

## ارزیابی کارایی *Bacillus thuringiensis* در م‌هار زیستی دوبالان قارچ خوراکی در آزمایشگاه و مزرعه

رسول مرزبان<sup>۱\*</sup>، عزیز شیخی گرجان<sup>۱</sup>، محبوبه میرزایی<sup>۱</sup>، علی محمدی پور<sup>۱</sup>، ابراهیم گیلاسیان<sup>۱</sup>، رحیم اسلامی زاده<sup>۲</sup>، حسین خباز<sup>۱</sup>  
 ۱- مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران  
 ۲- مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی صفی آباد دزفول، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، دزفول، ایران  
 \* مسئول مکاتبات: رسول مرزبان، پست الکترونیک: marzban@iripp.ir

تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۳/۲۱

۵۲)۵۵-۶۳

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۶/۲۲

### چکیده

با توجه به این که دوبالان پوسیده خوار از آفات دائمی سالن‌های پرورش قارچ خوراکی هستند، به‌ناچار بهره بردارن از سموم شیمیایی به‌طور مکرر استفاده می‌کنند. کارگران سالن‌های پرورش قارچ و مصرف‌کنندگان قارچ خوراکی همواره در معرض تهدید سموم شیمیایی هستند، لذا معرفی روش‌های غیرشیمیایی و بیولوژیک ضروری است. این پژوهش در قالب دو آزمایش در شرایط آزمایشگاه و مزرعه انجام شد. در آزمایشگاه فرمولاسیون تجاری بایوفلش با ماده مؤثره *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* با تعدادی از حشره‌کش‌های رایج روی کمپوست استفاده شد. این آزمایش در آزمایشگاه در قالب طرح کاملاً تصادفی با هفت تیمار شامل دیفلوبنزورون ۰/۷۵ و یک در هزار، بایوفلش یک و دو در هزار، اسپینوساد (Tracer<sup>®</sup>) ۰/۳ و ۰/۶ در هزار و شاهد (آب) با ۱۰ تکرار در روزهای مختلف انجام شد. در شرایط مزرعه با توجه به نتایج آزمایشگاه، آزمایش در سه مرحله، محلول‌پاشی بایوفلش (Bti) یک در هزار روی کمپوست هم‌زمان با تلقیح اسپان، محلول‌پاشی بایوفلش به میزان ۶۰ میلی‌لیتر در مترمربع روی کمپوست قبل از خاک‌دهی و کاربرد بایوفلش به میزان ۶۰ میلی‌لیتر در مترمربع همراه با آب آبیاری شش روز پس از خاک‌دهی انجام شد. هر سه مرحله در قالب آزمون t، بایوفلش با شاهد (روش معمول) مقایسه شد. نتایج آزمایشگاه نشان داد که همه حشره‌کش‌ها می‌توانند در کاهش جمعیت دوبالان خسارت‌زا مؤثر باشند، به‌طوری که میانگین کارایی حشره‌کش‌های دیفلوبنزورون (یک در هزار)، اسپینوساد (۰/۶ در هزار) و بایوفلش (دو در هزار) روی دوبالان ۱۵ روز پس از تیمار به‌ترتیب ۶۷/۹، ۷۴/۲ و ۷۹/۹ درصد بود که تفاوت معنی‌داری باهم نداشتند. نتایج مزرعه نشان داد که کاربرد بایوفلش همراه با آب آبیاری شش روز پس از خاک‌دهی با ۷۹/۳ درصد کارایی، بیشترین تأثیر را دارد.

**واژه‌های کلیدی:** دوبالان، قارچ خوراکی، *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*

### مقدمه

دو هزار گونه خوراکی و ۷۰۰ گونه دارای خواص دارویی‌اند، اما در ایران تاکنون تنها دو گونه قارچ دکمه‌ای *Agaricus bisporus* (Lange) Imbach و صدفی *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm. (فتاحی فر، ۱۳۹۵). سالن‌های پرورش قارچ، بستر مناسبی را برای رشد و نمو پشه‌ها و مگس‌های قارچ فراهم می‌کند (Fletcher et al., 1989; Jess & Bingham, 2004). دوبالان قارچ خوراکی از آفات دائمی و عمده قارچ‌های پرورشی در سراسر جهان و ایران می‌باشند. این حشرات به‌عنوان یک تهدید دائمی برای تولید موفق قارچ‌های تجاری، به دو طریق مستقیم و غیرمستقیم خسارت می‌زنند.

قارچ خوراکی به‌عنوان یک ماده غذایی، علاوه بر ارزش غذایی بالا، از منابع آب و خاک نیز کمترین استفاده را می‌کند و برای تولید آن از بقایا و ضایعات گیاهی و حیوانی (نظیر کلش گندم و کود مرغی) استفاده می‌شود. میزان تولید سالانه قارچ در دنیا حدود ۱۰ میلیون تن است و ایران با تولید بیش از ۱۰۰ هزار تن در سال، رتبه هشتم تولید قارچ در دنیا را دارد. طبق آخرین آمار وزارت جهاد کشاورزی میانگین عملکرد تولید قارچ در واحد سطح در کشور ۲۰/۷ کیلوگرم در مترمربع است (فتاحی فر، ۱۳۹۵). از مجموع ۱۴ هزار گونه قارچ شناسایی شده در دنیا، تعداد

