

مقاله تحقیقی

پتانسیل باکتری *Bacillus thuringiensis* و نماتد بیمارگر *Steinernema carpocapsae* در کنترل سوسک برگ خوار نارون در فضای سبز تهرانهانا حاجی اللهوردی پور^۱، رسول مرزبان^۲

۱-۲- استادیار و استاد، موسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران.

مسئول مکاتبات: هانا حاجی اللهوردی پور، ایمیل: hana_agri@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۵/۲۶

۶۷-۷۷ (۱) ۱۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۵/۱۵

چکیده

درخت نارون (*Ulmus spp.*)، یکی از گونه‌های غالب در فضای سبز شهری بسیاری از مناطق ایران به‌شمار می‌رود. سوسک برگ‌خوار نارون (*Xanthogaleruca luteola*)، از آفات کلیدی این درختان با بیش از دو نسل در اکثر مناطق است. باکتری بیمارگر *Bacillus thuringiensis* (Bt) در کنترل بسیاری از آفات برگ‌خوار عملکرد موفقی داشته و نماتدهای بیمارگر حشرات نیز ویژگی‌های منحصربه‌فردی دارند که آنها را به عوامل مؤثر کنترل زیستی آفات گیاهان زینتی و فضای سبز تبدیل می‌کند. در این پژوهش، کارایی باکتری *Bacillus thuringiensis* subsp. *galleriae* (Btg) و یک جدایه بومی نماتد *Steinernema carpocapsae* (Sc) علاوه بر لاروهای سوسک برگ‌خوار نارون در فضای سبز معابر محله نیاوران تهران در سال ۱۴۰۳ مورد ارزیابی قرار گرفت. براساس نتایج مطالعه قبلی، چهار تیمار شامل: باکتری Btg با غلظت پنج در هزار، نماتد Sc با غلظت ۵۰۰ لارو بیمارگر در میلی‌لیتر، ترکیب این دو عامل در همان غلظت‌ها و تیمار شاهد انتخاب شدند. با توجه به حساسیت بیشتر لاروها، آزمون‌های میدانی نیز بر روی لاروهای فعال برگ‌خوار نارون انجام گرفت. برای هر تیمار پنج شاخه دارای لارو و جدا از هم به‌عنوان تکرار انتخاب و در سه نوبت بدون وقفه برای هر تکرار با اسپری آبپاش دستی محلول‌پاشی شدند. پیش از اعمال تیمار و یک هفته پس از آن، شمارش لاروهای زنده و تلف شده روی شاخه‌های علامت‌گذاری شده، انجام شد. نتایج نشان داد که زیرگونه مورد مطالعه از باکتری *B. thuringiensis* و همچنین جدایه بومی نماتد *S. carpocapsae* توان بیمارگری روی هر دو مرحله لاروی و بالغ آفت را دارا هستند. هر دو عامل بیوکنترل در کاهش جمعیت لاروهای برگ‌خوار نارون روی درختان معابر مؤثر بودند و تیمارهای اعمال‌شده تفاوت معنی‌داری از نظر ایجاد تلفات در لاروها نشان دادند. کاربرد باکتری مذکور منجر به ۶۳/۱۶ درصد مرگ‌ومیر لاروها شد، در حالی که جدایه بومی نماتد *S. carpocapsae* به تنهایی باعث ۲۵ درصد تلفات شد. بیشترین میزان تأثیر در ترکیب هم‌زمان این دو عامل با ۷۷/۷۸ درصد مرگ‌ومیر لاروهای برگ‌خوار نارون مشاهده شد. این پژوهش برای نخستین بار در ایران انجام شده و نتایج آن نشان می‌دهد کاربرد تلفیقی این دو عامل زیستی می‌تواند به عنوان روشی مؤثر، پایدار و ایمن در مدیریت تلفیقی سوسک برگ‌خوار نارون در فضای سبز شهر تهران مدنظر قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: برگ‌خوار نارون، کنترل بیولوژیک، نماتد بیمارگر حشرات، مدیریت آفات، Btg.

مقدمه

بیشتر نقاط جهان گزارش شده است. این حشره مهم‌ترین آفت برگ‌خوار و تک‌خوار درختان نارون در مناطق شهری است. هر دو مرحله لاروی و هم حشره کامل برگ‌خوار هستند و از پارانشیم برگ‌ها تغذیه می‌کنند که منجر به ضعف درختان می‌شود (Arbab et al., 2001). خسارت

سوسک برگ‌خوار نارون، *luteola* Müller، یکی از مهم‌ترین آفات نارون است که موجب آسیب فیزیکی و خسارت مستقیم و غیرمستقیم به درختان نارون می‌شود. خسارت ناشی از آن در

دسترس هستند یا در زیستگاه طبیعی حفظ و حمایت می‌شوند. در حالت بهینه، این عوامل با هم تلفیق شده و در برنامه‌های مدیریت تلفیقی برگ‌خوار نارون به کار گرفته می‌شوند. نماتدهای بیمارگر حشرات ویژگی‌های منحصر به فردی دارند که آنها را به عنوان عوامل کنترل زیستی بسیاری از آفات فضای سبز و گیاهان زینتی متمایز می‌کند و باکتری بیمارگر *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) در کنترل بسیاری از آفات برگ‌خوار عملکرد موفقی داشته است. بنابراین، شایسته است که با بررسی باکتری و نماتدهای بیمارگر حشرات روی برگ‌خوار نارون، روند توسعه آنها در برنامه‌های مدیریتی این آفت تسریع یابد.

