

تولید کپسولهای نشاسته‌دار باکتری *Bacillus thuringiensis* حاوی مواد همراه مختلف و بررسی کارآیی آنها

رسول زارعی^۱، نورالدین شایسته^۲ و علی اصغر پورمیرزا^۳
۱، ۲، ۳، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استاد و دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه
تاریخ پذیرش مقاله ۸۲/۱/۲۷

خلاصه

باکتری *Bacillus thuringiensis B.* یکی از موثرترین حشره‌کش‌های میکروبی است که برای کنترل لارو بالپولکداران در مزرعه به کار می‌رود ولی به دلیل اثرات مخرب نور خورشید روی اسپورها و کریستال‌های این باکتری کارآیی آن در مزرعه محدود است و برای به حداقل رساندن کاهش کارآیی باید در فرمولاسیون‌های آن مواد محافظ پرتو فرابنفش موجود باشد. در این تحقیق ۱۶ فرمولاسیون مورد ارزیابی قرار گرفت و معلوم گردید که از لحاظ افزایش کارآیی باکتری در تحت تابش نور خورشید مناسب‌ترین فرمولاسیون مخلوط باکتری، ملاس چغندر قند و حنا می‌باشد. تعدادی از فرمولاسیون‌ها (گروه I) تحت تابش نور خورشید فاقد پرتو فرابنفش قرار گرفتند و تعداد دیگری از فرمولاسیون‌ها به مدت یک روز (گروه II) و یا دو روز (گروه III) تحت تابش نور خورشید واقع شدند جهت بررسی کارآیی فرمولاسیون‌ها از لاروهای سن پنجم پروانه موم‌خوار استفاده گردید. در گروه I، فرمولاسیون‌های کپسوله شده و کپسوله نشده حاوی ملاس و حنا به ترتیب ۸۰ و ۷۷/۸ درصد تلفات در لارو ایجاد کردند. در گروه II فرمولاسیون کپسوله شده دارای ملاس و حنا با ۷۳/۳ درصد بیشترین تلفات را به وجود آورد. در گروه III فرمولاسیون کپسوله شده حاوی ملاس و حنا ۶۸/۹ درصد تلفات در لارو ایجاد نمود. رابطه معکوسی بین طول مدت تابش نور خورشید و کارآیی فرمولاسیون‌ها مشاهده گردید. مقدار OAR فرمولاسیون کپسوله شده دارای حنا و ملاس در گروه‌های II و III به ترتیب برابر ۹۱/۶ و ۸۶/۱ درصد بود. با افزایش شکر به محلول فرمولاسیون‌ها به پایداری آنها افزوده شد.

واژه‌های کلیدی: فرمولاسیون، *Bacillus thuringiensis*، نشاسته، نور خورشید

مقدمه

حشره‌کش‌های شیمیایی به دلایل متعدد از جمله قدرت کنترل سریع حشرات سال‌های متمادی بر علیه آفات گوناگون مصرف شده‌اند ولی مشکلاتی نظیر مقاومت آفات و افزایش آگاهی جوامع بشری نسبت به اثرات سوء زیست محیطی آنها باعث شده است که مصرف بسیاری از این ترکیبات منسوخ و یا محدود شود و در حال حاضر برای کنترل آفات استفاده از عوامل بیولوژیکی از جمله عوامل بیماری‌زای حشرات بیشتر مد نظر می‌باشد (۷). در این راستا بکارگیری باکتری *Bacillus thuringiensis (B.t.)* از اهمیت خاصی برخوردار است (۱).

این باکتری از مهمترین عوامل بیماری‌زای حشرات بوده و فرمولاسیون‌های آن ۹۲ درصد مصرف حشره‌کش‌های بیولوژیک جهان را تشکیل می‌دهد (۱۷). باکتری *B.t.* با تولید نوعی پروتئین سمی اثر حشره‌کشی شدید روی لارو برخی از حشرات به ویژه بالپولکداران دارد (۱) ولی فرمولاسیون‌های آن در طبیعت پایداری کمی دارند و این سبب می‌شود تا مصرف آنها محدود گردد (۵، ۲۰). از میان عوامل طبیعی پرتوهای فرابنفش نور خورشید مهمترین عامل کاهش دهنده اثر فرآورده‌های *B.t.* می‌باشد (۳، ۴، ۹، ۲۰). پژوهشگران تلاش کرده‌اند تا با کپسوله نمودن این باکتری اثرات منفی پرتوهای نور خورشید را کاهش

تشتک پتری انتخاب و در داخل هر یک ۳ گرم محیط کشت حاوی باکتری ریخته شد سپس با توجه به نوع فرمولاسیون، طبق جدول (۱) مواد همراه با نسبت‌های یک درصد قرمز کنگو (CR)، ۵ درصد ملاس چغندر قند (M) و ۵ درصد حنا (H) به آنها اضافه گردید و سپس ۳ گرم نشاسته (St) پیش ژلاتینه به هر یک افزوده شد و وزن مواد داخل هر تشتک پتری مشخص گردید.

