₀ افزایش یافت. کم‌ترین میزان LC₅₀ با غلظت ۳۲/۸۰ پی‌پی‌ام در ۷۲ ساعت پس از کاربرد تیوسیکلام به دست آمد (جدول ۲).

جدول ۲. تجزیه پروبیت داده‌های زیست‌سنجی برای پاسخ غلظت-تلفات در لارو سن چهار شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی به حشره کش تیوسیکلام و باکتری بیمارگر *Bacillus thuringiensis* (Bt) در ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از کاربرد آن‌ها.

Insecticides	Time (h)	Number of insects	Slope±SE	(95% CL) ppm			(χ^2) df=1	Probability level
				LC ₁₀	LC ₂₅	LC ₅₀		
Thiocyclam	48	180	0.46±0.2 2	0.85 (0.01-18.76)	17.21 (0.05-91.23)	488.80 (99.69-1774)	4.44	0.97
	72	180	0.75±0.2 5	0.63 (0.008-9.08)	4.09 (0.0002-28.05)	32.80 (0.14-99.17)	8.54	0.99
Bt	48	180	1.35±0.36	13.47 (0.03-53.63)	38.04 (0.56-102.61)	120.53 (12.07-215.39)	14.13	0.99
	72	180	2.32±0.37	34.79 (11.80-61.82)	63.59 (28.20-98.38)	124.23 (73.73-165.86)	10.96	0.99
LC ₁₀ +Thiocyclam LC ₅₀ Bt	48	180	0.85±0.25	1.34 (0.57-90.65)	7.01 (0.02-44.13)	43.93 (1.38-109.76)	39.58	0.99
	72	180	2.23±0.4	27.56 (6.66-54.74)	51.53 (17.46-78.31)	103.27 (50.63-147.44)	30.76	0.99
LC ₂₅ +Thiocyclam LC ₅₀ Bt	48	180	0.67±0.23	0.98 (0.01-17.97)	5.54 (0.11-16.98)	35.23 (1.11-87.75)	5.87	0.99
	72	180	0.98±0.65	19.07 (4.21-40.87)	41.64 (13.98-70.37)	94.76 (35.87-133.70)	9.64	0.99

اثر سه غلظت حشره‌کش‌های تیوسیکلام و بیمارگر Bt (نصف، یک و دو برابر غلظت توصیه شده مزرعه‌ای) بر لاروهای سنین یک و چهار شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی در فاصله زمانی ۴۸ تا ۷۲ ساعت بررسی شد. مقایسه میانگین مرگ و میر لاروهای سنین یک و چهار نشان داد که اثر کشندگی حاصل از غلظت ۲۵۰ پی‌پی‌ام با غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام تفاوت معنی‌دار داشت ($P < 0.001$) اما تفاوت بین غلظت‌های ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام غیرمعنی‌دار بود (جدول ۳).

با افزایش غلظت حشره‌کش تیوسیکلام و نیز با گذشت زمان از کاربرد آن، میزان مرگ و میر لاروهای سنین یک و چهار شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی افزایش یافت، به طوری که بیش‌ترین تلفات لاروهای سنین یک و چهار با کاربرد غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام پس از ۷۲ ساعت به دست آمد (جدول ۳). با افزایش غلظت باکتری بیمارگر Bt و نیز با گذشت زمان، میزان مرگ و میر لاروهای سنین یک و چهار افزایش یافت، و بیش‌ترین میزان تلفات لاروهای سنین یک و چهار با کاربرد غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام پس از ۷۲ ساعت حاصل شد (جدول ۳). با افزایش غلظت حشره‌کش تیوسیکلام+باکتری بیمارگر Bt و نیز با گذشت زمان، میزان مرگ و میر لاروهای سنین یک و چهار شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی افزایش یافت، به طوری که بیش‌ترین تلفات لاروهای سنین یک و چهار با کاربرد غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام پس از ۷۲ ساعت به دست آمد (جدول ۳).