باکتری *B. thuringiensis* خاک‌زاد، هوازی اختیاری و ساپروفیت اسپورزایی است که به واسطه اختصاصی بودن بالا، ایمنی و کارآمدی در کنترل آفات کشاورزی و ناقلین، بیش از شش دهه به‌طور موفقیت‌آمیزی به عنوان حشره‌کش زیستی مورد استفاده قرار گرفته و حدود ۹۵٪ از کل حشره‌کش‌های زیستی تجاری را در برمی‌گیرد. این باکتری به عنوان موفق‌ترین حشره‌کش زیستی در دسترس، جایگزین آفت‌کش‌های شیمیایی با سمیت برای طیف وسیعی از گونه‌های حشرات شامل بال‌پولک‌داران، سخت‌بال‌پوشان و کریستالی Bt به‌طور اختصاصی در روده حشرات خاصی وجود دارند، به‌عنوان روشی ایمن و مؤثر برای کنترل آفات، از جمله *X. luteola* در نظر گرفته می‌شود. از آنجا که گیرنده‌های پروتئین‌های کریستالی Bt به‌طور اختصاصی در روده حشرات خاصی وجود دارند، به‌عنوان روشی ایمن و مؤثر برای کنترل آفات، از جمله *X. luteola* در نظر گرفته می‌شود، بدون آنکه اثرات مخربی بر حشرات مفید و محیط‌زیست داشته باشد (Ma et al., 2023).

تأثیر قابل‌توجه فرمولاسیون‌های تجاری Bt مانند نوودور® براساس *B. thuringiensis* subsp. *tenebrionis* و ری‌ون® براساس *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* در شرایط فضای باز و آزمایشگاهی روی برگ‌خوار نارون و سایر برگ‌خوارهای خانواده Chrysomelidae مانند *Fabricius Chrysomela scripta* به اثبات رسیده است (Cranshaw et al., 1989; Coyle et al., 2000; Tenczar & Krischik, 2006). مطالعه دال‌ستن و همکاران (۱۹۹۴) روی کاربرد فرآورده‌های تجاری ام-وان® و آزمایشی MYX-1806

اصلی سوسک برگ‌خوار نارون در مرحله لاروی است که با باقی ماندن غشاء بالایی و رگبرگ‌ها، برگ منظره سفید و شفاف تورمانندی به خود می‌گیرد که اصطلاحاً به آن «اسکلتی شدن» گفته می‌شود. برگ‌خوار نارون دارای سه سن لاروی است. زمستان‌گذرانی آفت به صورت حشره کامل زیر پوسته و شیار تنه درختان، توده برگ‌های خزان کرده یا در عمق ۳ تا ۵ سانتی‌متری خاک صورت می‌گیرد. تغذیه حشرات کامل به‌صورت سوراخ‌های نامنظم گرد یا قلوه‌ای شکل در برگ‌ها دیده می‌شود. در فصل بهار به هنگام متورم شدن جوانه‌های نارون، سوسک‌ها اماکن زمستان‌گذرانی را ترک کرده و تخم‌گذاری طی اردیبهشت ماه بسته به منطقه صورت می‌گیرد. این آفت بسته به منطقه یک تا سه نسل دارد. برگ‌های آسیب‌دیده باعث بروز تنش‌های فیزیولوژیک در درختان نارون و کاهش زیبایی آنها می‌گردد. ضعف درختان، زمینه‌ساز مشکلات دیگری مانند حمله پوست‌خوارها و چوب‌خوارها، آلودگی به عوامل بیمارگر مانند عامل بیماری مرگ هلندی نارون، بدشکلی تاج درخت و کاهش فتوسنتز می‌شود (Alford, 2012).