جدول ۱- مقادیر به کار رفته از مواد همراه در هر فرمولاسیون

برحسب گرم			
حنا	ملاس چغندر قند	قرمز کنگو	فرمولاسیون
۰/۱۵	۰/۱۵	۰/۰۳	۱
۰	۰/۱۵	۰/۰۳	۲
۰/۱۵	۰	۰/۰۳	۳
۰/۱۵	۰/۱۵	۰	۴
۰	۰	۰/۰۳	۵
۰	۰/۱۵	۰	۶
۰/۱۵	۰	۰	۷
۰	۰	۰	۸

مقدار باکتری به کار رفته در هر فرمولاسیون طوری انتخاب شد که از اختلاط هر فرمولاسیون به نسبت ۱۰ درصد با غذای مصنوعی، میزان باکتری موجود در ماده غذایی برابر با ۲۰۰۰۰ قسمت در میلیون بود. در کپسوله نمودن باکتری از قرمز کنگو، ملاس چغندر قند و حنا به تنهایی یا مخلوط با یکدیگر استفاده شد. در تهیه ۸ فرمولاسیون غیر کپسوله، مواد همراه به تنهایی یا در اختلاط با هم به ۳ گرم از محیط کشت حاوی باکتری اضافه گردید. بنابراین در کل ۱۶ فرمولاسیون تهیه شد.

برای تابش‌دهی فرمولاسیون‌ها ابتدا هر یک از ۱۶ فرمولاسیون به ۳ گروه تقسیم گردید بدین ترتیب هر گروه ۱۶ تایی دارای ۸ فرمولاسیون کپسوله شده و ۸ فرمولاسیون کپسوله نشده بود. کلیه تشتک‌های پتری در مقابل نور خورشید قرار داده شدند و روی تشتک‌های پتری گروه I در شیشه‌ای گذاشته شد تا از عبور پرتو فرابنفش B جلوگیری شود. پس از ۲۴ ساعت روی گروه II فرمولاسیون‌ها با در شیشه‌ای پوشانیده شد. روی گروه III فرمولاسیون‌ها ۴۸ ساعت بعد از شروع آزمایش با در شیشه‌ای مسدود گردید.

دهند و در این راستا با تولید فرمولاسیون‌های کپسوله شده باکتری حاوی مواد همراه توانسته‌اند اسپورها و کریستال‌های آنرا از اثرات سوء تابش خورشید تا حدودی حفظ نمایند (۳، ۸، ۱۴، ۱۵، ۱۶). در بین حفاظت‌کننده‌های باکتری، قرمز کنگو مؤثرترین ترکیب معرفی شده است (۱۹) ولی کاربرد آن توجیه اقتصادی ندارد (۶). مقاومت آفات در برابر *B.t.* می‌تواند عامل محدودکننده دیگری در افزایش میزان مصرف آن باشد و بنابراین لازم است که با افزایش کارایی باکتری از سرعت بروز پدیده مقاومت نیز کاسته شود (۱۰، ۱۳). با توجه به اهمیت افزایش کارایی *B.t.* در کنترل حشرات، در دانشگاه ارومیه در سال ۱۳۷۸ امکان بکارگیری مواد همراه ارزان قیمت در تولید فرمولاسیون‌های کارآمد و پایدارتر *B.t.* در برابر نور خورشید مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

پروانه‌های موم‌خوار بزرگ در سال ۱۳۷۸ از زنبورداری دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه جمع‌آوری گردید و در اتاق پرورش با دمای 2 ± 30 درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی 5 ± 55 درصد، ۱۴ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی برای نسل‌های متعدد بر روی غذای مصنوعی پرورش داده شد (۱۱) و آزمایش‌ها نیز در همین محل انجام یافتند.

برای تشخیص سن لاروی اندازه عرض کپسول سر و وزن لارو مد نظر قرار گرفت و برای سهولت کار از لارو سن پنجم استفاده گردید.

نمونه اولیه باکتری *B.t.* در محیط کشت مایع تکثیر و شمارش اسپورها در شرایط سترون انجام شد و با رقیق‌سازی محلول حاوی 10^{-9} تهیه گردید.