دبارژاک در سال ۱۹۷۸ (de Barjac, 1978) این جدایه را به عنوان *B. thuringiensis* تأیید و آن را به عنوان یک سرروتایپ جدید (H14) و زیرگونه جدید *B. thuringiensis* subsp. *israelensis* نام گذاری کرد. این جدایه در سازمان بهداشت جهانی (WHO) به عنوان سویه CCBC 1897 و در وزارت کشاورزی امریکا تحت عنوان سویه HD-567 تعیین نام شد. باکتری *B. thuringiensis* subsp. *israelensis* به خاطر عدم سمیت برای انسان و سایر پستانداران و کنترل خوب لارو دویالان که برخی از سویه های آن قادرند با تولید کریستال های پروتئینی هم لارو مگس های سیارید و هم لارو مگس های سیاه را به خوبی کنترل کنند، یکی از کاندیداهای مورد دلخواه برای کنترل این آفات است (Goldberg & Margalit, 1977). توکیسن های متنوعی از Bti شناسایی و معرفی شده اند که برخی از آن ها مؤثرتر و در ترکیب آن ها اثر سینرژیستی نیز مشاهده شده است (Federici et al., 1990). کانتول و کانتلو (Cantwell & Cantelo, 1984) اثر کنترلی Bti را روی *L. mali* بیش از ۹۰ درصد در شرایط آزمایشگاه بیان کردند. کلیفورد (Clifford, 1991) هم در شرایط آزمایشگاه و هم در سالن های پرورش قارچ اثر کنترلی Bti را به اثبات رساند. واکنش محصول قارچ به آفت کش ها تا حد زیادی به مواد شیمیایی مورد استفاده (Cantelo et al., 1982; White, 1983) و ترکیب آن با خاک پوششی یا کمپوست بستگی دارد (Wyatt, 1977 & 1978). علاوه بر این سویه های مختلف قارچ به مواد شیمیایی مختلف واکنش نشان می دهند (Wyatt, 1973). هوسی (Hussey, 1969) مخلوط دیازینون با کمپوست را در زمان بذری علیه *L. auripila* پیشنهاد کرد. علی رغم مؤثر بودن دیازینون در برابر مگس های قارچ، گزارش شد که سویه های مختلف قارچ خوراکی نسبت به آن حساس بوده و موجب کاهش عملکرد می شود. مطالعه اخیر کاهش قابل توجهی از عملکرد ۱۰ و ۱۷ درصد به ترتیب در ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم دیازینون بر کیلو گرم کمپوست را در مقایسه با شاهد نشان داد (Cantelo & Mcdaniel, 1978). مطالعه دیگری نشان داد

لارو این مگس ها به محصول قارچ خسارت مستقیم وارد کرده و با تغذیه از قارچ و کمپوست سبب کاهش کمی و کیفی محصول می شوند (Hussey & Gurney, 1968). حشرات کامل هیچ خسارتی ایجاد نمی کنند اما به انتشار و جابجایی عوامل بیمارگر قارچی مانند فوزاریوم، پی تیوم و ورتیسیلیوم کمک می کنند (White, 1981). پشه های سیارید، *Lycoriella mali* (Fitch) مهم ترین آفت سالن های پرورش قارچ در امریکا، کانادا، استرالیا و آسیا است، که در صورت عدم کنترل می تواند تا ۸۵ درصد خسارت ایجاد کند. در سال ۱۹۸۷ تا ۱۹۸۸ در امریکا خسارت تقریبی دویالان پوسیده خوار در سالن های پرورش قارچ معادل ۵۴۴ میلیون دلار برآورد شده است (Agricultural statistic Board 1988). حشره ماده در گونه *Lycoriella auripila* (Winnerts) در هر بار تخم گذاری ۱۷۰-۱۵۰ تخم در خاک پوششی و یا روی کمپوست می گذارد. تخم ها در شرایط سالن های کشت قارچ به طور متوسط بعد از هفت روز تفریخ شده و لاروها بیرون می آیند. لاروها در مدت ۱۶ تا ۲۷ روز، چهار مرحله لاروی را پشت سر می گذارند. در دمای ۱۵ درجه سلسیوس این چهار مرحله در مدت ۲۴ روز انجام می شود. مرحله شفیرگی این حشرات نیز، ۱۴-۸ روز به طول می انجامد. بنابراین در مجموع از زمان تخم گذاری تا حشره بالغ حدود پنج هفته طول می کشد (خباز و مرادعلی، ۱۳۷۹). تلاش های اولیه برای کنترل لارو آفات در محیط های پرورش قارچ از طریق ترکیب حشره کش به کمپوست و خاک پوششی انجام می شود. علاوه بر محدودیت های استفاده از مواد شیمیایی (مقاومت گسترده دویالان) تقاضای مصرف کنندگان برای تولید محصول سالم مبتنی بر استفاده از روش های غیر شیمیایی و بیولوژیک افزایش یافته است (Jess & Bingham, 2004; Jess & Kilpatrick, 2000). در سال ۱۹۷۷ گلدبرگ و مارگالیت جدایه ای از *Bacillus thuringiensis* از خاک های سرزمین های اشغالی جداسازی کردند که ۳۰ تا ۱۰۰ برابر بیشتر از *B. sphaericus* علیه لاروهای پشه کولکس *Culex pipiens* کشندگی داشت، و  $LV_{50}$  آن  $10^6 \times 6$  اسپور در میلی لیتر تعیین شد (Goldberg & Margalit, 1977).