استفاده از حشره‌کش‌های شیمیایی ابزار اصلی کنترل این آفت است اما عواقب جدی و خطرناک آنها مانند سمیت برای انسان و دیگر موجودات زنده، باقیمانده آنها در محصولات کشاورزی، آلودگی آب، هوا و خاک، ایجاد مقاومت در آفات و اثرات منفی روی دشمنان طبیعی را نمی‌توان نادیده گرفت. سمپاشی تاج و تنه درخت نارون با غلظت‌های بالای دلتامترین و ایمیداکلوپرید ۲-۱/۵ در هزار و به‌صورت بلندپرتاب انجام می‌گیرد. برای پوشش کامل درخت باید از سمپاش‌هایی با قدرت پرتاب زیاد استفاده شود تا بالاترین قسمت‌های تاج نیز حشره‌کش را دریافت کنند. برآورد شده که برای پوشش کامل یک درخت نارون به شش لیتر محلول حشره‌کش نیاز است. به دلیل روند تدریجی تخم‌گذاری و ظهور تدریجی لاروها باید سمپاشی‌های متعدد انجام شود (Abai 2010).

در بسیاری از کشورها، عوامل بیمارگر این آفت اعم از باکتری‌ها، نماتدها و قارچ‌های بیمارگر و پارازیتوئیدهای این برگ‌خوار شناسایی و به‌صورت فرآورده‌های تجاری در

سیستم ایمنی و کاهش پاسخ‌های دفاعی لاروها می‌شود، که موجب افزایش حساسیت به استرس‌ها و بیماری‌ها می‌شود. در نتیجه، این اختلالات منجر به مرگ سلولی می‌شود (Sato et al., 2019).

در اولین مطالعه مهار زیستی برگ‌خوار نارون با نماتدهای بیمارگر حشرات در دنیا، بیمارگری نماتد *S. carpocapsae* در آزمایشگاه و پایلوت برای برگ‌خوار نارون ثابت شد. حشرات کامل، لاروها و شفیره‌های برگ‌خوار در آزمایشگاه به *S. carpocapsae* بسیار حساس بودند اما وقتی این نماتد روی شاخ و برگ پاشیده شد، کم اثر بود و نتوانست خسارت برگ‌خوار را به‌طور معنی‌داری کاهش دهد. کایا و همکاران (۱۹۸۱) ضمن بیان اینکه شفیره‌ها حساس‌ترین مرحله زیستی برگ‌خوار نارون هستند، کاربرد نماتدها در بقایای گیاهی دورتادور پای درخت را برای کنترل لاروهایی که برای شفیره شدن وارد خاک می‌شوند، پیشنهاد دادند (Kaya et al., 1981). برای مدیریت مؤثر برگ‌خوار نارون، تلفیق همه ابزارهای موجود مدیریت این آفت مورد نیاز است. به نظر می‌رسد که چندین راهبرد کنترل به کار گرفته شده برای برگ‌خوار نارون با هم سازگار هستند و برای مدیریت مؤثر برگ‌خوار نارون، تلفیق همه ابزارهای موجود مدیریت این آفت مورد نیاز است (Thurston, 2001).

در اولین مطالعه ارزیابی دو عامل میکروبی در کنترل برگ‌خوار نارون در کشور، تأثیر غلظت‌های مختلف جدایه بومی نماتد *S. carpocapsae* و باکتری *B. thuringiensis* در دو حالت مجزا و تلفیقی روی مرگ‌ومیر لاروها و حشرات کامل برگ‌خوار در آزمایشگاه بررسی شد در مجموع، مرگ‌ومیر بین ۵۱/۸۷ تا ۸۸/۳۳ درصد متغیر بود. مرگ و میر برگ‌خوار نارون در اثر نماتد و در اثر باکتری از یک روز بعد از تیمار آغاز شد ولی به‌طور کلی باکتری Btg برای اعمال کشندگی زمان بیشتری نسبت به نماتد نیاز داشت (Haji Allahverdipour & Marzban, 2023).

در این پژوهش، برای اولین بار پتانسیل باکتری *B. thuringiensis* subsp. *galleriae* و جدایه‌ای بومی از نماتد *S. carpocapsae* در کنترل لاروهای سوسک برگ‌خوار

براساس زیرگونه‌های *B. thuringiensis* *san diego* و *B. thuringiensis* *tenebrionis* شرکت Mycogen علیه برگ‌خوار نارون در مناطق مختلف ایالت کالیفرنیا، کارایی متفاوت و غیریکنواختی را بسته به پایلوت و اقلیم منطقه اجرای پروژه، نحوه و ادوات پاشش و همچنین زیرگونه باکتری، از ضعیف تا چشمگیر نشان داده است. در مناطقی که میانگین دما (۲۰ تا ۳۰ درجه سلسیوس) طی هفته پاشش *B. thuringiensis* *san diego* موجود بوده، تفاوت معنی‌دار قابل توجهی بین شاهد و تیمار با Bt وجود داشته است (Dahlsten et al., 1994).