آزمایش‌های مقدماتی زیست‌سنجی حداقل و حداکثر غلظت باکتری فاقد مواد همراه برای ایجاد ۲۰ و ۸۰ درصد تلفات در لارو سن پنجم را به ترتیب ۵۰۰۰ و ۵۰۰۰۰ قسمت در میلیون مشخص نمود با استفاده از فواصل لگاریتمی غلظت‌های ۳۱۵۴۸، ۱۹۹۰۵، ۱۲۵۵۹ و ۷۹۲۴ قسمت در میلیون نیز تعیین گردید. برای هر غلظت از ۱۰ عدد لارو استفاده شد و آزمایش به روش استاندارد (۱۰) و در ۳ تکرار انجام یافت.

برای تهیه هشت فرمولاسیون کپسوله شده، ابتدا ۸ عدد

نتایج

شمارش اسپور با غلظت 10^{-6} و در ۵ تکرار صورت گرفت و میانگین تعداد اسپور موجود در هر میلی‌لیتر از محیط کشت $10^7 \times 5$ عدد بر آورد شد.

مقدار ۵۰ LC باکتری فاقد مواد همراه بعد از ۱۲۰ ساعت برای لارو سن پنجم ۱۹۳۹۱ قسمت در میلیون برآورد گردید و معادله رگرسیونی لگاریتم غلظت باکتری (X) و پروبیت در صد تلفات لارو (Y) با r^2 مساوی ۸۵ درصد به صورت $y=2+3/5x$ برآورد شد.

نتایج تاثیر فرمولاسیون‌ها بر روی لارو نشان داد که در گروه I، فرمولاسیون‌های کیسوله شده و کیسوله نشده حاوی ملاس و حنا به ترتیب ۸۰ و ۷۷/۸ درصد تلفات در لارو ایجاد کردند. در گروه II فرمولاسیون کیسوله شده دارای ملاس و حنا با ۷۳/۳ درصد بیشترین تلفات را بوجود آورد. در گروه III فرمولاسیون کیسوله شده حاوی ملاس و حنا ۶۸/۹ درصد تلفات در لارو ایجاد نمود. بین فرمولاسیون‌ها (فاکتور A) تفاوت معنی‌دار مشاهده گردید و طول زمان تابش پرتو فرابنفش (فاکتور B) در کارایی فرمولاسیون‌ها تاثیر معنی‌داری داشت و این دو فاکتور روی یکدیگر اثر متقابل معنی‌دار نشان دادند (جدول ۲).

جدول ۲ - تجزیه واریانس آزمایش فاکتوریل پس از تبدیل درصد

تلفات به آرک سینوس \sqrt{X}

منابع تغییر	درجه آزادی	مجموع مربعات	میانگین مجموع مربعات	نسبت F
بلوک	۴	۱۲/۲۲۰	۳/۰۵۵	۰/۱۴ ^{ns}
فاکتور A (فرمولاسیون)	۱۵	۱۲۷۱۵/۰۲۴	۸۴۷/۶۶	۳۹/۰۸ ^{**}
فاکتور B (زمان تابش)	۲	۴۷۱۰/۸۵۴	۲۳۵۵/۴۲	۱۰۸/۶۰ ^{**}
اثر متقابل	۳۰	۴۲۹۵/۸۳۶	۱۴۳/۱۹	۶/۶۰ ^{**}
اشتباه	۱۸۸	۴۰۷۷/۲۱۷	۲۱/۶۸۷	
کل	۲۳۹	۲۵۸۱۱/۱۵۱		CV=۰/۰۹/۷۰

ns: در سطح پنج درصد معنی‌دار نیست.

** : در سطح یک درصد معنی‌دار است.

گروه‌بندی میانگین تیمارها به روش آزمون چند دامنه دانکن نشان داد که فرمولاسیون‌های دارای (نشاسته پیش ژلاتینه + ملاس + حنا)، (قرمزکنگو + حنا + ملاس) و (نشاسته

برای بررسی اثر کشندگی فرمولاسیون‌ها روی لارو، آزمایش فاکتوریلی با طرح بلوک‌های کامل تصادفی که فاکتور A نوع فرمولاسیون و فاکتور B طول زمان تابش‌دهی بود در ۵ تکرار انجام یافت و در هر تکرار از ۹ عدد لارو سن پنجم استفاده شد. داخل ظرف یکبار مصرف ۱۰ گرم ماده غذایی حاوی مقدار مشخصی از یک فرمولاسیون ریخته شده و سپس لاروها به ظرف منتقل گردیدند و تلفات بعد از ۱۲۰ ساعت یادداشت شد.