(آب) با ۱۰ تکرار در روزهای مختلف انجام شد. برای آلودگی یکنواخت بستر کشت قارچ خوراکی به دوبالان از روش آلوده سازی مصنوعی استفاده شد. بدین ترتیب ۲۰ جفت پشه سیارید نر و ماده به هر کیسه اضافه و حشرات به مدت دو روز درون کیسه‌ها نگهداری شدند تا تخم‌ریزی کنند. سپس حشرات بالغ با اسپراتور حذف شدند. پنج روز بعد از آلوده‌سازی مصنوعی (هم‌زمان با تفریح تخم‌ها) محلول‌پاشی با تیمارهای حشره کش روی کمپوست انجام شد به نحوی که محلول حشره کش قسمت‌های پایین بستر کشت را خیس کند. براساس آزمایش مقدماتی میزان سوسپانسیون برای هر بستر کشت ۲۵۰ میلی لیتر تعیین شد. هر کیسه کمپوست به وسیله قفسه توری (با مش ۱۰۰) به ابعاد ۱×۱×۱ متر محصور شد تا پشه‌های ظاهر شده از کرت تیمار شده خارج نشوند. برای ارزیابی کارایی حشره‌کش‌ها از کارت‌های زرد در بستر کشت استفاده شد. در وسط هر قفسه توری یک کارت نصب شد. تعداد حشرات شکار شده روی کارت‌ها به‌عنوان شاخص برای ارزیابی تیمارها استفاده شد. کارت‌ها به‌صورت هفتگی (۷، ۱۵، ۱۸، ۲۳ روز بعد از سمپاشی) تعویض شدند و تعداد حشرات بالغ روی کارت‌ها ثبت شد.

**آزمون مزرعه‌ای:** آزمون مزرعه‌ای در شرکت قارچ بیتا در استان تهران انجام شد. با توجه به نتایج مرحله آزمایشگاهی، بایوفلش به‌عنوان حشره کش انتخابی و در سه آزمون جداگانه: ۱- محلول‌پاشی بایوفلش (Bti) روی کمپوست هم‌زمان با تلقیح اسپان یک میلی لیتر در کیلوگرم کمپوست، ۲- محلول‌پاشی بایوفلش روی کمپوست قبل از خاک‌دهی به میزان ۶۰ میلی لیتر در هر مترمربع و ۳- کاربرد بایوفلش همراه با آب آبیاری ۶ روز بعد از خاک‌دهی به میزان ۶۰ میلی لیتر در هر مترمربع به کار گرفته شد. هر سه آزمون در قالب آزمون ۲ با شاهد (روش معمول شرکت در کنترل دوبالان که از سموم فسفره استفاده می‌شود) با ۱۲ تکرار انجام شد. برای هر مرحله دو سالن پرورش قارچ (۱۲×۶ متر) در دو طبقه در نظر گرفته شد. در مرحله پاشش بایوفلش روی کمپوست در زمان تلقیح اسپان، از غلظت

که کمپوست تیمار شده با دیازینون نسبت به کمپوست تیمار نشده بازده پایین‌تری دارد. دیازینون همچنین در سوبیه‌های حساس قارچ خوراکی رشد رویشی را به تأخیر می‌اندازد (Cantelo et al., 1982). اسمیت و وایت (Smith & White, 1996) مقاومت گسترده به حشره کش‌های ارگانوفسفات را در پشه‌های *L. auripila* و *L. castanescens* گزارش کردند. افزایش قابل توجهی در مقاومت به دیازینون در جمعیت‌های این حشرات از سال ۱۹۹۶-۱۹۸۵ از انگلستان گزارش شد (Smith, 2004; Smith & White, 1996). الاوات و رای (Ahlawat & Rai, 2001) اثر تلقیح برخی باکتری‌ها از جمله باکتری *B. thuringiensis* بر عملکرد قارچ دکمه‌ای در مقایسه با تیمارهای تلقیح نشده را مثبت و معنی‌دار اعلام کردند. ملایی و بشارتی (۱۳۹۰) نیز اثبات کردند که اثر باکتری‌های جنس سودوموناس و باسیلوس بر وزن تر، وزن خشک و میزان پروتئین قارچ دکمه‌ای مثبت و معنی‌دار است. هدف از این پژوهش ارزیابی کارایی آفت‌کش‌های کم‌خطر و ایمن در کنترل جمعیت غالب دوبالان خسارت‌زا به قارچ خوراکی در شرایط سالن‌های پرورش جهت جایگزینی سموم فسفره و پرخطر است.