مقادیر درصد کشندگی غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام ترکیب حشره‌کش تیوسیکلام+Bt روی لاروهای سنین یک و چهار شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی به روش محلول‌پاشی روی برگ در زمان‌های ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از آزمایش، در جدول (۳) نشان داده شده است. بیش‌ترین تلفات حاصل ناشی از ترکیب تیوسیکلام+Bt روی لاروهای سن چهارم شب‌پره مینوز

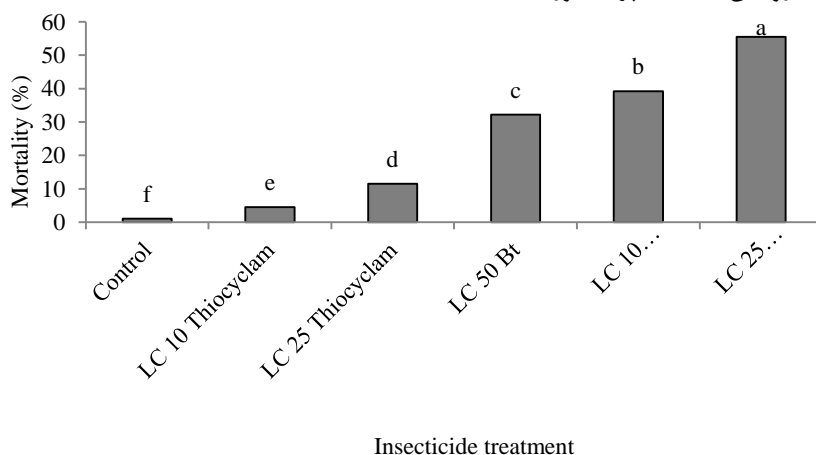
گوجه فرنگی در غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام بود که نشان داد ترکیب مذکور در غلظت اشاره شده، تأثیر کشندگی قابل توجهی روی لاروها دارد.

جدول ۳. مقایسه میانگین تلفات برای لاروهای سنین یک و چهار شب پره مینوز گوجه فرنگی تحت تأثیر غلظت های مختلف حشره کش تیوسیکلام و باکتری بیمارگر *Bacillus thuringiensis* (Bt) در ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از کاربرد.

Insecticide	Time (h)	1st instar larvae				4th instar larvae			
		Concentration 250 ppm	Concentration 500 ppm	Concentration 1000 ppm	SEM	Concentration 250 ppm	Concentration 500 ppm	Concentration 1000 ppm	SEM
Thiocyclam	48	28.9c	66.07a	59.57b	±1.34	42.5b	58.5a	53.5a	±1.61
	72	56.57b	81.5a	84.65a	±0.97	73.62b	83.25a	84.5a	±0.98
Bt	48	42.99b	66.41a	67.98a	±1.19	62.75b	88.02a	85.5a	±1.51
	72	73.5b	83.25a	83.01a	±0.81	76.25c	91.5b	98.5a	±1.01
LC ₁₀ + Thiocyclam	48	35.43b	69.32a	72.73a	±1.45	37.88b	63.53a	65.34a	±1.19
	72	62.88b	72.88a	80.88a	±0.11	68.25a	73.98a	79.99a	±1.04
LC ₂₅ + Thiocyclam	48	70.87b	74.15b	97.82a	±1.70	71.01b	86.25a	85.25a	±1.17
	72	82.5c	96.5b	98.25a	±0.43	81.75c	92.25b	99.25a	±0.67

میانگین های با حروف آماری غیر مشابه در هر ردیف برای هر سن لاروی، اختلاف آماری معنی داری در سطح احتمال پنج درصد دارند.