نماتدهای بیمارگر حشرات (EPNs)، متعلق به خانواده‌های *Steinernematidae* و *Heterorhabditidae* می‌باشند که به عنوان عوامل مهار زیستی مؤثر علیه بسیاری از حشرات آفات به شمار می‌آیند. آنها ویژگی‌های مثبت بسیاری مانند کشتن سریع میزبان، طیف میزبانی وسیع، ایمنی برای موجودات زنده غیر هدف، فقدان آلودگی زیست محیطی، معافیت از ثبت زیست محیطی در بسیاری از کشورها و توسعه کشاورزی پایدار و تنوع زیستی را دارا هستند. EPNs به بیشتر مواد شیمیایی کشاورزی شامل علف‌کش‌ها، قارچ‌کش‌ها، کنه‌کش‌ها و حشره‌کش‌ها در صورت تماس‌های کوتاه‌مدت (دو تا هشت ساعت) متحمل هستند و با بیشتر کودهای غیرآلی نیز سازگارند. بعضی آفت‌کش‌ها با نماتدهای بیمارگر اثر سینرژیستی دارند. به واسطه این مزایا، EPNs به عنوان عوامل کنترل زیستی حشرات آفت در کشاورزی مورد توجه قرار گرفته‌اند (Gaugler, 2002).

نماتد *Steinernema carpocapsae* Weiser از طریق منافذ طبیعی یا ایجاد آسیب‌های فیزیکی به کوتیکل حشره، به داخل بدن میزبان نفوذ کرده و در آنجا تکثیر می‌شود. طی این فرآیند، نماتدها آنزیمهای خاصی مانند پروتئازها و لیپازها ترشح می‌کنند که موجب تخریب بافت‌های داخلی و اختلال در عملکرد سیستم‌های حیاتی مانند دستگاه گوارش و سیستم ایمنی لارو می‌شود. این توکسین‌ها و آنزیم‌ها همچنین متابولیسم لاروها را مختل کرده و توانایی آنها برای هضم غذا و انجام فعالیت‌های حیاتی را کاهش می‌دهند (Li & Wu, 2024). به علاوه، حمله نماتدها باعث تضعیف

برای ارزیابی کاربرد فرآورده باکتری (Btg) (*B. thuringiensis* subsp. *Galleriae*) و جدایه بومی نماتد *S. carpocapsae* (Sc) علیه برگ‌خوار نارون در فضای سبز شهری، در تابستان ۱۴۰۳ اقدام به پایش جمعیت و مراحل مختلف آفت در بوستان‌ها و معابر منطقه نیاوران شهر تهران (خیابان‌های شهید باهنر، دارآباد، منظره، کامرانیه، جماران، یاسر و ...) گردید. براساس نتایج مطالعه قبلی (Haji Allahverdipour & Marzban, 2023)، تیمارها شامل: الف- باکتری Btg با غلظت پنج در هزار، ب- نماتد Sc با غلظت ۵۰۰ لارو بیمارگر در میلی‌لیتر، ج- مخلوط این دو عامل در غلظت‌های مذکور و د- تیمار شاهد شامل آب مقطر، انتخاب شدند. تیمارها روی درختان نارون معابر واجد لاروهای برگ‌خوار نارون (شکل ۱) با اسپری آبپاش دستی ۶۰۰ سی‌سی در ابتدای مرداد ماه ۱۴۰۳ اعمال شدند. برای هر تیمار پنج شاخه دارای لارو و جدا از هم به‌عنوان تکرار برگ‌خوار انتخاب و در سه نوبت بدون وقفه برای هر تکرار از فاصله تقریباً پنج سانتیمتری شاخه‌ها محلول‌پاشی شدند. شاخه‌های تیمار شده برای تفکیک با نوارهای رنگی خاص هر تیمار، بسته و علامتگذاری شدند. شمارش لاروها قبل از آزمون انجام شد. یک هفته پس از انجام تیمار اقدام به شمارش لاروهای آلوده و تلف شده روی شاخه‌های مربوطه شد.