جهت بررسی میزان کارایی فرمولاسیون‌ها در مقابل تابش خورشید از درصد OAR^۱ استفاده گردید. این مقادیر طبق رابطه

$$\%OAR = \frac{\text{درصد تلفات بعد از تابش}}{\text{درصد تلفات قبل از تابش}} \times 100$$

محاسبه شد. برای بررسی اثر مواد همراه در وزن لاروها، آزمایشی با طرح کرت‌های کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و یک شاهد و در ۵ تکرار انجام گردید و در هر تکرار از ۶ عدد لارو سن پنجم استفاده شد. قرمزکنگو، ملاس چغندرقد، نشاسته و حنا با نسبت‌های بیان شده به ماده غذایی اضافه گردیده و لاروها روی آنها پرورش یافتند و بعد از یک هفته وزن هر لارو تعیین گردید.

در تعیین میزان جذب پرتو فرابنفش توسط مواد همراه از طیف‌سنج دیجیتالی استفاده شد. از قرمزکنگو، ملاس چغندرقد و حنا به ترتیب غلظت‌های ۱، ۵ و ۵ درصد محلول استاندارد با آب تهیه گردید و طیف‌سنج برای طول موج‌های بین ۲۰۰ تا ۴۰۰ نانومتر تنظیم شده و با رسم نمودار میزان جذب پرتو فرابنفش برای هر کدام مشخص گردید.

در بررسی پایداری فرمولاسیون‌ها به ۱ گرم از هر فرمولاسیون ۳۰ میلی‌لیتر آب اضافه گردیده و سپس به خوبی تکان داده شد. پس از ۱۰ دقیقه میزان رسوب‌دهی تعیین گردید و به فرمولاسیون‌هایی که رسوب داده بودند ۱ گرم شکر اضافه گردیده و دوباره تکان داده شد پس از ۱۰ دقیقه میزان رسوب‌دهی مجدداً مورد ارزیابی قرار گرفت.

در تجزیه و تحلیل داده‌ها برای تعیین مقادیر LC_{۵۰} از برنامه رایانه‌ای SPSS و گزینه Probit استفاده شد. نتایج به دست آمده از آزمایش فاکتوریل و طرح کرت‌های کاملاً تصادفی با نرم افزار MSTATC تجزیه و تحلیل گردید.

پیش ژلاتینه+ حنا+ ملاس+ قرمز کنگو) در یک گروه قرار گرفته و حداکثر تلفات را بر لارو وارد ساختند و فرمولاسیون باکتری بدون مواد همراه با فرمولاسیون حاوی فقط حنا، یک گروه را تشکیل داده و کمترین تلفات را در لاروها ایجاد نمودند. در گروه بندی سطوح زمان تابش (فاکتور B) معلوم گردید که تیمارهای مربوط به گروه های I، II و III به ترتیب در سه دسته متمایز a، b و c قرار می گیرند و بیشترین تلفات لارو مربوط به گروه I بوده و کمترین تلفات لارو در گروه III می باشد. بررسی اثر متقابل نشان داد که فرمولاسیون های (نشاسته + حنا) متعلق به گروه I و (نشاسته + قرمز کنگو) مربوط به همین گروه بیشترین تلفات و فرمولاسیون های (B.t.) مربوط به گروه های II و III کمترین تلفات را به لارو وارد کردند. مقدار کم ضریب تغییرات حاکی از دقت مطلوب آزمایش می باشد.

در بررسی کارآیی فرمولاسیون ها در برابر تابش خورشید، جدول ۳ نشان می دهد که در گروه II فرمولاسیون ردیف ۱ که ۱ روز تحت تابش نور خورشید دارای پرتو فرابنفش بود کارآیی

خود را کاملا حفظ نموده و میزان تاثیر آن نسبت به شاهد (B.t.) ۲/۶ برابر می باشد. پس از آن فرمولاسیون های ردیف های ۵، ۲، ۱۰، ۳، ۹، ۶، ۱۳ و ۴ کارآیی خوبی را نشان داده اند و میزان تاثیر نسبی آنها از ۲/۳۸ تا ۲/۵۲ برابر تیمار شاهد بوده است از این جدول در مورد گروه III معلوم می گردد فرمولاسیون ردیف ۱ پس از آنکه ۲ روز تحت تابش نور خورشید دارای پرتو فرابنفش بوده است کارآیی خود را کاملا حفظ نموده و میزان تاثیر نسبی آن ۵/۲ برابر شاهد می باشد و پس از آن فرمولاسیون های ردیف های ۵، ۲، ۳، ۹، ۱۰، ۶، ۱۳ و ۴ تاثیر خوبی را نسبت به تیمار شاهد داشته اند و این مقادیر از ۴/۴۸ تا ۵/۰۴ برابر متغییر می باشد.

بررسی اثر مواد همراه در افزایش وزن لاروها نشان داد که مواد همراه با یکدیگر تفاوت معنی دار دارند (جدول ۴).