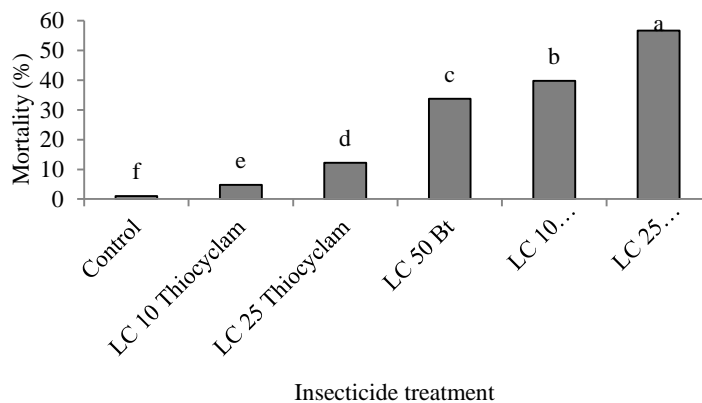
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده های مربوط به تلفات لارو سن اول شب پره مینوز گوجه فرنگی در اثر تیمارهای مختلف حشره کش تیوسیکلام و باکتری Bt نشان داد که با اطمینان ۹۹ درصد ($P < 0.001$) بین تیمارها از نظر کشندگی اختلاف معنی داری وجود داشت. مقادیر مربوط به مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین درصد تلفات لارو سن یک شب پره مینوز گوجه فرنگی مربوط به تیمار ترکیبی تیوسیکلام LC₂₅ و بیمارگر باکتری LC₅₀ (۵۵/۵ درصد) و کمترین درصد تلفات مربوط به تیمار شاهد (۱ درصد) و تیمار تیوسیکلام LC₁₀ (۴/۵ درصد) بود (شکل ۱) که بیانگر اثر افزایشی ترکیب تیوسیکلام و باکتری Bt در میزان کشندگی لارو سن یک شب پره مینوز است.



شکل ۱. میزان مرگ و میر در لارو سن یک شب پره مینوز گوجه فرنگی تحت تأثیر حشره کش تیوسیکلام و باکتری بیمارگر *Bacillus thuringiensis* (Bt) به طور جداگانه و ترکیبی. حروف غیر مشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها در آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد است.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تفاوت معنی داری ($P < 0.001$) بین تیمارهای مختلف حشره کش تیوسیکلام، باکتری Bt و ترکیب آن ها روی تلفات لارو سن چهار شب پره مینوز گوجه فرنگی وجود داشت. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین

درصد تلفات لارو سن چهار شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی مربوط به تیمار ترکیبی LC₂₅ حشره‌کش تیوسیکلام + LC₅₀ باکتری بیمارگر (۵۶/۷۵ درصد) بود و کم‌ترین درصد تلفات در تیمار شاهد (۱ درصد) و غلظت LC₁₀ تیوسیکلام (۴/۷۵ درصد) مشاهده شد (شکل ۲). در واقع تیمار ترکیبی تیوسیکلام + باکتری Bt توانست لارو سن چهار شب‌پره مینوز را به صورت افزایشی کنترل کند. اثر افزایشی، به افزایش کارایی کنترل آفات در ترکیب حشره‌کش‌ها و عوامل بیمارگر دلالت دارد و موجب مصرف غلظت‌های کم‌تر حشره‌کش‌ها و حفظ دشمنان طبیعی گردیده و در عین حال می‌تواند آلودگی محیط زیست در اثر حشره‌کش‌های شیمیایی و ایجاد مقاومت در حشرات به حشره‌کش‌ها را نیز کاهش دهد. هم‌چنین در این بررسی مشخص شد که LC₂₅ سم تیوسیکلام به‌تنهایی تاثیر چندانی در کنترل لارو سن چهار نداشت و میزان تاثیر باکتری بیمارگر بیش‌تر بود (شکل ۲).



شکل ۲. میزان مرگ و میر در لارو سن چهار شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی تحت تاثیر حشره‌کش تیوسیکلام و باکتری بیمارگر *Bacillus thuringiensis* (Bt) به طور جداگانه و ترکیبی. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارها در آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد است.