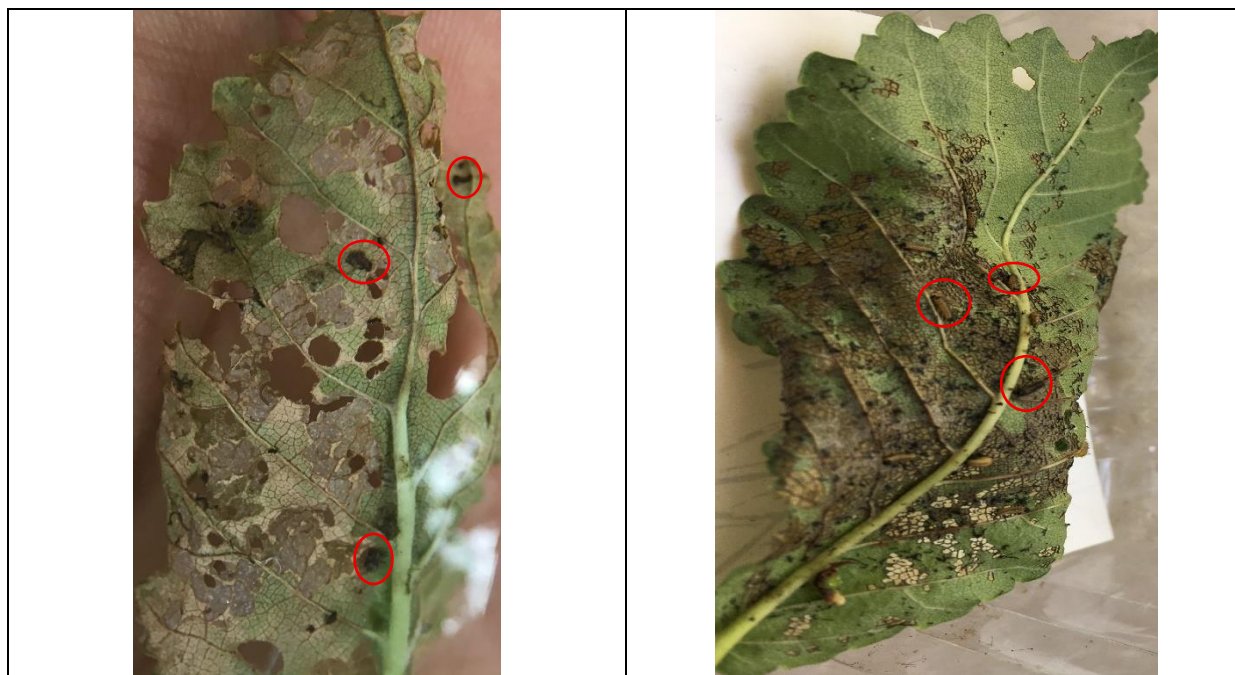
شکل ۱- لاروهای برگ‌خوار نارون و خسارت آنها

Fig. 1. *Xanthogaleruca luteola* larvae and their damage

نارون در فضای سبز شهری کشور، ارزیابی و همچنین، اثر تلفیقی این دو عامل روی مرگ‌ومیر لاروهای برگ‌خوار مطالعه شد تا در صورت اثربخشی، امکان استفاده از آن‌ها در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفت در محیط‌های شهری فراهم شود.

مواد و روش‌ها

جدایه بومی نماتد بیمارگر حشرات *S. carpocapsae* که از خاک باغ‌های انار شهرستان کاشمر جمع‌آوری شده بود (Memari, 2016)، درون لاروهای شب‌پره موم‌خوار *Galleria mellonella* Fabricius تکثیر شد. بدین منظور از لاروهای سن آخر شب‌پره موم‌خوار درون ظروف پتری نه سانتی‌متری پوشیده شده با کاغذ صافی آغشته به سوسپانسیون نماتد (غلظت ۳۰۰ لارو عفونت‌زا در یک میلی‌لیتر آب) استفاده شد. پس از چهار روز لاشه لاروهای شب‌پره به تله وایت انتقال یافت. نماتدهای استخراج شده برای مدت زمان کوتاهی در ظروف کشت سلولی در دمای پنج درجه‌سانتی‌گراد نگهداری شدند. باکتری *B. thuringiensis* subsp. *galleriae* (Btg) بیتل‌گان (Beetlegone) تولید شرکت Green earth ag & turf مورد استفاده قرار گرفت (Haji Allahverdipour, 2025).



شکل ۲- لاروهای برگ‌خوار نارون آلوده به نماتد *Steinernema carpocapsae* در مقایسه با لاروهای سالم (راست)؛ لاروهای برگ‌خوار نارون آلوده به باکتری *Bacillus thuringiensis galleriae* (چپ)

Fig. 2. *Xanthogaleruca luteola* larvae infected by the nematode *Steinernema carpocapsae* compared with uninfected ones (right); *X. luteola* larvae infected by the bacterium *Bacillus thuringiensis galleriae* (left)

معنی دار نیست و تفاوت بین بلوک‌ها در نتایج نقش معناداری نداشته است.

هر چهار تیمار باکتری (Btg)، نماتد (Sc)، تلفیق این دو (Btg+Sc) و شاهد اختلاف معنی‌داری از نظر تأثیر بر مرگ‌ومیر لاروهای برگ‌خوار نارون نشان دادند و در گروه‌های آماری مجزایی قرار گرفتند. تیمار Btg به تنهایی موجب مرگ‌ومیر ۶۳/۱۶ درصدی در لاروهای برگ‌خوار نارون شد، در حالی که تیمار Sc به تنهایی ۲۵ درصد مرگ‌ومیر در لاروها ایجاد کرد که بیانگر تأثیر نسبی این نماتد در کاهش جمعیت آفت برگ‌خوار می‌باشد. علامت اصلی آلودگی لاروها به باکتری Btg و نماتد Sc، له‌شدگی و تغییر رنگ لاروها به ترتیب به سیاه براق و قهوه‌ای سوخته و تیره بود (شکل ۲). تیمار شاهد در تمامی تکرارها مرگ‌ومیری ایجاد نکرد، اما در تجزیه واریانس برای مقایسه لحاظ شده است. بیشترین مرگ‌ومیر در تیمار تلفیقی باکتری و نماتد (Btg+Sc) با ۷۷/۷۸ درصد مرگ‌ومیر لاروهای برگ‌خوار نارون (شکل ۳) مشاهده شد که به‌طور معنی‌داری مؤثرتر از سایر تیمارها بود. از طرفی هر دو مطالعه صحرایی

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه واریانس برای طرح بلوک کامل تصادفی (RCBD) با استفاده از رویه PROC GLM در نرم‌افزار SAS (نسخه ۹.۴؛ SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن (Duncan's Multiple Range Test) انجام شد.

