

## اثر سم *Bacillus thuringiensis* Berliner روی برخی ویژگی‌های زیستی زنبور پارازیتوئید *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae)

مریم فامیل<sup>۱</sup>، شهرام حسامی<sup>۱\*</sup> و مجید عسکری سیاهویی<sup>۲</sup>

۱- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد و استادیار گروه حشره شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شیراز، شیراز.

۲- استادیار بخش تحقیقات گیاه پزشکی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی هرمزگان، بندرعباس.

\*مسئول مکاتبات hesami@iaushiraz.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۷/۶/۲۰

تاریخ دریافت: ۹۶/۳/۱۰

### چکیده

به منظور بررسی طول عمر، ترجیح میزبانی، طول دوره‌ی مراحل زیستی و تعداد نتاج تولیدی زنبور *Habrobracon hebetor* روی لارو میزبان *Ephestia kuehniella* تیمار شده با دزهای کشنده و زیر کشنده باکتری *Bt* آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی در شرایط آزمایشگاه اجرا شد. نتایج نشان داد تعداد تخم زنبور از ۳/۹ عدد در تیمار شاهد به ۱/۴ و ۲/۷ عدد به ترتیب در دزهای کشنده و زیر کشنده کاهش یافت. با کاهش تعداد نتاج زنبور از ۳/۷ عدد در تیمار شاهد به ۰/۶ و ۲/۱ عدد به ترتیب در دزهای کشنده و زیر کشنده، طول عمر زنبور نیز از ۱۵/۶ روز در تیمار شاهد به ۱۲/۳ و ۱۳/۷ روز به ترتیب در دزهای کشنده و زیر کشنده کاهش یافت. در تیمار دز کشنده *Bt*، طول مراحل جنینی و لاروی افزایش معنی‌داری نشان داد، اما طول دوره‌ی های شفیرگی در هر دو دز کشنده و زیر کشنده *Bt* نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت. نتایج نشان داد با کاهش دز مصرفی *Bt* و اجتناب از کاربرد آن در مراحل حساس زندگی زنبور پارازیتوئید، می‌توان کارایی استفاده از آنها را در کنترل تلفیقی آفات ارتقاء داد.

واژه‌های کلیدی: باکتری *Bt*، دز کشنده، دز زیر کشنده.

### مقدمه

میزبان‌های متعدد جمع‌آوری و گزارش شده است (هوپر ۲۰۰۳).

باکتری *Bacillus thuringiensis* Berliner به عنوان یک حشره‌کش موفق در بین حشره‌کش‌های زیستی مطرح است و فرآورده‌های آن سالیانه در چندین میلیون هکتار علیه آفات مختلف از راسته‌های دوبالان، بالپولکداران و سخت‌بالپوشان مورد استفاده قرار می‌گیرد و به خاطر مزیت‌های فراوان جایگاه ویژه‌ای در مدیریت آفات دارد (بیلی و همکاران ۲۰۱۰، جیجاکی ۲۰۱۰، سانسینا ۲۰۱۲). کریستال یا توکسین اصلی این باکتری (دلتا اندوتوکسین) به صورت حشره‌کش اختصاصی عمل می‌کند و روی موجودات غیرهدف اثرات ناخواسته قابل اغماضی دارد. متداول‌ترین زیرگونه این باکتری *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* است که بیشتر علیه لاروهای بالپولکداران مورد استفاده قرار می‌گیرد (وگا و کایا ۲۰۱۲). هنوز درک کافی از اثر *Bt* بر دیگر سطوح

خسارت بسیار زیاد آفت‌ها و مقاوم شدن آنها در برابر حشره‌کش‌های شیمیایی، موجب شده تا برای کاهش اثرات جانبی ناخواسته و کنترل بهینه آنها، بحث مدیریت تلفیقی مورد نظر قرار گیرد. در این بین استفاده از عوامل میکروبی همراه با پارازیتوئیدهای تخم و لارو آفت بیشتر مورد توجه قرار گرفته است (لامرز و مکلود ۲۰۰۷). زنبور *Habrobracon hebetor* (Say) از خانواده Braconidae یکی از پارازیتوئیدهای مهم بسیاری از بالپولکداران می‌باشد که اکثر آنها آفات مهم زراعی و انباری هستند (عبدی بسطامی و همکاران ۱۳۸۹، میلوناس ۲۰۰۵، امیرمعافی و چی ۲۰۰۶). این زنبور با حمله به مرحله‌ی لاروی میزبان‌های خود از ادامه تغذیه و ایجاد خسارت جلوگیری می‌کند (رسول‌خان و همکاران ۲۰۰۹). این پارازیتوئید از نقاط مختلف دنیا روی

استفاده توام *Bt* با زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* در مدیریت تلفیقی آفات و روی برخی از ویژگی‌های زیستی زنبور *H. hebetor* مانند طول عمر زنبور، ترجیح میزبانی، طول دوره مراحل زیستی زنبور، تعداد نتاج زنبور تحت تاثیر دز کشنده و زیرکشنده سم *Bt* انجام شد.