گروه بندی میانگین تیمارها نشان داد که میانگین وزن لاروهای تغذیه نموده از تیمار حاوی ملاس چغندر قند نسبت به وزن لاروهای سایر تیمارها با اطمینان ۹۹ درصد بیشتر است.

جدول ۳- مقادیر OAR و تاثیر نسبی در تیمارهای مربوط به گروه های II و III

گروه II				گروه III			
ردیف	فرمولاسیون	OAR درصد	تاثیر نسبی	ردیف	فرمولاسیون	OAR درصد	تاثیر نسبی
۱	St-CR-M-H	۱۰۰	۲/۶۰	۱	St-CR-M-H	۱۰۰	۵/۲۰
۵	CR-M-H	۹۶/۹	۲/۵۲	۵	CR-M-H	۹۶/۹	۵/۰۴
۲	St-CR-M	۹۶/۵	۲/۵۱	۲	St-CR-M	۹۶/۵	۵/۰۲
۱۰	CR-H	۹۶/۵	۲/۵۱	۳	St-CR-H	۹۶/۴	۵/۰۲
۳	St-CR-H	۹۶/۴	۲/۵۱	۹	CR-H	۹۶/۴	۵/۰۲
۹	CR-M	۹۶/۴	۲/۵۱	۱۰	CR-H	۹۳/۷	۴/۸۸
۶	St-CR	۹۵/۸	۲/۴۹	۶	St-CR	۹۱/۷	۴/۷۷
۱۳	CR	۹۵/۵	۲/۴۸	۱۳	CR	۹۰/۷	۴/۷۲
۴	St-M-H	۹۱/۶	۲/۳۸	۴	St-M-H	۸۶/۱	۴/۴۸
۱۱	M-H	۷۹/۹	۲/۰۸	۱۱	M-H	۷۱/۴	۳/۷۱
۸	St-H	۷۰/۹	۱/۸۴	۸	St-H	۵۸	۳/۰۲
۷	St-M	۷۰	۱/۸۲	۷	St-M	۵۶/۶	۲/۹۴
۱۴	M	۶۳/۲	۱/۶۴	۱۴	M	۴۰	۲/۰۸
۱۵	H	۶۱/۲	۱/۵۹	۱۵	H	۳۸/۷	۲/۰۱
۱۲	St	۵۳/۸	۱/۴۰	۱۲	St	۳۸/۴	۲/۰۰
۱۶	Bt	۳۸/۴	۱/۰۰	۱۶	Bt	۱۹/۲	۱/۰۰

در بررسی پایداری فرمولاسیون‌ها ۱۰ دقیقه پس از اضافه نمودن فرمولاسیون‌ها به آب به استثنای فرمولاسیون‌های غیر کپسوله ملاس چغندر قند و قرمز کنگو بقیه فرمولاسیون‌ها ته‌نشین شدند با اضافه کردن شکر به فرمولاسیون‌ها به غیر از فرمولاسیون‌های حاوی حنا که ته‌نشین گردیدند بقیه فرمولاسیون‌ها انسجام خود را حفظ نمودند.

بحث

باکتری کپسوله شده با نشاسته پیش ژلاتینه در طبیعت به علت اثر پرتوهای فرابنفش نور خورشید در ۴ روز کارآیی خود را از دست می‌دهد (۹، ۱۴). این نتیجه با یافته‌های بررسی حاضر تشابه دارد. بنابراین استفاده از مواد کاهش دهنده آثار سوء پرتوهای فرابنفش در تهیه فرمولاسیون‌های *B.t.* ضروری می‌باشد.