## مواد و روش‌ها

این بررسی در شرایط آزمایشگاه و همچنین در شرایط مزرعه (سالن‌های پرورش قارچ) انجام گرفت. در شرایط آزمایشگاه با هفت تیمار و ۱۰ تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی روی بسترهای کشت آلوده به دوبالان زیان‌آور قارچ خوراکی تحت شرایط دمایی ۲۳ درجه سلسیوس، تاریکی کامل و رطوبت نسبی ۸۰ درصد انجام شد اما دمای داخل بستر کشت ۲۵ درجه سلسیوس بود. هر بستر کشت به ابعاد ۴۰ × ۶۰ سانتی‌متر به ضخامت ۲۰ سانتی‌متر معادل یک کرت آزمایشی در نظر گرفته شد. تیمارها شامل حشره‌کش‌های دیفلوبنزورون (دی‌میلین WP ۲۵ درصد، شرکت آگروفارم بلژیک، ۱ و ۷۵/ میلی لیتر در لیتر)، اسپینوساد (تریسر SC240، داو آگرو ساینس ۰/۶ و ۰/۳ میلی لیتر در لیتر) و Bti (بایوفلش SC، شرکت فن‌آوری زیستی طبیعت‌گرا، یک و دو میلی لیتر در لیتر) و شاهد

## نتایج

در شرایط آزمایشگاه همه حشره کش ها در هفت روز بعد از سمپاشی اختلاف معنی داری از نظر کارایی روی دوبالان پوسیده خوار نداشتند و دامنه کارایی تیمارها ۴۳/۷ تا ۶۵/۶ درصد متغیر بود، اما در روزهای ۱۵، ۱۸ و ۲۳ روز پس از سمپاشی کارایی تیمارها باهم تفاوت معنی دار داشتند به طوری که غلظت های بالای حشره کش های مورد آزمایش شامل اسپینوساد (۰/۶ میلی لیتر بر لیتر)، دیمیلین (یک گرم بر لیتر) و بیوفلش (دو میلی لیتر بر لیتر) در گروه اول قرار گرفتند. نتایج نشان داد که برای داشتن کارایی خوب و پایدار بهتر است از غلظت های بالا استفاده شود. در ۱۵ روز پس از سمپاشی تیمار اسپینوساد (۰/۶ در هزار)، بیوفلش (دو در هزار) و دیفلوبنزورون (یک در هزار) به ترتیب با درصد کارایی ۷۴/۲، ۷۹/۹، ۶۷/۹ بیشترین کارایی را روی دوبالان داشتند و در گروه بندی دانکن در گروه اول قرار گرفتند و تیمارهای اسپینوساد (۰/۳ در هزار)، بیوفلش (یک در هزار) و دیفلوبنزورون (۰/۷۵ در هزار) به ترتیب با ۵۶/۱، ۶۰/۳، ۶۰/۹ درصد کارایی در گروه دوم قرار گرفتند ( $F[5,54] = 4.09; P < 0.003$ ). همین روند در روزهای ۱۸ و ۲۳ روز پس از تیمار ادامه داشت (جدول ۱). در نهایت حشره کش بیولوژیک بیوفلش به خاطر داشتن درصد کارایی قابل قبول در مقایسه با سایر تیمارها و کم خطر بودن آن، برای ادامه آزمایش در سطح پایلوت انتخاب شد.

یک میلی لیتر در لیتر از بیوفلش روی کمپوست استفاده شد. پس از انتقال کیسه های کمپوست به سالن های پرورش با استفاده از نصب کارت زرد به تعداد شش عدد در هر سالن جمعیت حشرات کامل دوبالان مورد پایش قرار گرفت. در مرحله محلول پاشی بیوفلش روی کمپوست قبل از خاک دهی و بعد از خاک دهی ۶۰ میلی لیتر در هر مترمربع بیوفلش استفاده شد. در این مراحل نیز با استفاده از نصب کارت زرد به تعداد شش عدد در هر سالن جمعیت حشرات کامل دوبالان مورد پایش قرار گرفت. کارت های زرد بسته به تراکم آفت حداقل هر سه تا هفت روز تعویض شدند. شرایط انجام آزمایش، شرایط معمول پرورش قارچ در شرکت بیتا بود.

## تجزیه تحلیل داده ها

آزمایش در آزمایشگاه به صورت طرح کاملاً تصادفی اجرا شده و برای نرمال کردن داده های حاصل از آزمایشگاه، از روش تبدیل لگاریتم پایه ۱۰ استفاده شد و در نرم افزار SAS با برنامه ANOVA تجزیه شدند. میانگین درصد کارایی تیمارها با آزمون چند دامنه ای دانکن مورد مقایسه قرار گرفت و مؤثرترین حشره کش در کنترل دوبالان قارچ خوراکی معرفی شد. در شرایط مزرعه، هر آزمون بیوفلش با شاهد (روش رایج) با آزمون t تجزیه و مقایسه شدند. براساس تعداد دوبالان بالغ شکار شده در تله های زرد، درصد کارایی هر تیمار تعیین شد.

جدول ۱ - میانگین درصد کارایی تیمارهای مختلف در ۷، ۱۵، ۱۸ و ۲۳ روز پس از سمپاشی علیه پشه های سیارید.

Table 1. Mean percentage of efficiency of different treatments at 7, 15, 18 & 23 days after spraying against mushroom sciarid flies.