بحث

این پژوهش توانایی حشره‌کش با منشاء زیستی تیوسیکلام، باکتری بیمارگر Bt و ترکیب آن‌ها را روی شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی مورد ارزیابی قرار داد. نتایج نشان داد که حشره‌کش تماسی-نفوذی تیوسیکلام دارای اثر کشندگی قابل توجهی روی شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی می‌باشد. نتایج پژوهش کنونی با نتایج دیگر پژوهشگران منطبق بود (Aghdam et al., 2015; Radwan and Taha, 2017; Hosseinzadeh et al., 2019). گزارش شده است که میزان LC₅₀ تیوسیکلام به منظور کنترل لارو سن سه و حشره کامل شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی به‌ترتیب برابر با ۵/۸۸ و ۱/۳۶ پی‌پی‌ام بود (Radwan and Taha, 2017) و در مطالعه حاضر میزان LC₅₀ تیوسیکلام برای کنترل لارو سن یک و چهار شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی به‌ترتیب برابر با ۱۵۸/۴۷ و ۳۲/۸ پی‌پی‌ام بود. نتایج ما نشان داد که برای به دست آوردن ۵۰ درصد کشندگی در سن لاروی بالاتر، غلظت کم‌تری از تیوسیکلام مورد نیاز می‌باشد. در پژوهشی اثر حشره‌کش‌های تیوسیکلام، اسپینوساد، امامتین بنزوات، فلوبن دیامید و مخلوط کلرانتراپیل‌پرول + ابامکتین روی لارو سن سوم شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی به صورت گلخانه‌ای مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که این حشره‌کش‌ها کارایی قابل قبولی در کنترل این آفت دارند. هم‌چنین این پژوهشگران بیان کردند که در بین حشره‌کش‌های مذکور، تیوسیکلام با LC₅₀ برابر با ۲۹/۹ میلی‌گرم بر لیتر کم‌ترین تاثیر را بر لارو سن سوم این آفت داشت (Shekhi Gorjan et al., 2018).

در بررسی تاثیر دو حشره‌کش تیوسیکلام و فلوبن دیامید روی شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی، مقادیر LC₅₀ نشان داد که لاروهای سن سوم این آفت نسبت به فلوبن دیامید حساس‌تر بودند (Sadeghi Nasab et al., 2021). اثر تیوسیکلام بر مرگ و میر لاروهای شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی را می‌توان به ایجاد اختلالات بیوشیمیایی و کاهش انرژی در آفت در حضور تیوسیکلام نسبت داد. کاهش معنی‌داری در مخزن انرژی (کربوهیدرات، لیپید، گلیکوژن و پروتئین) لاروهای سن سوم شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی پس از مصرف گوجه‌فرنگی در مواجهه با LC₅₀ تیوسیکلام مشاهده می‌شود (Sadeghi Nasab et al., 2021). هم‌چنین اثر کشندگی

بالای حشره‌کش تیوسی‌کللام بر لارو سن دو شب پره مینوز گوجه‌فرنگی نیز مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که تیمار لارو سن دو این آفت با LC₅₀ تیوسی‌کللام باعث کاهش ۲۲/۸ درصدی محتوی پروتئین کل در همگن کل بدن لاروهای تیمار شده در مقایسه با شاهد می‌شود و در بدن آن‌ها اختلال بیوشیمیایی (افزایش فعالیت سیتوکروم P₄₅₀) ایجاد می‌کند (Radwan and Taha, 2017).

استفاده از باکتری Bt به یک جز اساسی در مدیریت یکپارچه آفات تبدیل شده است و در سراسر جهان نیز پذیرفته شده است. در حال حاضر، باکتری Bt بهترین جایگزین برای حشره‌کش‌ها می‌باشد (Gonzalez-Cabrera *et al.*, 2011; Sandeep Kumar *et al.*, 2020). نتایج مطالعه حاضر مرگ و میر بالای سن لاروی یک و چهار شب پره مینوز گوجه‌فرنگی در معرض باکتری Bt را نشان داد که در توسعه مدیریت یکپارچه آفات برای کنترل این آفت حایز اهمیت است. نتایج این مطالعه مبنی بر تاثیر Bt بر این آفت با نتایج دیگر پژوهشگران مطابقت داشت (Gonzalez-Cabrera *et al.*, 2011; Hashemitassuji *et al.*, 2015; Ghazwan *et al.*, 2017; Sandeep Kumar *et al.*, 2020). گزارش شده است که زیرگونه‌های Bt (ZCUJTL39 و ZCUJTL11) در مقایسه با زیرگونه *kurstaki* HD1 سه برابر کشندگی بیش‌تر روی لارو سن دو شب پره مینوز گوجه‌فرنگی نشان دادند و مقدار LC₅₀ آن‌ها به ترتیب ۲/۴، ۵/۵۳ و ۶/۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (Hernandez-Fernandez *et al.*, 2011).