نتایج

نتایج این پژوهش نمایانگر آن است که باکتری Btg به عنوان یک عامل زیستی مؤثر در کاهش جمعیت لاروهای برگ‌خوار نارون در شرایط فضای باز عمل کرده است. نماتد بیمارگر *S. carpocapsae* نیز اگرچه به اندازه باکتری Btg تأثیر نداشته است ولی به نوبه خود باعث ایجاد مرگ‌ومیر نسبی در لاروهای برگ‌خوار شده است.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر تیمارها بر مرگ‌ومیر لاروهای برگ‌خوار نارون، بسته به تیمار، در سطوح احتمال یک و پنج درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۱)؛ یعنی تفاوت در مرگ‌ومیر لاروها ناشی از تیمار است، اما اثر بلوک

زیستی در کشندگی لاروهای برگ‌خوار نارون است و نشان می‌دهد استفاده تلفیقی از Btg و Sc می‌تواند به‌عنوان یک راهکار مؤثر در مدیریت تلفیقی این آفت به‌کار گرفته شود. این اثر هم‌افزایی احتمالاً ناشی از تعامل چندگانه میان این دو عامل زیستی است (Jung & Kim, 2006).

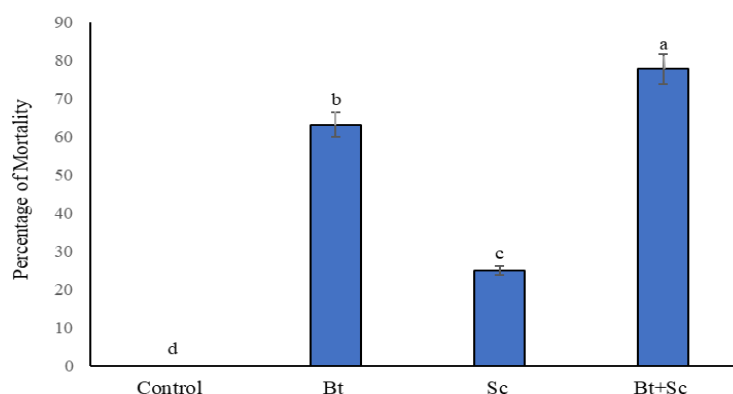
و آزمایشگاهی مبین آن است که این دو عامل کنترل میکروبی (باکتری Btg و نماتد Sc) هیچ‌گونه اثر بازدارنده و سوئی بر همدیگر ندارند و علاوه بر آن بسته به شرایط کاربرد برهم‌کنش تجمعی (Haji Allahverdipour & Marzban, 2023) و یا هم‌افزایی بین دو عامل مشاهده می‌شود. این یافته بیانگر اثر هم‌افزایی میان این دو عامل

جدول ۱- تجزیه واریانس داده‌های مربوط به اثر تیمارهای *B. thuringiensis galleriae* (Btg)، *Steinernema carpocapsae* (Sc) و ترکیب آن‌ها (Btg + Sc) بر مرگ‌ومیر لاروهای برگ‌خوار نارون در فضای سبز یک هفته پس از تیمار.

Table 1. Analysis of variance related to the effect of *Bacillus thuringiensis galleriae* (Btg), *Steinernema carpocapsae* (Sc) and the combined (Btg + Sc) treatments on larval mortalities of *Xanthogaleruca luteola* in landscape one week after treatment.

Source	df	Sum of Squares		
		Btg	Sc	Btg + Sc
Treatment	3	0.853**	0.290**	6.0*
Block	4	1.45 ^{ns}	2.43 ^{ns}	1.80 ^{ns}
Error	4	0.0091	0.0175	0.562

The superscript * denotes significant differences, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; ^{ns} non-significant.



شکل ۳- مقایسه میانگین تیمارهای *Bacillus thuringiensis galleriae* (Bt)، *Steinernema carpocapsae* (Sc) و ترکیب آن‌ها (Bt + Sc) بر مرگ‌ومیر لاروهای برگ‌خوار نارون در فضای سبز یک هفته پس از تیمار. میانگین دارای حروف مشابه اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند. نوار خطا نشان‌دهنده خطای استاندارد است.