Treatment	Concentration (ml/l)	Days after treatment			
		7	15	18	23
Diflubenzuron (Dimilin <sup>®</sup> )	1	59.6 ± 9.8	67.9 ± 5.4 <sup>ab</sup>	65 ± 4.5 <sup>ab</sup>	84.9 ± 2.3 <sup>a</sup>
Diflubenzuron (Dimilin <sup>®</sup> )	0.75	47.5 ± 10.9	60.9 ± 4.3 <sup>b</sup>	63.3 ± 5.6 <sup>b</sup>	62.1 ± 4.7 <sup>d</sup>
Spinosad (Tracer <sup>®</sup> )	0.6	63.2 ± 6.4	74.2 ± 3.8 <sup>a</sup>	72 ± 3.6 <sup>ab</sup>	82 ± 3 <sup>a</sup>
Spinosad (Tracer <sup>®</sup> )	0.3	43.7 ± 8.7	56.1 ± 4.1 <sup>b</sup>	64.4 ± 1.7 <sup>b</sup>	72.4 ± 2.7 <sup>bc</sup>
<i>Bacillus thuringiensis</i> H14 (Bioflash <sup>®</sup> )	2	65.6 ± 5.7	79.9 ± 2.5 <sup>a</sup>	76.8 ± 4.5 <sup>a</sup>	80.8 ± 2.5 <sup>ab</sup>
<i>Bacillus thuringiensis</i> H14 (Bioflash <sup>®</sup> )	1	64.5 ± 8.4	60.3 ± 5.7 <sup>b</sup>	65.8 ± 3.6 <sup>ab</sup>	71.3 ± 3.2 <sup>c</sup>
df (Treatment, Error)		5, 54	5, 54	5, 54	5, 54
F		0.25	4.09	1.99	6.47
P		0.9	0.003	0.04	0.0001

Means with different letters in each column are significantly different at 5% level (Duncan test).

محلول پاشی بایوفلش روی کمپوست در زمان کشت اسپان با ۶۵/۲ درصد تأثیر و اسپری بایوفلش روی کمپوست قبل از خاک‌دهی با ۵۲/۶ درصد تأثیر در مرتبه آخر قرارگرفت (جدول ۲). به‌رحال زمان استفاده از بایوفلش در سالن‌های پرورش قارچ تأثیر به‌سزایی در عملکرد آن در کنترل دوبالان دارد.

ارزیابی بایوفلش در شرایط مزرعه (سالن‌های پرورش قارچ خوراکی) نشان داد که در هر سه آزمون ارزیابی تراکم ظهور حشرات کامل دوبالان در تیمار بایوفلش با شاهد (روش معمول سمپاشی در سالن‌ها با سموم فسفره توسط شرکت) تفاوت معنی‌دار وجود دارد (جدول ۲). در مرحله اضافه کردن بایوفلش به آب آبیاری شش روز بعد از خاک‌دهی با ۷۹/۳ درصد بیشترین تأثیر را داشته و پس از آن

جدول ۲- میانگین درصد کارایی و تراکم دوبالان شکار شده در کارت‌های زرد در زمان‌های مختلف تیمار با بایوفلش در مقایسه با روش کنترل رایج در سالن‌های پرورش قارچ.

Table 2. Mean percentage of efficiency and density of mushroom dipterans flies captures in sticky card traps at different time of treatments by Bioflash® in comparison with conventional control method in mushroom farm.

S.O.V.	Compost loading		Pre-casing		6 <sup>th</sup> day after casing	
	Bioflash	Control*	Bioflash	control*	Bioflash	control*
Densities of flies/4cm <sup>2</sup> /day	0.8 ± 0.06	3.5±0.24	3.08±0.3	6.62±0.41	1.16±0.27	5.75±0.75
df	12.6	***	22		13.6	***
t <sub>value</sub>	8.44		6.89		5.75	
P	0.001		0.001		0.001	
Efficacy**	65.2 ± 2.5 <sup>b</sup>		52.6 ± 4.02 <sup>c</sup>		79.3 ± 2.3 <sup>a</sup>	

\*Conventional control method (the usual method of controlling flies with organophosphors insecticides).

\*\*Means with different letters in each column are significantly different at 5% level (Duncan test).

\*\*\*Variances of Bioflash and Control\* were unequal at times of compost and the 6<sup>th</sup> day after casing.

کاهش داد. گزارش‌هایی مبنی بر مقاومت مگس‌های سیارید به دیفلوبنزورون از سالن‌های پرورش قارچ خوراکی وجود دارد. حشره‌کش‌های اسپینوساد و بایوفلش از جمله ترکیبات با منشأ بیولوژیک هستند کاربرد این‌گونه ترکیبات در کنترل آفات می‌تواند امکان تولید محصولات ارگانیک را مهیا کند. بررسی روند کارایی این ترکیبات نشان می‌دهد که این حشره‌کش‌ها روی آفت دوبالان قارچ خوراکی مؤثر هستند به طوری که درصد کارایی در ۱۵ روز بعد از سمپاشی بیش از ۵۰ درصد است. کلیفورد (1991, Clifford) گزارش می‌کند که تأثیر Bti در کنترل دوبالان در سالن‌های پرورش قارچ برابر و حتی بهتر از دیفلوبنزورون و متوپرون است. رینکر و آلم (2008, Rinker & Alm) گزارش کردند که فراورده تجاری DG<sup>®</sup> Gnatrol به مقدار یک کیلوگرم در ۱۰۰ مترمربع چهار روز پس از خاک‌دهی توانسته است تا ۸۷ درصد از ظهور سیاریدها جلوگیری کند که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. باکتری