### مواد و روش‌ها

#### پرورش لارو (*Ephestia kuehniella* (Zeller)

در این پژوهش پروانه‌ی بید آرد *E. kuehniella* به عنوان میزبان آزمایشگاهی زنبور *H. hebetor* انتخاب شد. برای پرورش لارو میزبان از رژیم غذایی آرد گندم به نسبت ۷۰۰ گرم آرد گندم و ۳۰۰ گرم سبوس استفاده شد (عطاران ۱۳۷۴). آرد و سبوس تهیه شده در یک ظرف پلاستیکی (قطر ۴۰ و ارتفاع ۱۸ سانتی‌متر) به ارتفاع سه سانتی‌متر ریخته و سپس مقدار ۰/۲ گرم تخم بید آرد روی ترکیب غذایی آماده شده درون ظرف پخش گردید و با پارچه مشکی پوشانده شد. سپس ظروف حاوی ترکیب غذایی و تخم بید آرد در شرایط دمایی  $25 \pm 2$  درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی  $65 \pm 5$  درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شد (چن و همکاران ۲۰۱۲).

#### پرورش زنبور *H. hebetor*

جمعیت اولیه‌ی زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* از انسکتاریوم‌های پرورش آن در استان هرمزگان تهیه شد. برای به دست آوردن زنبورهایی با طول عمر ۱۲-۰ ساعت، ۲۰ عدد لارو سن پنجم *E. kuehniella* درون پتری دیش (با قطر ۹۰ میلی‌متر) قرار گرفت و سپس یک جفت (نر و ماده) زنبور بالغ *H. hebetor* به مدت ۲۴ ساعت درون هر پتری دیش قرار داده شد. سپس هر لارو پارازیته شده تا زمانیکه زنبورها از آن خارج شوند به طور جداگانه در اتاقک رشد قرار گرفت. بدین ترتیب زنبورهایی با طول عمر ۱۲-۰ ساعت تهیه شد. تمامی مراحل پرورش در دمای  $25 \pm 2$  درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی  $65 \pm 5$  درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شد.

تغذیه ای مانند پارازیتوئیدها وجود ندارد (سینگ و متیو ۲۰۱۵). آلودگی میزبان به این باکتری به طور غیرمستقیم دشمنان طبیعی را تحت تأثیر قرار می‌دهد، طوری‌که ممکن است کارایی و میزان تأثیر آنها را تا حد زیادی کاهش دهد و یا روی رفتار، تغذیه و تحرک دشمنان طبیعی، سرعت تکثیر آنها نسبت به میزبان یا تعادل جمعیت میزبان و دشمن طبیعی اثر نامطلوبی بر جای بگذارد (ساندراراجان ۲۰۱۲). در زمینه مدیریت تلفیقی، محققان به بررسی تعامل بین *Bt* در دزهای زیرکشنده و *Campoletis chloridae* (Uchida) در مدیریت تلفیقی *Helicoverpa armigera* (Hübner) پرداختند و اظهار داشتند تغذیه‌ی لاروهای میزبان با دز زیرکشنده و یا تیمار کوتاه مدت با دز کشنده *Bt k HD-1* علاوه بر کاهش سرعت رشد نتاج پارازیتوئید، طول دوره‌ی شفیرگی، بلوغ، سرعت ظهور حشره کامل و وزن زنبورهای بالغ را کاهش داد. ولی تفاوت آشکاری در طول عمر زنبور پارازیتوئید بالغ تغذیه شده از محلول آب عسل حاوی غلظت‌های مختلف *Btk HD-1* با حشرات بالغ تغذیه شده از آب عسل به تنهایی مشاهده نشد (موهان و همکاران ۲۰۰۸). در آزمایشی دیگر اثر *Bt* روی زنبور براکون در دوره‌ی کنترل تلفیقی *Plodia interpunctella* (Hübner) بررسی شد و نتایج نشان داد که *Bt* و زنبور براکون هر کدام به تنهایی به ترتیب باعث  $41/67$  و  $35/35$  درصد مرگ و میر در لاروهای *P. interpunctella* شدند. در تیمار ترکیبی *Bt* و زنبور، مرگ و میر به طور قابل توجهی افزایش یافت و به  $86$  درصد رسید. در این رابطه اظهار شد که تولید نتاج زنبور براکون بستگی به حساسیت آن به *Bt* دارد و با توجه به اینکه *Bt* از رشد زنبور جلوگیری نمی‌کند، استفاده از تیمار ترکیبی *Bt* و رهاسازی زنبور می‌تواند باعث کنترل بهتر *P. interpunctella* شود (الووافمی و همکاران ۲۰۰۹). با وجود انجام مطالعاتی در راستای استفاده توام از *Bt* و پارازیتوئیدها برای کنترل حشرات آفت، تأثیر *Bt* روی دیگر سطوح غذایی مانند پارازیتوئیدهای آفات هدف به اندازه کافی مطالعه نشده است (الووافمی و همکاران ۲۰۰۹، سینگ و متیو ۲۰۱۵). لذا این مطالعه با هدف بررسی اثرات سوء احتمالی