در پژوهشی در بین تمامی جدایه‌های مورد بررسی باکتری Bt فقط جدایه‌های KGS2، KGS5 و KGS8 میزان مرگ و میر ۱۰۰ درصد را در لارو سن دو شب پره مینوز گوجه‌فرنگی در روز هفتم پس از تیمار در مقایسه با سویه استاندارد HD1 (۹۵ درصد) نشان دادند (Gowtham *et al.*, 2018). میزان مرگ و میر لاروهای سن چهارم شب پره مینوز گوجه‌فرنگی در اثر تیمار جدایه‌های مختلف Bt (B1، B2، B3 و B4) بین ۸۰ تا ۹۳/۳ درصد ثبت شد (Narmen and Hassan, 2013). باکتری بیمارگر Bt موجب تلفات ۶۵ درصدی در لاروهای سن دو شب پره مینوز گوجه‌فرنگی پس از هفت روز شد (Sohrabi and Jamali, 2018). لاروهای سن اول شب پره مینوز گوجه‌فرنگی حساسیت بیش‌تری نسبت به سنین دیگر در آلودگی با باکتری Bt داشتند (Gonzalez-Cabrera *et al.*, 2011). با این حال در مطالعه حاضر لارو سن چهارم میزان مرگ و میر بالاتری در مقایسه با لارو سن یک در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف داشت.

در پژوهشی مشخص شد که زیرگونه‌های باکتری Bt سمیت بالایی برای لارو سن سه شب پره مینوز گوجه‌فرنگی داشتند و مقادیر LC₅₀ جدایه‌های Bt (4D1، 4D4 و 4G1) به ترتیب ۹/۹، ۱۰/۲ و ۱۱/۱۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود. این بررسی هم‌چنین نشان داد که در غلظت LC₅₀، ۵۰ درصد مرگ و میر در روز سوم پس از کاربرد برای جدایه‌های 4D1 و 4D4 بود (Sandeep Kumar *et al.*, 2020). این پژوهشگران هم‌چنین بیان کردند که علاوه بر سن سوم لاروی، سنین لاروی دو و چهار نیز نسبت به جدایه‌های مورد بررسی Bt حساس می‌باشند (Sandeep Kumar *et al.*, 2020). در مطالعه کاربرد حشره‌کش‌های تیوسی‌کللام، اسپینوساد و Bt برای کنترل شب پره مینوز گوجه‌فرنگی در شرایط آزمایشگاهی، مشخص شد که مقادیر LC₅₀ برای تیوسی‌کللام، اسپینوساد و Bt روی لاروهای سن سوم پس از ۷۲ ساعت به ترتیب برابر با ۹۰۲/۰۱، ۱۷۹۳/۴۱ و ۲۲۳۹/۳ پی‌پی‌ام بود (Hosseinzadeh *et al.*, 2019). در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای مقادیر LC₅₀ به ترتیب ۲۴۳/۹ و ۲۱۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر در برابر شب پره مینوز گوجه‌فرنگی برای Bt واریته *kurstaki* ثبت کرد (Sabbour, 2014). پژوهشگران بیان کردند که مقادیر LC₅₀ برای سنین لاروی ۲، ۳ و ۴ شب پره مینوز گوجه‌فرنگی به ترتیب ۰/۱۲، ۰/۴۳ و ۰/۷۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر بود (Jalapathi *et al.*, 2020). در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه‌ای حشره‌کش‌های اسپینوساد و Bt اثر حشره‌کشی کم‌تری در مقایسه با تیوسی‌کللام روی شب پره مینوز گوجه‌فرنگی داشتند (Hosseinzadeh *et al.*, 2019). گزارش شده است که تغییرات حساسیت لاروهای شب پره مینوز گوجه‌فرنگی به سن حشره بستگی دارد و حساسیت لاروها با افزایش سن حشره کاهش می‌یابد (Sandeep Kumar *et al.*, 2020).