## بحث

در میان حشره‌کش‌های مورد آزمایش حشره‌کش دیفلوبنزورون، تنها حشره‌کش شیمیایی از گروه IGR بود که در طبقه‌بندی IRAC در گروه بنزوئیل اوره‌ها قرار می‌گیرد و سبب اختلال در پوست‌اندازی می‌شود این حشره‌کش برای انسان اثر سوء کمتری دارد اما به‌خاطر اختلال در سنتز کیتین می‌تواند سرعت رشد قارچ در محیط کشت را کاهش دهد (Lamprecht, 2011). اما کاربرد دز مناسب از این حشره‌کش در بسترهای پرورش قارچ علاوه بر کاهش اثر سوء این حشره‌کش روی قارچ خوراکی، در کنترل جمعیت مگس‌های سیارید مؤثر است. نتایج آزمایش استانتن و همکاران (1999, Staunton) نشان داد که دیفلوبنزورون قادر به کنترل مگس‌های سیارید است اما برای فوریدها مؤثر نیست به طوری که کاربرد دیفلوبنزورون توانست ۹۵-۹۰ درصد سبب کاهش جمعیت سیارید شود درعین حال این حشره‌کش میزان عملکرد را ۷-۸ درصد

سم‌پاشی بستر کشت قارچ خوراکی قبل و بعد از خاک‌دهی از جمله روش‌هایی است که در کنترل دوبالان قارچ استفاده می‌شود مقدار آب مصرفی در این روش برای یک متر مربع ۱۲۰۰ میلی‌لیتر در مترمربع (معادل ۱۵۰ میلی‌لیتر به‌ازای هر بسته) است (Shemshad *et al.*, 2011; Erler *et al.*, 2008). کلیفت و توراس گزارش کردند که بیشترین تأثیر حشره‌کش‌ها در زمان خاک‌دهی است (Clift & Torras, 1992) که یافته‌های ما در این مطالعه در این امر صدق می‌کند. اصولاً استفاده از آفت‌کش‌های میکروبی و به‌طور کلی عوامل کنترل بیولوژیک از روش‌های سالم برای کنترل آفات کشاورزی محسوب می‌شوند و جزو آفت‌کش‌های ارگانیک طبقه‌بندی می‌شوند که در تولید محصولات ارگانیک نقش به‌سزایی دارند. آفت‌کش‌های بیولوژیک هر چند دارای مزیت‌های فراوانی هستند اما در حالت طغیان آفات شانس کمی در مهار سریع آفات دارند، به همین دلیل از این ابزار مفید بایستی در قالب مدیریت تلفیقی آفات استفاده کرد، به عبارتی در سالن‌های پرورش قارچ همواره بایستی برای ممانعت از ورود دوبالان به سالن‌ها تمهیداتی اندیشیده شود، و همچنین ضدعفونی کمپوست و خاک پوششی به‌شکل اصولی انجام شود تا *Bti* بتواند نقش خود را ایفا کند.

### سپاسگزاری

بدین وسیله از مدیریت، کارشناسان و تکنسین‌های شرکت قارچ بیتا تشکر و قدردانی می‌شود.

*Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* یا *Bti* در سال ۱۹۷۷ به‌وسیله مارگالتی کشف شد که پتانسیل حشره‌کشی خیلی بالایی روی پشه‌ها و مگس‌های سیاه دارد (Becker & Margalti, 1993) و می‌تواند لارو مگس‌ها را از بین ببرد. حشره‌کش بایوفلش مورد استفاده روی دوبالان سالن‌های پرورش قارچ چه در شرایط آزمایشگاه و چه در سالن پرورش مؤثر بود، به‌طوری که حداکثر کارایی بایوفلش در شرایط سالن‌های پرورش روی دوبالان پوسیده خوار حدود ۸۰ درصد بود. کاربرد بایوفلش در شرایط آزمایشگاه و مزرعه ثابت کرد که ترکیبات بیولوژیک در مقایسه با ترکیبات شیمیایی کارایی خوبی دارند. در میان میکروارگانسیم‌ها سویه‌هایی از جنس *Pseudomonas* و *Bacillus* در زمان خاک‌دهی بیشترین تأثیر را در افزایش رشد و تحرک باردهی قارچ دکمه‌ای دارند (Kerteszi & Thai, 2018). شمشاد و همکاران گزارش کردند که استفاده از باکتری *Bti* در مرحله خاک‌دهی می‌تواند سبب افزایش عملکرد قارچ خوراکی به میزان ۱۳ درصد شود (Shamshad *et al.*, 2008)، که در این مطالعه نیز رشد بهتر قارچ در سالن‌های تیمار *Bti* بنا بر گفته کارشناسان شرکت مشاهده شد. اسمیت گزارش کرد که غلظت نرمال ۱۴/۶ گرم در مترمربع باکتری *Bti* تا ۷۵ درصد می‌تواند کارایی داشته باشد و سنین اولیه لاروی نسبت به سنین بالاتر حساسیت بیشتری به *Bti* دارند. در دز ۱۴/۶ گرم در مترمربع روی سنین آخر لاروی تنها ۲۵ درصد مؤثر است و می‌توان از حداکثر غلظت ۳۰ گرم در مترمربع باکتری *Bti* استفاده کرد (Smith, 2004).