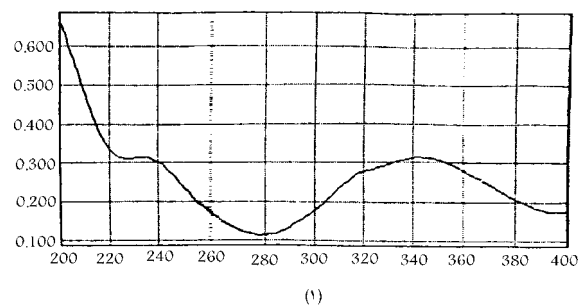
از موادی که باعث افزایش کارآیی باکتری می‌گردند سینرژست‌ها و مواد محرک تغذیه را می‌توان نام برد (۱، ۲، ۱۲). بکارگیری این مواد در تولید فرمولاسیون باکتری باید به گونه‌ای صورت گیرد تا ضمن افزایش کارآیی از لحاظ اقتصادی نیز مقرون به صرفه باشد (۱). برای نیل به این هدف در بررسی حاضر از دو ترکیب ارزان قیمت حنا و ملاس چغندر قند به ترتیب به عنوان سینرژست و اشتها آور در تهیه فرمولاسیون‌ها استفاده گردید و از قرمز کنگو که یک ماده شیمیایی گران قیمت بوده و جذب‌کننده پرتوهای فرابنفش است جهت مقایسه استفاده شد. میزان تاثیر هر یک از این مواد در حفظ کارآیی فرمولاسیون معلوم کرد که فرمولاسیون‌های حاوی ملاس و حنا که تحت تاثیر پرتو فرابنفش قرار نگرفته بودند بالاترین درصد تلفات را به لارو وارد ساختند و در این مورد می‌توان تصور نمود که ملاس باعث افزایش تغذیه لاروها شده و در نتیجه غلظت کشنده باکتری وارد دستگاه گوارش حشره شده است و حنا به علت داشتن اسید تانیک به عنوان سینرژست عمل نموده و میزان تاثیر باکتری را افزایش داده است. در تیمارهای گروه II فرمولاسیون‌های CR-M-H، CR-M-H و St-M-H به ترتیب ۷۳/۳، ۶۸/۹ و ۶۸/۹ درصد تلفات در لارو ایجاد کردند و فرمولاسیون باکتری کپسوله شده فاقد مواد همراه باعث ۳۱/۲ درصد تلفات شد که در مقایسه با سایر فرمولاسیون‌ها نتیجه

جدول ۴- تجزیه واریانس افزایش وزن لاروهای تغذیه نموده از مواد به کار رفته در فرمولاسیون

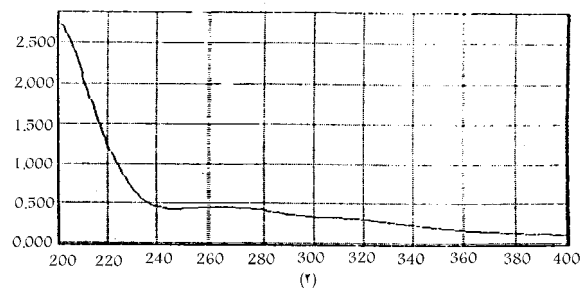
نسبت F	میانگین مربعات	مجموع مربعات	درجه آزادی منابع تغییر	تیمار
** ۱۰۷/۳۴۸	۹۸۷۶	۳۹۵۰۴	۴	تیمار
	۹۲	۱۸۴۰	۲۰	خطا
		۴۱۳۴۴	۲۴	کل

** : در سطح یک درصد معنی‌دار است.

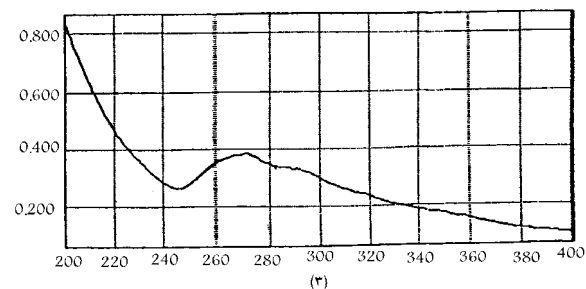
میزان جذب پرتو فرابنفش توسط قرمز کنگو، حنا و ملاس در شکل ۱ مشاهده می‌شود. این شکل نشان می‌دهد که میزان جذب پرتو فرابنفش در قرمز کنگو از ۲۸۰ تا ۳۴۵ نانومتر روندی صعودی داشته و سپس در ۳۹۰ نانومتر ثابت مانده است. جذب توسط ملاس چغندر قند تقریباً روند ثابتی را نشان می‌دهد. حداکثر جذب حنا در مجاورت ۲۸۰ نانومتر بوده و سپس سیر نزولی آن تا ۴۰۰ نانومتر ادامه می‌یابد.



(۱)



(۲)



(۳)

شکل ۱- روند جذب پرتو فرابنفش توسط مواد کمکی، (۱) قرمز کنگو، (۲) ملاس، (۳) حنا

تغذیه سبب افزایش بیشتر تغذیه و وزن لارو گردید و این نتیجه با یافته‌های گزارش شده پیشین که ملاس چغندر قند را به عنوان ماده اشتها آور و افزایش دهنده تغذیه نام برده‌اند هماهنگی دارد (۶). پژوهشگران ملاس چغندر قند را به عنوان جذب کننده پرتوهای فرابنفش معرفی نموده‌اند (۱۸، ۱۹) و با افزایش غلظت ملاس تا ۲۵ درصد میزان OAR را به ۹۴/۸ درصد رساندند ولی افزایش غلظت ملاس باعث گردید تا فرمولاسیون انسجام خود را از دست داده و ته‌نشین شود (۶).