Fig. 3. Mean comparison of *Bacillus thuringiensis galleriae* (Bt), *Steinernema carpocapsae* (Sc) and the combined (Bt + Sc) treatments on larval mortalities of *Xanthogaleruca luteola* in landscape one week after treatment. Mean values followed by the same letter are not significantly different ($P < 0.05$). The error bars denote Standard Errors.

حاصل می‌کند اما نماتد بومی کارآمدی خود را به شدت در شرایط فضای سبز (۲۵٪) نسبت به آزمایشگاه (۷۷٪/۸۰٪) از دست می‌دهد (جدول ۲) که کاربرد فرمولاسیون‌های بادوام و ماندگار نماتد را می‌طلبد.

مقایسه درصد مرگ‌ومیر ایجاد شده توسط باکتری و نماتد روی لاروهای برگ‌خوار نارون در شرایط آزمایشگاهی و فضای باز نمایانگر آن است که اگرچه باکتری Btg در طبیعت نیز کارایی (۶۳/۱۶٪) خود را حفظ کرده و همانند شرایط آزمایشگاهی (۸۶/۶۶٪) درصد قابل‌قبولی از کنترل را

جدول ۲- نرخ مرگ‌ومیر (میانگین $\pm$ خطای معیار) لاروهای برگ‌خوار نارون تیمار شده با دو غلظت از *Steinernema* (Sc) و *Bacillus thuringiensis galleriae* (Btg) در آزمایشگاه یک هفته پس از تیمار.

Table 2. Mortality rates (mean $\pm$ SE) of *Xanthogaleruca luteola* larvae treated by two concentrations of the *Steinernema carpocapsae* (Sc) and *Bacillus thuringiensis galleriae* (Btg), one week after treatment under laboratory conditions

Treatments	Mortality%
Btg at 5‰	86.66 $\pm$ 4.40 c
Btg at 10‰	85.66 $\pm$ 4.80 c
Sc at 400 IJ/ml	65.42 $\pm$ 1.54 b
Sc at 500 IJ/ml	80.77 $\pm$ 0.92 c

There is no significant difference between treatments which have at least one letter in common ($p < 0.05$) by Duncan's test.

بحث

بدون اینکه اثرات مخربی بر سایر حشرات مفید و محیط

زیست داشته باشد (Zou et al., 2024).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که باکتری Btg علیه سوسک برگ‌خوار نارون زهرآگین‌تر از جدایه بومی نماتد *S. carpocapsae* است. مطابق با پژوهش‌های قبلی (Cranshaw et al., 1989; Francardi 1990; Wells et al., 1994; Hajjaliloo Bonab Zeinolabedin Fard et al., 2016, 2017; Saberi et al., 2020; et al., 2020) دو عامل روی هر دو مرحله لاروی و حشره کامل برگ‌خوار نارون با نرخ‌های متفاوتی اثر دارند و با توجه به اینکه این دو عامل اثر بازدارندگی روی هم ندارند از تلفیق و ترکیب این دو عامل می‌توان در مدیریت تلفیقی سوسک برگ‌خوار نارون بهره برد. باکتری Btg با تولید کریستال‌های پروتئینی در روده لاروها اختلال ایجاد کرده و موجب نشت سلولی، اختلال در تغذیه و کاهش عملکرد دستگاه گوارش شده و در نتیجه لاروها را ضعیف و مستعد عفونت می‌سازد (Zhang et al., 2017). در این شرایط نماتد Sc به راحتی از طریق منافذ طبیعی بدن یا جداره آسیب‌دیده روده وارد بدن لارو شده و باکتری‌های همزیست خود را آزاد می‌کند. در نتیجه، باکتری‌ها به سرعت در همولنف منتشر شده و عفونت سیستمیک (سپتی‌سمی همولنف) ایجاد می‌شود و موجب تسریع مرگ لارو می‌گردد. این تعامل هم‌افزا نه تنها میزان مرگ‌ومیر را افزایش می‌دهد بلکه زمان کشندگی را نیز کاهش داده و کارایی مهار زیستی را به‌طور قابل‌توجهی بهبود می‌بخشد (Toscano, 2019). استفاده از چنین راهبردهایی در برنامه مدیریت تلفیقی آفات می‌تواند در