**باکتری عامل بیماریگر**

در این آزمایش از باکتری *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* strain EG2348 متعلق به شرکت اینتراکم بیو ایتالیا به صورت پودر قابل تعلیق در آب<sup>۱</sup> (WP) استفاده شد. این پودر حاوی ۳۲۰۰۰ واحد مؤثر بر میلی‌گرم اسپور و کریستال باکتری بود.

**آزمایش زیست‌سنجی تعیین دز مناسب**

دزهای مختلف باکتری با فواصل لگاریتمی براساس دز مزرعه‌ای سم (۱/۵-۱ کیلوگرم در هکتار) انتخاب شد. بدین منظور ابتدا دز حداکثر و حداقل روی لارو سن سه *E. kuehniella* تعیین شد. در این آزمایش پنج دز سم (۲، ۴، ۸، ۱۶ و ۳۲) میلی‌گرم بر گرم آرد تهیه و به صورت ماده غذایی در اختیار لاروها قرار گرفت. این آزمایش روی لارو سن سه *E. kuehniella* با پنج تکرار انجام شد و میزان مرگ و میر پس از پنج روز بررسی و ثبت گردید. سپس LD مربوط به ۵۰ و ۹۵ درصد تلفات مشخص شد و یک دز زیر کشنده بر اساس اطلاعات به دست آمده تهیه شد. به این صورت که  $LD_{50} = 5.12 \text{ mg/g}$  و  $LD_{90} = 12.12 \text{ mg/g}$  بود. سپس بر اساس دز کشنده، مقدار دو میلی‌گرم بر گرم به عنوان دز زیرکشنده در نظر گرفته شد.

ظهور بالغین (میزبان) در دمای  $25 \pm 2$  درجه سلسیوس، رطوبت  $65 \pm 5$  درصد، دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. سپس تاثیر سم روی طول دوره تخم، دوره‌ی لاروی، دوره‌ی شفیرگی، تعداد تخم گذاشته شده و تعداد نتاج یا زنبورهای ظاهر شده بررسی و نتایج ثبت گردید.

**تاثیر *Bt* روی طول عمر زنبور پارازیتوئید *H. hebetor***

ابتدا زنبورهای ظاهر شده در یک لیوان یکبار مصرف و در معرض درپوش حاوی پنبه آغشته به آب عسل ۱۰ درصد و هر یک از دزهای کشنده و زیرکشنده و یا سم قرار داده شدند. پس از تهیه محلول آب عسل با غلظت ۱۰٪، میزان دز کشنده یا زیرکشنده به محلول اضافه و مخلوط شد. زنبور پارازیتوئید در تیمار شاهد تنها با پنبه حاوی آب عسل ۱۰ درصد تغذیه شد. این آزمایش با ۱۰ تکرار انجام گرفت که در هر تیمار ۲۰ عدد زنبور ماده در نظر گرفته شد. حشرات بالغ تیمار شده و شاهد هر روز با آب عسل ۱۰ درصد تازه تغذیه شده و هر ۲۴ ساعت مرگ و میر آنها تا زمان مرگ آخرین زنبور بررسی شد (موهان و همکاران ۲۰۰۸).