فرمولاسیون‌های کپسوله شده توسط نشاسته پیش ژلاتینه به راحتی در آب پخش نمی‌شوند (۱۶) که این نتایج مشابه یافته‌های بررسی حاضر است و بدین جهت از شکر به عنوان پخش کننده فرمولاسیون در آب استفاده گردید. شکر باعث شد تا نشاسته پیش ژلاتینه به طور یکنواخت در آب حل گردد و چون شیرین بودن طعم غذا باعث افزایش اشتها حشره می‌شود (۲، ۶) در نتیجه افزودن شکر به این باکتری سبب ورود دز کننده به داخل بدن حشره شده و بر کارایی آن می‌افزاید. استفاده از فرمولاسیون کپسوله شده حاوی ملاس و حنا با سم‌پاش دارای بهم‌زن در مبارزه با آفات می‌تواند مناسب باشد چون ضمن داشتن توجیه اقتصادی و خاصیت جذب نور خورشید، میزان تلفات را به علت بروز پدیده سینرژسم و اثر محرک تغذیه‌ای افزایش می‌دهد.

قابل توجهی نمی‌باشد. در مقایسه درصد تلفات لارو در تیمارهای گروه III معلوم شد که در این تیمارها نیز فرمولاسیون‌های CR-M-H، St-M-H و CR-M-H با ۶۸/۹ درصد تلفات بیشترین تلفات را به لارو وارد نمودند در صورتی که تیمار شاهد در لارو موجب ۱۱/۱ درصد تلفات گردید بنابراین ملاس و حنای کپسوله شده در نشاسته پیش ژلاتینه مکمل مناسبی برای یکدیگر می‌باشند و در تهیه فرمولاسیون می‌توان از مخلوط آنها استفاده نمود.

در این بررسی کلیه فرمولاسیون‌های حاوی قرمز کنگو پرتوهای فرابنفش را به خوبی جذب نمودند به طوری که حتی در گروه III به مدت دو روز تحت تابش این پرتوها بودند مقادیر OAR بیش از ۹۰ درصد بود که مشابه نتایج پژوهشگران قبلی می‌باشد (۱۹) و به علاوه مقادیر OAR ملاس چغندر قند برای گروه‌های II و III به ترتیب ۶۳/۲ و ۴۰ درصد به دست آمد که این نتایج نیز با یافته‌های محققین دیگر که مقادیر OAR را برای ملاس چغندر قند با غلظت ۵ درصد در گروه III را ۴۱/۶ درصد برآورد نموده‌اند (۱۸) مطابقت دارد. در میان تیمارهای فاقد قرمز کنگو فرمولاسیون St-M-H بهترین درصد کارایی را نشان می‌دهد که برای گروه‌های II و III مقادیر OAR به ترتیب ۹۱/۶ و ۸۶/۱ درصد می‌باشد که نشان دهنده مخلوط مناسب در تهیه فرمولاسیون‌ها است. ملاس چغندر قند به عنوان محرک

REFERENCES

1. Atlas, R.M. & R. Bertha. 1998. Microbial Ecology. 4th Ed. Benjamin Science Publishing, California: 694pp.
2. Bartelt, R.J., M.R. McGuire & D.A. Black. 1990. Feeding stimulants for the European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae): additives to a starch-based formulation for *Bacillus thuringiensis* Berliner. Environmental Entomology 19:182-189.
3. Behle, R.W., M.R. McGuire & B.S. Shasha. 1996. Extending the residual insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* with casien based formulations. Journal of Economic Entomology 89:1399-1405.
4. Behle, R.W., M.R. McGuire & B.S. Shasha. 1997. Effects of sunlight and simulated rain on residual activity of *Bacillus thuringiensis* formulations. Journal of Economic Entomology 90:1560-1566.
5. Betz, F.S., S.F. Forsyth & W. E. Stewart. 1990. Registration requirements and safety consideration for microbial pest control agents in North America. PP: 3-10. In: M.Laird, L. A. Lacey and E. W. Davidson (Eds.). Safety of Microbial Insecticides. CRC Press, Florida.
6. Burges, H.D. & K.A. Jones. 1998. Formulation of bacteria, viruses and protozoa to control insects. PP. 33-127. In: H.D. Burges (Ed.). Formulation of Microbial Biopesticides. Kluwer Academic Publisher, London.
7. Dent, D.R. 1993. The use of *Bacillus thuringiensis* as an insecticide. pp.19-32. In: J.D. Gareth (Ed.). Exploitation of Microorganisms. University Press, Cambridge, London.
8. Dunkle, R.L. & B.S. Shasha. 1988. Starch-encapsulated *Bacillus thuringiensis*: a potential new method for increasing environmental stability of entomopathogenes. Environmental Entomology 17:120-126.