### References

- Agricultural Statistics Board, 1988. Mushrooms: 1987- 1988 mushroom production. National Agricultural Statistics Service, U.S. Department of Agriculture, Washington, D.C.
- Ahlatat, O.P. & Rai, R.D. 2001. Bacterial inoculants and their effect on the pinning, yield and false truffle disease incidence in *Agaricus bitorquis*, Journal of Scientific & Industrial Research, 69: 686–691.
- Becker, N. & Margalit J. 1993. Use of *Bacillus thuringiensis israelensis* against mosquitoes and black flies, In: Entwistle, P.F., Cory, J.S., Bailey, J.M., Higgs, S. (eds.), *Bacillus thuringiensis*, an Environmental Biopesticide: Theory and Practice. John Wiley and Sons, Inc., New York, NY, pp. 255–267.
- Brar, D.S. & Sandhu, G.S. 1991. Effect of insecticidal incorporations on the growth and yield of white button mushroom. Proceedings of Science and Cultivation of Edible Fungi, Dublin, Ireland.

- Cantelo, W.W. & McDaniel, J.S. 1978. Mushroom flies Controlled by Incorporating Diazinon. *Journal of Economic Entomology*, 71: 670–673.
- Cantelo, W.W., Henderson, D. & Argauer, R.J. 1982. Variation in sensitivity of mushroom strains to diazinon compost treatment. *Journal of Economic Entomology*, 75: 123–125.
- Cantwell, G.E. & Cantelo, W.W. 1984. Effectiveness of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* in controlling a sciarid fly, *Lycoriella mali*, in mushroom compost. *Journal of Economic Entomology*, 77: 473–475.
- Clifford, B.K. 1991. Field and laboratory evaluation of a *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* formulation for control of fly pests of mushrooms. *Journal of Economic Entomology*, 84(4): 1180–1188.
- Clift, A.D. & Terras, M.A. 1992. Evaluation of two insect growth regulators for insect pest control in the Australian mushroom industry. *Plant Protection Quarterly*, 7: 59–61.
- de Barjac, H. 1978. Un nouveau candidat a la lutte biologique contre les moustiques: *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. *Entomophaga*, 23 (4): 309–319.
- Erlor, F., Polat, E., Demir, H., Catal, M., & Tuna, G. 2011. Control of mushroom sciarid fly *Lycoriella ingenua* populations with insect growth regulators applied by soil drench. *Journal of Economic Entomology*, 104: 839–844.
- FattahiFar, 2016. Expert of the Ministry of Agriculture. Oral Mushroom Association. <http://www.irmga.com/fa-default.html>.
- Federici, B.A., Luthy, P. & Ibara, J.E. 1990. Parasporal body of *Bacillus thuringiensis israelensis*: structure, protein composition, and toxicity. pp. 16– 44. In H. de Barjac & Sutherland D.J. [eds.], *Bacterial control of mosquitos and black flies. Biochemistry, genetics and applications of Bacillus thurtniensis israelensis and Bacillus sphaericus*. Rutgers University Press, New Brunswick, N.J.
- Fletcher, J.T., White, P.F. & Gaze, R.H. 1989. *Mushrooms: Pests and Disease Control*, 2<sup>nd</sup> Edition. Andover: Intercept Ltd.
- Fletcher, J.T. & Gaze, R.H. 2008. *Mushroom pest and disease control*. Manson Publishing, London.
- Goldberg, L.J. & Margalit, J. 1977. A bacterial spore demonstrating rapid larvicidal activity against *Anopheles sergentii*, *Uranotaeni aunguiculata*, *Culex univittatus*, *Aedes aegypti*, and *Culex pipiens*. *Mosq. News*, 37: 355–358.
- Hussey, N.W. 1969. Biological control of mushroom pests- fact and fantasy. *Mushroom Growers' Association Bulletin*, 238: 468–472.
- Hussey, N.W. & Gurney, B. 1968. Biology and control of the sciarid *Lycoriella auripila* Winn. (Diptera: Lycoriidae) in mushroom culture. *Annals of Applied Biology*, 62: 395–403.
- Jess and Bingham, 2004. Biological control of sciarid and phorid pests of mushroom with predatory mites from the genus *Hypoaspis* (Acari: Hypoaspidae) and the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae*. *Bulletin of Entomological Research*, 94: 159–167.
- Jess, S. & Kilpatrick, M. 2000. An integrated approach to the control of *Lycoriella solani* (Diptera: Sciaridae) during production of the cultivated mushroom (*Agaricus bisporus*). *Pest Management Science*, 56: 477–485.
- Kertesz M.A. & Thai, M. 2018. Compost bacteria and fungi that influence growth and development of *Agaricus bisporus* and other commercial mushrooms. *Applied Microbiology and Biotechnology*, doi.org/10.1007/s00253-018-8777-z.