**ترجیح میزبانی زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* روی****رژیم غذایی حاوی دزهای کشنده و زیر کشنده *Bt***

ترجیح میزبانی از طریق محاسبه‌ی درصد لاروهای پارازیته شده *E. kuehniella* توسط زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* روی لارو سن سوم *E. kuehniella* که با رژیم غذایی حاوی دزهای کشنده و زیر کشنده *Bt* تغذیه شده بودند، محاسبه شد. برای هر تیمار ۳۰ عدد ظرف درب‌دار که قسمت کف آن توسط تلق به دو قسمت تقسیم شده بود و روی آنها یک ورق قرار گرفته بود استفاده شد. روی تلق در هر سمت یک سوراخ برای ورود و خروج زنبورها تعبیه و روی درپوش ظرف هم یک عدد سوراخ برای قرار گرفتن پنبه حاوی آب عسل قرار داده شد. لاروهای *E. kuehniella* در قسمت کف ظرف (در یک سمت شاهد و در سمت دیگر لاروهای تیمار شده) قرار گرفتند و زنبورها از قسمت درپوش ظرف رهاسازی شدند. درون هر ظرف ۱۰ عدد لارو

**بررسی رشد زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* روی لارو****میزبان *E. kuehniella* تیمار شده با دز کشنده و زیر****کشنده ترکیب *Bt***

ابتدا لارو سن سوم میزبان (*E. kuehniella*) به مدت یک ساعت بدون تغذیه نگهداری شد و سپس به مدت یک روز روی رژیم غذایی ترکیب شده با دز کشنده و زیر کشنده *Bt* قرار داده شد. یک تیمار با رژیم غذایی عاری از باکتری به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. این آزمایش با ۱۰ تکرار (هر تکرار دارای ۱۰ عدد لارو و دو عدد زنبور ماده جفت‌گیری کرده و تغذیه شده با آب عسل ده درصد بود) انجام گردید. لاروها به مدت ۲۴ ساعت در معرض زنبورهای پارازیتوئید قرار گرفتند و تا زمان

<sup>۱</sup> Wettable powder

دوره‌ی جنینی و طول دوره‌ی لاروی در زنبورهای پرورش یافته روی لاروهای تیمار شده با دز کشنده *Bt*، بیشتر از تیمار شاهد (زنبور *H. hebetor* پرورش یافته روی لارو *E. kuehniella* بدون *Bt*) بود ولی در مورد دوره‌ی شفیرگی این نتایج کاملاً متفاوت بود و طول دوره‌ی شفیرگی روی لاروهای *E. kuehniella* بدون *Bt*، بیشتر از تیمارهای دز کشنده و زیر کشنده بود. این نتایج نشان داد که بیشترین تعداد تخم و تعداد زنبور خارج شده از میزبان در تیمار شاهد و کمترین آن مربوط به تیمار دز کشنده می‌باشد (جدول ۲). اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای مورد مطالعه از لحاظ طول عمر زنبور *H. hebetor* مشاهده شد. بیشترین طول عمر زنبور *H. hebetor* در تیمار شاهد و کمترین مقدار آن به تیمار دز کشنده مربوط بود (جدول ۲).

**اثر لاروهای *E. kuehniella* تیمار شده با دزهای کشنده، زیر کشنده و بدون *Bt* روی ترجیح میزبانی زنبور *H. hebetor***

اثر تیمارهای مورد مطالعه روی تعداد تخم، توانایی پارازیت‌یسم (تعداد لارو پارازیت شده) و ظهور افراد بالغ زنبور *H. hebetor* در سطح ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۳).

تغذیه شده با باکتری *Bt* و ۱۰ عدد لارو تیمار نشده به عنوان شاهد قرار گرفت. دو عدد زنبور ماده جفت‌گیری کرده و تغذیه شده برای پارازیت‌یته کردن لاروها رهاسازی شد. در هر تیمار تعداد لاروهای پارازیت‌یته شده، تعداد تخم گذاشته شده و تعداد نتاج مشاهده و ثبت شد.

### تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها با استفاده از روش آنالیز واریانس یکطرفه (One-Way ANOVA) با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 آنالیز شدند. آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی انجام و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش LSD در سطح احتمال یک درصد انجام پذیرفت.