تلفیق روش‌های شیمیایی و زیستی برای کنترل شب پره مینوز گوجه‌فرنگی، و هم‌چنین برای ایجاد تعادل اکولوژیک و حفاظت محیط زیست در طولانی مدت، مفید است (Hashemitassuji *et al.*, 2015; Shekhi Gorjan *et al.*, 2018). پژوهشگران

گزارش کردند که اسپینوساد برای شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی سمی‌تر از Bt می‌باشد و ترکیب این دو علیه این آفت نسبت به تیمارهای منفرد آن‌ها بسیار مؤثر است (Hashemitassuji *et al.*, 2015). کاربرد باکتری Bt، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از تیمار با LC₂₅ حشره‌کش‌های شیمیایی کلرانترانیلی پرول و آبامکتین منجر به اثر هم‌افزایی در کنترل شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی شد (Amizadeh *et al.*, 2015). مشخص شده است که مخلوط آزادیراختین+Bt در کنترل آفت شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی اثر هم‌افزایی دارد (Birgücü *et al.*, 2014). کاربرد جداگانه و ترکیبی حشره‌کش تیوسیکلوم و باکتری Bt می‌تواند از طریق ایجاد اختلالات بیوشیمیایی، کاهش پروتئین کل، کاهش انرژی ذخیره‌ای آفت و تولید پروتئین‌های Cry منجر به مرگ و میر شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی شود. در این زمینه گزارش شده است که پروتئین‌های Cry1، Cry2، و Cry9 برای پروانه‌سانان بسیار سمی و اختصاصی بودند (Sandeep Kumar *et al.*, 2020). سنین مختلف شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی نسبت به پروتئین Cry1Ac تولید شده توسط باکتری Bt زیرگونه *kurstaki* حساسیت نشان دادند (Jalpathi *et al.*, 2020). هم‌چنین با بررسی تاثیر باکتری Bt روی لارو سن دو شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی گزارش شد که LC₅₀ این باکتری $10^3 \times 19/7$ پی‌پی‌ام بود و تیمار این لاروها با غلظت معادل LC₅₀ این باکتری باعث کاهش ۳۴/۲ درصدی محتوی پروتئین کل در همگن کل بدن لاروهای تیمار شده در مقایسه با شاهد شد و در بدن آن‌ها اختلال بیوشیمیایی (افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز) ایجاد نمود (Radwan and Taha, 2017). از طرفی، مقادیر LC₅₀ به دست آمده برای سنین مختلف شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی به طور قابل توجهی متفاوت بود که بیانگر تنوع در حساسیت بین سنین مختلف به Cry1Ac است (Jalpathi *et al.*, 2020).

به طور کلی، غلظت‌های مختلف تیوسیکلوم و باکتری Bt به‌تنهایی و نیز با تلفیق یکدیگر تأثیر قابل ملاحظه‌ای در کنترل لاروهای سنین یک و چهار شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی داشتند. باکتری Bt با کم‌ترین میزان سم بیش‌ترین اثر را برای کنترل لاروهای سن یک و چهار این آفت داشت. با توجه به اثرات زیان‌بار حشره‌کش‌ها بر انسان، محیط‌زیست و حشرات مفید مثل زنبورهای گرده‌افشان، استفاده از باکتری Bt به‌تنهایی و یا در ترکیب با سمومی مانند تیوسیکلوم می‌تواند جایگزینی خوبی برای حشره‌کش‌ها باشد. لذا می‌توان ترکیب LC₂₅ تیوسیکلوم و LC₅₀ باکتری Bt را به علت درصد بالای تلفات بر لاروهای سن یک و چهار برای کنترل شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی توصیه کرد.