- Khabbaz Jolfaii, H. & Moradali, M.F. 2000. Applied cultivation of Mushroom: diagnosis and control of diseases and pests of mushroom. pp. 134–135. In: Agricultural Science Publications. Tehran, Iran. (In Persian).
- Lamprecht, S. 2011. The development and role of chemical solutions: an IRAC perspective Insecticide Resistance Action Committee (IRAC). pp. 1–30.
- Mollayi, F. & Besharati, H. 2011. Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on Yield and quality of button mushroom in different industrial and agricultural wastes as growth beds. *Journal of Soil Research*, 25(4): 373–384. (In Persian).
- Rinker, D.L. & Alm, G. 2008. Managing Sciarid Flies with *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. 17th International Society for Mushroom Science. Cape town, South Africa.
- Shamshad, A. 2010. The development of integrated pest management for the control of mushroom sciarid flies, *Lycoriella ingenua* (Dufour) and *Bradysia ocellaris* (Comstock), in cultivated mushrooms. *Pest Management Science*, 66: 1063–1074.
- Shamshad, A., Clift, A.D., & Mansfield, S. 2008. Toxicity of six commercially formulated insecticides and biopesticides to third instar larvae of mushroom sciarid, *Lycoriella ingenua* Dufour (Diptera: Sciaridae), in New South Wales, Australia. *Australian Journal of Entomology*, 47: 256–260.
- Shamshad, A., Clift, A.D., & Mansfield, S. 2009. Effect of compost and casing treatments of insecticides against the sciarid *Bradysia ocellaris* (Diptera: Sciaridae) and on the total yield of cultivated mushrooms, *Agaricus bisporus*. *Pest Management Science*, 65: 375–380.
- Smith J.E. 2004. An Integrated Pest and Disease Management System against Mushroom Sciarid.
- Smith, J.E. & White, P.F. 1996. Diazinon resistance in mushroom pests. *HDC Project News*, 36: 12–15.
- Staunton, R.M., Dunne, T. & Cormican, M.D. 1999. Chemical and Biological Control of Mushroom Pests and Diseases. End Proj. Rep. Proj. 4095, Teagasc, Kinsealy Res. Centre, Malahide Road, Dublin 17–19.
- White, P.F. 1981. Chemical control of the mushroom sciarid *Lycoriella auripila* (Winn.). *Mushroom Science*, 11: 265–273.
- White, P.F. 1983. Mushroom pests: phytotoxicity of diazinon to mushroom mycelium. Report of Glasshouse Crops Research Institute, 1981: 98–99.
- White, P.F. 1985. Pests and Pesticides, in *Biology and Technology of Cultivated Mushrooms*. John Wiley and Sons, Chichester, UK, PP. 279–293.
- Wyatt, I.J. 1977. Principles of insecticide action on mushroom cropping: incorporation into compost. *Annals of Applied Biology*, 85: 375–388
- Wyatt, I.J. 1978. Principles of insecticide action on mushroom cropping: incorporation into casing. *Annals of Applied Biology*, 88: 89–103.
- Zhang, Z., Li, X., Chen, L., Wang, L. & Lei, C., 2016. Morphology, distribution and abundance of antennal sensilla of the oyster mushroom fly, *Coboldia fuscipes* (Meigen)(Diptera: Scatopsidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 60(1): 8–14.



---

**Evaluation of the efficacy of *Bacillus thuringiensis* in the biological control of Dipteran pests of mushroom in the laboratory and the farm**

Rasoul Marzban<sup>\*1</sup>, Aziz Shaikhi Garjan<sup>1</sup>, Mahboobeh Mirzay<sup>1</sup>, Ali Mohammadipoor<sup>1</sup>, Ebrahim Gilasian<sup>1</sup>,  
Rahim Eslamizadeh<sup>2</sup>, Hossein Khabaz<sup>1</sup>

1. Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
2. Agricultural and Natural Resources Research and Education Center of Safi-Abad, Dezful, AREEO, Dezful, Iran

\*Corresponding author: Rasoul Marzban, email: marzban@iripp.ir

---

Received: Sep., 13, 2017

5 (2) 55-63

Accepted: Jun., 11, 2018

---

**Abstract**

As the mushroom dipterans flies are permanent pests of mushroom farms, the growers frequently use the chemical pesticides. Since the mushroom growers and the consumers are always at the risk of chemical pesticides contamination, introducing non-chemical and biological methods is therefore necessary. This research was conducted with two experiments in the mushroom farm conditions. In the first experiment, a commercial formulation (Bioflash<sup>®</sup>) based on *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* was tested along with a number of common insecticides on composts. First experiment was carried out in a completely randomized design with seven treatments including Dimilin<sup>®</sup> 0.75 & 1 g/l, Bioflash<sup>®</sup> 1 & 2 ml/l, Tracer<sup>®</sup> 0.3 & 0.6 g/l and the control (the usual method of controlling flies with organophosphate insecticides) each with 10 replications. Based on the results of the first assay, an experiment was conducted in the mushroom farm conditions in three stages including Bioflash<sup>®</sup> incorporated into compost simultaneously with spawn inoculation, Bioflash<sup>®</sup> spray in pre-casing and Bioflash<sup>®</sup> drench into casing in comparison with the control. The results of the first experiment showed that all test insecticides were effective in decreasing the pest population, so that the average efficiencies of Dimilin<sup>®</sup> (1g/l), Tracer<sup>®</sup> (0.6 g/l) and Bioflash (2 ml/l) on 15 days after treatment were 67.9%, 74.2% and 79.9%, respectively with no significant difference among them. Farm experiment results showed that the application of Bioflash<sup>®</sup> drench into casing at six days after casing had the highest efficiency with 79.3% reduction in the population.

**Keywords:** fly pests, mushrooms, *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*

---