### نتایج

#### اثر ترکیب *Bt* روی تعداد تخم زنبور *H. hebetor*

نتایج نشان داد اثر تیمارهای آزمایشی بر تعداد تخم، طول دوره‌ی جنینی، طول دوره‌ی لاروی، طول دوره‌ی شفیرگی و تعداد نتاج زنبور *H. hebetor* در سطح ۱٪ معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه‌ی طول مراحل مختلف زندگی قبل از بلوغ در زنبور *H. hebetor* پرورش یافته روی لاروهای *E. kuehniella* که با دزهای کشنده، زیر کشنده و بدون *Bt* تیمار شده بودند، نشان داد که طول

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر لاروهای *E. kuehniella* تیمار شده با دزهای کشنده، زیر کشنده و بدون *Bt* روی طول مراحل مختلف زندگی

زنبور *H. hebetor*

میانگین مربعات

منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد تخم	طول دوره‌ی جنینی	طول دوره‌ی لاروی	طول دوره‌ی شفیرگی	تعداد نتاج زنبور
تیمار	۲	۴۹/۴۸**	۱/۳**	۱/۴**	۲۵/۹**	۷۲/۲
خطا	۸۷	۰/۳۸	۰/۲	۰/۲	۱/۲	۰/۹

\*\* معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪.

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات مورد بررسی در زنبور *H. hebetor* تحت تاثیر لاروهای *E. kuehniella* تیمار شده با دزهای کشنده، زیر کشنده و بدون *Bt* (شاهد).

دز زیر کشنده	دز کشنده	شاهد	تیمار	صفت
۲/۷۷ <sup>b</sup>	۱/۴۰ <sup>c</sup>	۳/۹۷ <sup>a</sup>		تعداد تخم
۱/۴ <sup>ab</sup>	۱/۷ <sup>a</sup>	۱/۳ <sup>b</sup>		طول دوره‌ی جنینی (روز)
۳/۴ <sup>ab</sup>	۳/۷ <sup>a</sup>	۳/۳ <sup>b</sup>		طول دوره‌ی لاروی (روز)
۴/۹ <sup>b</sup>	۴/۴ <sup>b</sup>	۶/۲ <sup>a</sup>		طول دوره‌ی شفیرگی (روز)
۲/۱ <sup>b</sup>	۰/۶ <sup>c</sup>	۳/۷ <sup>a</sup>		تعداد زنبور ظاهر شده
۱۳/۷ <sup>b</sup>	۱۲/۳ <sup>c</sup>	۱۵/۶ <sup>a</sup>		طول عمر زنبور (روز)

- میانگین‌های موجود در هر ردیف که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۱٪ آزمون LSD اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

جدول ۳- نتایج مقایسه آزمون **T-Test** دو گروه کنترل و دز کشنده و نیز کنترل و دز زیر کشنده روی صفات مورد بررسی.

گروه	±SE میانگین	واریانس	ارزش F (تساوی واریانس‌ها)	مقدار آماره T برای تساوی میانگین‌ها
تعداد تخم				
کنترل	۳/۸±۰/۱۸	۰/۷	۱/۸۱ns	۱۴/۰**
دوز کشنده	۱/۱±۰/۱۲	۰/۴		
تعداد پارازیت شده				
کنترل	۴/۴±۰/۱۸	۰/۹	۱/۷۷ns	۱۴/۴**
دوز کشنده	۱/۶±۰/۱۵	۰/۵		
تعداد نتاج				
کنترل	۳/۶±۰/۲۰	۱/۲	۲/۵۰*	۱۲/۰**
دوز کشنده	۰/۷±۰/۲۱	۰/۵		
تعداد تخم				
کنترل	۳/۷±۰/۱۸	۰/۷	۱/۱۱ns	۸/۴۰**
دوز زیر کشنده	۱/۸±۰/۲۶	۰/۸		
تعداد پارازیت شده				
کنترل	۴/۹±۰/۳۰	۲/۳	۲/۴۸*	۷/۸۳**
دوز زیر کشنده	۲/۰±۰/۳۲	۰/۹		
تعداد نتاج				
کنترل	۳/۶±۰/۳۰	۱/۰	۱/۵۰ns	۹/۹۰**
دوز زیر کشنده	۱/۲±۰/۳۹	۱/۶		

ns غیر معنی‌دار، \* و \*\* معنی‌دار در سطح ۵ و ۱٪

## بحث

به ترتیب روی لاروهای تیمار شده با دز زیر کشنده و دز کشنده مشاهده شد. در بررسی انجام شده توسط شارما و همکاران (۲۰۰۸) تعداد تخم روی لاروهای *H. armigera* که با *Bt* تیمار شده بود در مقایسه با تیمار

با توجه به نتایج حاصله، بیشترین تعداد تخم زنبورهای *H. hebetor* روی لاروهای شاهد و پس از آن