سپاسگزاری

نویسندگان از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه زابل به خاطر حمایت مالی این مطالعه (IR-UOZ-GR-0821) تشکر و قدردانی می‌نمایند. پژوهش حاضر بخشی از پایان‌نامه‌ی دوره کارشناسی ارشد نگارنده‌ی اول در رشته‌ی حشره‌شناسی کشاورزی می‌باشد.

REFERENCES

- Abbott WS (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18(2): 265-267.
- Aghdam MT, Asgari S, Sheikharjan A (2015) Study of lethal dose and sub lethal effect of thiocyclam insecticide on life table of tomato Meyrick (Lep:Gelechiidae) *Tuta absoluta*. *Advances in Environmental Biology* 9(2): 1194–1197.
- Amizadeh M, Hejazi MJ, Niknam GR, Arzanlou M (2015) Compatibility and interaction between *Bacillus thuringiensis* and certain insecticides: perspective in management of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Biocontrol Science and Technology* 25(6): 671–684.
- Ayalew G (2015) Efficacy of selected insecticides against the South American tomato moth, *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) on tomato in the Central Rift Valley of Ethiopia. *African Entomology* 23: 410–417.
- Birgücü AK, Bayındır A, Celikpence Y, Karaca I (2014) Growth inhibitory effects of bio-and synthetic insecticides on *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Turkiye Entomoloji Dergisi* 38(4): 389–400.

- Bue PL, Abbas S, Peri E, Colazza S (2012) Use of biorational insecticides for the control of *Tuta absoluta* (Meyrick) infestations on open field tomato. *New Medit* 11(4): 39–41.
- Domínguez-Arrizabalaga M, Villanueva M, Escriche B, Ancín-Azpilicueta C, Caballero P (2020). Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* proteins against coleopteran pests. *Toxins* 12(7): 430.
- Forouzan M, Sheikhi Garjan A (2023). Effect of sub lethal concentrations of thiocyclam insecticide on biological parameters of *Liriomyza sativae* (Diptera: Agromyzidae) under laboratory conditions. *Journal of Entomological Society of Iran* 42(4): 279-290.
- Ghazwan A, Ahmad A, Reza T (2017) Evaluation of *Bacillus thuringiensis* to control *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) under laboratory conditions. *Agricultural Sciences* 8: 591–599.
- Ghosal A (2018) Mode of action of insecticides. *Applied entomology and zoology* 1: 1-17.
- Gonzalez-Cabrera J, Molla O, Monton H, Urbaneja A (2011) Efficacy of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) in controlling the tomato borer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *International Organization of Biological Control (IOBC)* 56: 71–80.
- Gowtham V, Kannan M, Senthilkumar M, Soundararajan RP (2018) Isolation and characterization of indigenous *Bacillus thuringiensis*, Berliner from animal odure effective against South American Tomato pinworm, *Tuta absoluta* (Meyrick). *Pest Management in Horticultural Ecosystems* 24(1): 1–7.
- Guedes R, Roditakis E, Campos M, Haddi K, Bielza P, Siqueira HA, Tsagkarakou A, Vontas J, Nauen R (2019) Insecticide resistance in the tomato pinworm *Tuta absoluta*: patterns, spread, mechanisms, management and outlook. *Journal of Pest Science* 92: 1329–1342.
- Hashemitassuji A, Safaralizadeh MH, Aramideh S, Hashemitassuji Z (2015) Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* and Spinosad on three larval stages 1st, 2nd and 3rd of tomato borer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) in laboratory conditions. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 48(5): 377–384.
- Hernandez-Fernandez J, Ramirez L, Ramirez N, Fuentes LS, Jimenez J (2011) Molecular and biological characterization of native *Bacillus thuringiensis* strains for controlling tomato leafminer (*Tuta absoluta*) (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) in Colombia. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 27: 579–590.
- Hosseinzadeh A, Aramideh S, Kahrizeh AG (2019) Efficacy of bio-insecticides on *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lep.: Gelechiidae) in laboratory and field conditions. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal* 21(3): 164–170.
- Jalali E, Maghsoudi S, Marzban R (2018) Effect of Geraphene oxide nanosheets on efficiency of *Bacillus thuringiensis* biological pesticide. *Biological Control of Pests and Plant Diseases* 7(1): 85-92.
- Jalapathi SK, Jayaraj J, Shanthi M, Theradimani M, Venkatasamy B, Irulandi S, Prabhu S. (2020) Potential of Cry1Ac from *Bacillus thuringiensis* against the tomato pinworm, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Gelechiidae: Lepidoptera). *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 30: 81.
- Kandil MAH, Sammour EA, Abdel-Aziz NF, El Maguied Agamy EA, El-Bakry AM, Abdelmaksoud NM (2020) Comparative toxicity of new insecticides generations against tomato leafminer *Tuta absoluta* and their biochemical effects on tomato plants. *Bulletin of the National Research Centre* 44: 126.
- Nitta S (1934) Ober Nereistoxin, einen giftigen Bestandteil von *Lumbriconereis heteropoda* Marenz (Eunicidae). *Yakagaku Zasshi* 54: 648-652.
- Okaichi T, Hashimoto Y (1962) The structure of nereistoxin. *Agricultural and Biological Chemistry* 26(4): 224-227.
- Palma L, Munoz D, Berry C, Murillo J, Caballero P (2014) *Bacillus thuringiensis* toxins: an overview of their biocidal activity. *Toxins (Basel)* 6(12): 3296–3325.
- Pinheiro DH, Valicente FH (2021) Identification of *Bacillus thuringiensis* strains for the management of lepidopteran pests. *Neotropical Entomology* 50(5): 804-811.