9. Dunkle, R.L. & B.S. Shasha. 1989. Response of starch-encapsulated *Bacillus thuringiensis* containing ultraviolet screens to sunlight. *Environmental Entomology* 18:1035-1041.
10. Gould, F., A. Anderson, A. Reynolds, L. Bumgarner, & W. Moar. 1995. Selection and genetic analysis of a *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) strain with high levels of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins. *Journal of Economic Entomology* 88:1545-1559.
11. King, E.G. & G.G. Hartley. 1985. *Galleria mellonella*. PP. 301-303. In: P. Singh and R.F. Moore [Eds.]. *Hand Book of Insect Rearing*. Vol. II. Elsevier, Amsterdam.
12. Liu, Y.B. & B.E. Tabashnik. 1997. Synergism of *Bacillus thuringiensis* by ethylenediamine treated in susceptible and resistant larvae of diamondback moth. *Journal of Economic Entomology* 90: 287-292.
13. Marcon, P.C.R.G., B.D. Siegfried, T. Spencer, & W. D. Hutchison. 2000. Development of diagnostic concentrations for monitoring *Bacillus thuringiensis* resistance in European corn borer (Lepidoptera: Crambidae). *Journal of Economic Entomology* 93:925-930.
14. McGuire, M.R., B.S. Shasha, C.E. Eastman & H. Olumi-Sadeghi. 1996. Starch and flour-based sprayable formulations: Effect on rainfastness and solar stability of *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Economic Entomology* 89:863-869.
15. McGuire, M.R. & B. Shasha. 1992. Adherent granules for encapsulation of insect control agents. *Journal of Economic Entomology* 85:1425-1433.
16. McGuire, M.R., B.S. Shasha, L.C. Lewis, R.J. Bartelt, & K. Kinne. 1990. Field evaluation of granular starch formulations of *Bacillus thuringiensis* against *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Economic Entomology* 83:2207-2210.
17. Powell, K.A. 1993. The commercial exploitation of microorganisms in Agriculture. PP: 441-459 In: J.D. Gareth [Ed.], *Exploitation of microorganisms*. University Press, Cambridge, London.
18. Shapiro, M., P. Poh-Agin & R.A. Bell. 1983. Ultraviolet protectants of the gypsy moth (Lepidoptera: Lymanteridae) *nuclear polyhedrosis* virus. *Environmental Entomology* 12:982-985.
19. Shapiro, M. 1989. Congo red as an ultraviolet protectant for the gypsy moth (Lepidoptera: Lymanteridae) *nuclear polyhedrosis* virus. *Journal of Economic Entomology* 82:548-550.
20. Tamez-Guerra, P., M.R. McGuire, R.W. Behle, B.S. Shasha, & L.J. Galan Wong. 2000. Assessment of microencapsulated formulations for improved residual activity of *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Economic Entomology* 93:219-225.

Starch-Encapsulating of *Bacillus thuringiensis* Berliner Containing Different Additives and Evaluation of Their Efficiency

R. ZAREIE¹, N. SHAYESTE² AND A.A. POURMIRZA³

1, 2, 3, Former Graduate Student, Professor and Associate Professor, Faculty of Agriculture, University of Urmia, Urmia, Iran

Accepted April. 16, 2003

SUMMARY

Bacillus thuringiensis Berliner is a highly efficacious biopesticide used to control lepidopteran pest in the field, but it has limited residual activity under field conditions because sunlight inactivates spores and crystals. To minimize loss of activity, formulations must contain ultraviolet protectants. In this study we assessed 16 formulations of *B.thuringiensis* and determined optimal mixtures of molasses and henna for improving *B.thuringiensis* residual activity after exposure to sunlight. Some of formulations (group I) were exposed to ultraviolet excluded sunlight and two other groups of formulations were exposed to sunlight either for one day (group II) or for two days (group III). All formulations were used against 5th instar *Galleria mellonella* L. larvae. In group I encapsulated and non-encapsulated formulations containing molasses and henna killed 80 and 77.8% of the larvae respectively. In group II the highest mortality rate (73.3%) was observed with molasses and henna encapsulated formulation. In group III encapsulated formulation of molasses and henna also provided considerable protection from light-induced degradation and killed 68.9% of larvae. There was an inverse relationship between duration of irradiation and formulation efficiency. The rate of OAR for encapsulated formulations in groups II and III were 91.6 and 86.1% respectively. Formulation stability increased with addition of sugar to their solutions.

Key words: Formulation, *Bacillus thuringiensis*, Starch, Sunlight.