ویژگی‌هایی از میزبان اثر گذاشته و رفتار جستجوگری و نمو پارازیتوئید را تحت تاثیر قرار دهد (صدارتیان و همکاران ۲۰۱۴). علاوه بر کیفیت میزبان، کاهش اندازه میزبان نیز ممکن است رشد و نمو پازاریتهای ماده را تحت تاثیر قرار دهد (موهان و همکاران ۲۰۰۸). لاروهای سمی میزبان چون از نظر اندازه کوچکتر و از نظر کیفیت مواد غذایی پایینتر هستند به خوبی قادر به تامین نیاز پارازیتوئیدها برای نمو کامل نیستند (رومیس و همکاران ۲۰۰۶). نتایج پژوهش حاضر در خصوص اثر *Bt* روی طول عمر زنبور *H. hebetor* در تیمارهای تغذیه شده با محلول آب عسل دارای دزهای کشنده، زیر کشنده و بدون *Bt* نشان داد که بیشترین طول عمر زنبور *H. hebetor* در تیمار شاهد و کمترین مقدار آن در تیمار دز کشنده بود. این نتایج با نتایج جراحی و صفوی (۲۰۱۶) مبنی بر اثر قارچ *Metarhizium anisopliae* (Metschn.) Sorokin روی کاهش طول عمر زنبور *H. hebetor* در فواصل زمانی مختلف مطابقت دارد.

در بررسی ترجیح میزبانی *H. hebetor* روی لاروهای *E. kuehniella* تیمار شده با دزهای کشنده، زیرکشنده و بدون *Bt* (شاهد) که در آن لاروهای تیمار شده با ترکیب *Bt* دارای اثرات معنی‌داری روی تعداد تخم گذاشته شده، توانایی پارازیتیسیم (تعداد لارو پارازیت شده) و ظهور افراد بالغ زنبور *H. hebetor* بودند می‌توان اظهار داشت که زنبور *H. hebetor* میزبان‌های تیمار نشده (شاهد) را برای تخم‌گذاری و پارازیته کردن ترجیح می‌دهد و عملکرد بهتری روی آنها دارد. در حقیقت کاهش تعداد لارو پارازیته و همچنین کاهش ظهور افراد بالغ زنبور می‌تواند معلول کاهش تخم‌گذاری زنبور روی لاروهای تیمار شده به واسطه عدم ترجیح میزبانی آنها باشد.

دلیل دیگر کاهش تعداد تخم روی لاروهای تیمار شده با *Bt* می‌تواند به توانایی زنبورهای ماده در شناسایی لاروهای تیمار شده از لاروهای تیمار نشده باشد (صدارتیان و همکاران ۲۰۱۴). کاهش ظهور افراد بالغ ممکن است در نتیجه کاهش بقای زنبورها در لاروهای میزبان باشد که انتظار می‌رود به دلیل تغذیه پارازیتوئید از بافت‌های آلوده میزبان‌های تیمار شده باشد (ساندرز و همکاران ۲۰۰۷). به علاوه مرگ و میر مراحل نابالغ

شاهد (لاروهای سالم) کمتر بود. همچنین تاثیر منفی لاروهای تیمار شده با *Bt* روی کاهش تعداد تخم در زنبور *Cotesia marginiventris* (Cresson) توسط بائوئر و بوتل (۲۰۰۳) در زنبور *H. hebetor* روی لاروهای تیمار شده با *P. interpunctella* تیمار شده با *Bt* توسط الوافمی و همکاران (۲۰۰۹) گزارش شده است. کاهش تعداد تخم در زنبورهای رهاسازی شده روی لاروهای تیمار شده با *Bt* می‌تواند به دلیل اثر گذاری مستقیم و یا غیرمستقیم باکتری *Bt* روی زنبور پارازیتوئید باشد، به طوری که پارازیتوئیدها ممکن است به صورت مستقیم تحت تاثیر خود *Bt* قرار گرفته و تعداد تخم آنها کاهش یابد و یا به شکل غیر مستقیم توسط اجزاء مورد استفاده برای فرمولاسیون *Bt* مانند میکروسیلیس، پلی وینیل الکل و غیره کارایی پارازیتوئید از نظر تعداد تخم کاهش یابد (صدارتیان و همکاران ۲۰۱۴). همچنین طول دوره‌ی جنینی و طول دوره‌ی لاروی در زنبورهای پرورش یافته روی لاروهای تیمار شده با *Bt*، بیشتر از تیمار شاهد بود اما در دوره‌ی شفیرگی نتایج متفاوتی مشاهده شد و طول دوره‌ی شفیرگی روی لاروهای *E. kuehniella* بدون *Bt*، بیشتر از تیمارهای دزهای کشنده و زیرکشنده بود.