- Radwan EMM, Taha HS (2017) Efficacy of certain pesticides against larvae of tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences C Physiology and Molecular* 9(1): 81–95.
- Robertson JL, Preisler HK (1992) Pesticide bioassays with arthropods. CRC Press, USA, 127 p.
- Sabbour MM (2014) Biocontrol of the tomato pinworm *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) in Egypt. *Middle East Journal of Agriculture Research* 3(3): 499–503.
- Sadeghi Nasab F, Safavi SA, Ghadamyari M, Hosseini Naveh V (2021) Cellular energy allocation of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) treated with flubendiamide and thiocyclam hydrogen oxalate on different tomato cultivars. *Neotropical Entomology* 50(3): 398–407.
- Sakai M (2010) Cartap: It's History of Development and Insecticidal Properties. *Journal of Pesticide Science* 35(4): 548-554.
- Sanda NB, Sunusi M, Hamisu HS, Wudil BS, Sule H, Abdullahi AM (2018) Biological invasion of tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Meyrick) in Nigeria: problems and management strategies optimization: a review. *Asian Journal of Agricultural and Horticultural Research* 1(4): 1–14.
- Sandeep Kumar J, Jayaraj J, Shanthi M, Theradimani M, Venkatasamy B, Irulandi S, Prabhu S (2020) Potential of standard strains of *Bacillus thuringiensis* against the tomato pinworm, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control* 30: 123.
- Selale H, Dağlı F, Mutlu N, Doğanlar S, Frary A (2017) Cry1Ac-mediated resistance to tomato leaf miner (*Tuta absoluta*) in tomato. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)* 131(1): 65–73.
- Shekhi Gorjan A, Rahmani M, Emani S, Javadzadeh M (2018) Toxicity of some new generation insecticides against tomato leafminer moth, *Tuta absoluta* (Meyrick) under laboratory and greenhouse conditions. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 7(1): 99–108 (In Persian).
- Sohrabi F, Jamali F (2018) Biological control of tomato leafminer moth, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) using entomopathogenic fungi and bacteri. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 6(4): 79–88 (In Persian).
- Valtierra-de-Luis D, Villanueva M, Berry C, Caballero P (2020) Potential for *Bacillus thuringiensis* and other bacterial toxins as biological control agents to combat dipteran pests of medical and agronomic importance. *Toxins* 12(12): 773.
- Yadav SPS., Bhattarai S, Ghimire NP, Yadav B (2022) A review on ecology, biology, and management of a detrimental pest, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of agriculture and applied biology* 3(2): 77-96.