نتایج حاضر مبنی بر طولانی شدن طول دوره‌ی جنینی و لاروی با نتایج به دست آمده توسط برنال و همکاران (۲۰۰۲) روی زنبور *Parallorhogas* (Hym.: Braconidae) *pyralophagus* (Marsh) روی لاروهای تیمار شده *Eoreuma loftini* (Dyar) (Lep.: Pyralidae)، حافظ و همکاران (۱۹۹۵) روی زنبور *Apanteles ruficrus* (Haliday) روی لاروهای تیمار شده *Agrotis ypsilon* (Rottemberg) و همچنین بلومبرگ و همکاران (۱۹۹۷) در تحقیق روی زنبور *Microplitis croceipes* (Cresson) (Hym.: Braconidae) *H. armigera* همخوانی دارد.

دلیل طولانی شدن طول مراحل مختلف زندگی پارازیتوئیدها روی میزبان‌های تیمار شده با *Bt* می‌تواند به دلیل کاهش کیفیت میزبان باشد. از آنجایی که زنبورهای پارازیتوئید به طور ویژه به تغییر در کیفیت مواد غذایی میزبان خود حساس هستند، بلع دز زیرکشنده سم توسط میزبان آنها ممکن است روی

میزبان آلوده در اثر *Bt*، می‌تواند میزان زنده‌مانی مراحل اولیه زنبور را تحت تاثیر قرار دهد. بنابراین کاهش زنده‌مانی پارازیتوئیدها با توجه به توکسین‌های مترشحه توسط باکتری *Bt* برای کشتن میزبان، مورد انتظار است.

### منابع

- عبدی بسطامی ف، فتحی‌پوری و طالبی ع، ۱۳۸۹. مقایسه پارامترهای جدول زیستی سه جمعیت مختلف زنبور پارازیتوئید *Habrobracon hebetor* (Hym.: Braconidae) روی *Ephestia kuehniella* (Lep: Pyralidae) در شرایط آزمایشگاه. آفات و بیماری‌های گیاهی. جلد دوم، شماره ۷۸. صفحه‌های ۱۵۳ تا ۱۷۶.
- عطاران م، ۱۳۷۴. اثر میزبان‌های آزمایشگاهی بر روی خصوصیات زیستی زنبور پارازیتوئید *Habrobracon hebetor*. پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد حشره‌شناسی کشاورزی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس.
- Amir-Maafi M and Chi H, 2006. Demography of *Habrobracon hebetor* (Hym.: Braconidae) on two pyralid hosts (Lep.: Pyralidae). *Annals of the Entomological Society of America* 99: 84-90.
- Bailey A, Chandler D, Grant WP, Greaves J, Gillian P and Tatchell M, 2010. *Biopesticides, Pest Management and Regulation*. CAB International Publishing.
- Baur ME and Boethel DJ, 2003. Effect of Bt-cotton expressing Cry1A (c) on the survival and fecundity of two hymenopteran parasitoids (Braconidae, Encyrtidae) in the laboratory. *Biological Control* 26: 325-332.
- Bernal JS, Griset JG and Gillogly PO, 2002. Impacts of Developing on *Bt* Maize-Intoxicated Hosts on. *Journal of Entomology Science* 37: 27-40.
- Blumberg D, Navon A, Keren S, Goldenberg S and Ferkovich SM, 1997. Interactions among *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae), its larval endoparasitoid *Microplitis croceipes* (Hymenoptera: Braconidae), and *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Economic Entomology* 90: 1181-1186.
- Chen H, Zhang H, Zhu KY and Throne JE, 2012. Induction of reproductive diapause in *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) when reared at different photoperiods at low temperatures. *Environmental Entomology* 41: 697-705.
- Hafez M, Salama HS, Aboul-ela R, Zaki FN and Ragaei M, 1995. Effect of *Bacillus thuringiensis* on *Apanteles ruficrus* parasitizing the larvae of *Agrotis ypsilon*. *Journal of Islamic Academy of Sciences* 8: 33-36.
- Hopper KR, 2003. United States Department of Agriculture-Agricultural research service research on biological control of arthropods. *Pest Management Science* 59: 643-653.
- Jarrahi, A and Safavi SA, 2016. Sublethal effects of *Metarhizium anisopliae* on life table parameters of *Habrobracon hebetor* parasitizing *Helicoverpa armigera* larvae at different time intervals. *BioControl*. 1-9 p.
- Jijakli MH, 2010. European market of biological control agents: actual situation and perspectives. Final Report of an EU Project. 416. p.
- Lammers JW and MacLeod A, 2007. Report of a pest risk analysis, *Helicoverpa armigera*. Plant Protection Service (NL) and Central Science Laboratory (UK) Joint Pest Risk Analysis for *Helicoverpa armigera*. <https://secure.fera.defra.gov.uk/phiw/riskRegister/download> ExternalPra.cfm?id=3879. 2017.2.13.
- Milonas GP, 2005. Influence of initial egg density and host size on the development of the gregarious parasitoid *Bracon hebetor* on three different host species. *BioControl* 50: 415-428.
- Mohan M, Sushil SN, Baht JC and Gujar GT, 2008. Synergistic interaction between sublethal doses of *Bacillus thuringiensis* and *Campoletis chlorideae* in managing *Helicoverpa armigera*. *BioControl* 53:375-386.

- Oluwafemi AR, Rao Q, Wang X, and Zhang H, 2009. Effect of *Bacillus thuringiensis* on *Habrobracon hebetor* during combined biological control of *Plodia interpunctella*. *Insect Science* 16: 409–416.
- Rasool Khan R, Ashfaq M Ahmed and Talib Sahi SH, 2009. Mortality responses in *Bracon hebetor* (Say) (Braconidae, Hymenoptera) against some new chemistry and conventional insecticides under laboratory conditions. *Pakistan Journal of Agriculture Science* 46: 111-119.
- Romeis J, Meissle M and Bigler F, 2006. Transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* toxins and biological control. *Nature Biotechnology* 24: 63-71.
- Sanders CJ, Pell JK, Poppy GM, Raybould A, Garcia-Alonso M and Schuler TH, 2007. Host-plant mediated effects of transgenic maize on the insect parasitoid *Campoletis sonorensis* (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Biological Control* 40: 362-369.
- Sansinenea E, 2012. *Bacillus thuringiensis* Biotechnology. Springer. 392 p.
- Sedaratian A, Fathipour Y and Talaei-Hassanloui R, 2014. Deleterious effects of *Bacillus thuringiensis* on biological parameters of *Habrobracon hebetor* parasitizing *Helicoverpa armigera*. *BioControl* 59: 89-98.
- Sharma HC, Dhillon MK and Arora R, 2008. Effects of *Bacillus thuringiensis*  $\delta$ -endotoxin-fed *Helicoverpa armigera* on the survival and development of the parasitoid *Campoletis chloridae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 126: 1-8.
- Sing D and Mathew IL, 2015. The Effect of *Bacillus thuringiensis* and Bt Transgenics on Parasitoids during Biological Control. *International Journal of Pure and Applied Bioscience* 3(4): 123-131.
- Soundararajan RP, 2012. Pesticides- advances in chemical and botanical pesticides. InTech Janeza Trdine, Rijeka, Croatia. 392 p.
- Vega FE and Kaya HK, 2012. *Insect Pathology*. Academic Press.



## Effect of *Bacillus thuringiensis* Berliner on Some Biological Characteristics of Parasitoid *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconiadae)

M Famil<sup>1</sup>, Sh Hesami<sup>1\*</sup> and M Askari Seyahooei<sup>2</sup>

<sup>1</sup>MSc. Student and Assistant Professor, Respectively, Department of Entomology, Islamic Azad University, Shiraz Branch, Shiraz, Iran.

<sup>2</sup>Assistant Professor, Department of Plant Protection Research, Hormozgan Agricultural and Natural Resources Research Center, Bandarabbas, Iran.

\*Corresponding author: hesami@iaushiraz.ac.ir

Received: 31 May 2017

Accepted: 11 september 2018

### Abstract

Longevity, host preference, length of life stages and the number of offspring of *Habrobracon hebetor* were evaluated on the host larvae of *Ephestia kuehniella* treated with lethal and sub-lethal doses of *Bacillus thuringiensis*. Experiments were conducted in a completely randomized design under laboratory condition. The number of eggs decreased from 3.9 in control to 1.4 and 2.7 in lethal and sub-lethal doses, respectively. By reducing the number of parasitoid offspring from 3.7 in control to 0.6 and 1.2 in lethal and sub-lethal doses, also the adult parasitoid longevity decreased from 15.6 days in control to 12.3 and 13.7 days in lethal and sub-lethal doses, respectively. In the lethal dose of *Bt* treatment, duration of embryonic and larval stages of the wasp showed a significant increase compared to control, but pupal stage duration decreased in both lethal and sub-lethal doses of *Bt* treatment. Generally, by reducing the usage dose of *Bt* and avoiding its application during the critical stages of parasitoid life, the efficiency of their use in integrated pest management can be improved.

**Keyword:** *Bt*, Lethal dose, Sub-lethal dose.