باکتری *B. thuringiensis* یک باکتری گرم مثبت خاگری است که به دلیل توانایی در تولید پروتئین‌های سمی و توکسین‌ها، به عنوان یکی از مؤثرترین عوامل مهار زیستی در مدیریت آفات شناخته می‌شود (Osman et al., 2015). این باکتری در مرحله اسپورزایی، کریستال‌های پروتئینی حاوی دلتا‌آندوتوکسین‌های Cry و Cyt تولید می‌کند که نقش کلیدی در کشندگی لارو حشرات دارند (Sieiro et al., 2021). پس از بلع این کریستال‌ها توسط لارو حشرات، پروتئین‌های سمی در محیط قلیایی دستگاه گوارش حشره حل شده و به فرم‌های فعال تبدیل می‌شوند. این سموم سپس به گیرنده‌های خاص روی غشای سلول‌های اپی‌تلیال در روده میانی متصل شده و باعث تشکیل کانال‌های یونی و افزایش نفوذپذیری غشا می‌شوند. در نتیجه، سلول‌های اپی‌تلیال متورم شده و تخریب می‌شوند که این فرآیند منجر به نشت محتوای روده به داخل همولنف و ایجاد شوک اسمزی در بدن لارو می‌شود. این فرآیند موجب توقف تغذیه، فلج شدن سیستم گوارشی و در نهایت مرگ لارو خواهد شد (Jisha et al., 2013). علاوه بر این، اسپورهای Bt از طریق آسیب‌های ایجاد شده در دیواره روده وارد همولنف شده و تکثیر می‌یابند که این امر به تسریع مرگ لارو کمک می‌کند. با توجه به اختصاصی بودن گیرنده‌های پروتئین‌های کریستالی Bt در گونه‌های خاصی از حشرات، این باکتری به عنوان یک روش ایمن و مؤثر برای کنترل آفاتی مانند سوسک برگ‌خوار نارون در نظر گرفته می‌شود،

(2016)، اما زیرگونه‌ها و استرین‌های مختلف Bt مجموعه توکسین‌های پروتئینی مختص خود را تولید می‌کنند بنابراین زیرگونه‌های مختلف Bt از لحاظ درجه تأثیر روی حشرات آفت از جمله برگ‌خوار نارون، متفاوت عمل می‌کنند. همان‌گونه که در این پژوهش، بیماریزایی زیرگونه *B. thuringiensis galleriae* روی برگ‌خوار نارون متفاوت از بیماریزایی زیرگونه‌های *B. thuringiensis tenebrionis* و *B. thuringiensis dendrolimus* روی همین آفت در پژوهش‌های دیگر بوده است (Kalyuzhnaya et al., 1995; Hajjaliloo Bonab et al., 2016, 2017; Abbasipour et al., 2017; Saberi et al., 2020). همان‌گونه که بعضی مطالعات قبلی (Kaya et al. (1981); Giayetto & Cichón, (2006)) نماتدهای بیمارگر حشرات در کنترل برگ‌خوار نارون آن‌گونه که انتظار می‌رود موفق عمل نکرده‌اند که عمده علت آن ناپایداری و حساسیت بالای نماتدهای بیمارگر حشرات به خشکی و تابش اشعه ماوراء بنفش است و توصیه می‌شود در هنگام کاربرد نماتدها، از فرمولاسیون‌های مقاوم و پایدار استفاده شود، یا نماتدها در مناطقی از درخت به کار روند که کمتر در معرض عوامل نامساعد محیطی قرار گیرند، یا بلافاصله پس از کاربرد با پوشش‌هایی از جنس‌های مختلف محافظت شوند.

سپاسگزاری

بدینوسیله از موسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور به‌ویژه بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک و آقای دکتر علیرضا رحیم‌زاده به خاطر حمایت‌ها و همکاری‌شان در انجام این پژوهش، تقدیر و سپاسگزاری می‌گردد.

کاهش مصرف حشره‌کش‌های شیمیایی و جلوگیری از بروز مقاومت در جمعیت آفات بسیار مؤثر باشد.

برونداد این پژوهش مبین آن است که با اطمینان بالایی می‌توان باکتری Btg را به عنوان یک عامل دوستدار محیط زیست علیه برگ‌خوار نارون توصیه کرد. اگرچه در بسیاری از موارد کارایی صحرایی عوامل بیمارگر آفات نسبت به کارایی آزمایشگاهی به مراتب و به‌طور قابل توجهی کاهش می‌یابد ولی در این مورد، باکتری Btg حتی تحت تأثیر استرس‌های محیطی نیز کماکان درجه تأثیر قابل قبولی روی لاروهای برگ‌خوار نارون داشته و کارایی ۶۳/۱۶ درصد را در فضای سبز از خود نشان داده است. همچنین این درصد از کارایی باکتری فقط با یک مرتبه پاشش و تیمار درختان حاصل شده است؛ برخلاف آنچه که در بعضی از پژوهش‌ها مبنی بر الزام به تکرار پاشش و تیمار وجود دارد (Berry & DeAngelis, 2000; James et al., 2016).

باکتری Bt زیرگونه‌ها و استرین‌های مختلفی از جمله *B. thuringiensis israelensis*، *B. thuringiensis dendrolimus*، *B. thuringiensis san diego*، *B. thuringiensis tenebrionis*، *B. thuringiensis galleriae* و *B. thuringiensis kurstaki* دارد که بسته به محتوای توکسین‌ها و پروتئین‌های کشنده و وجود گیرنده‌های پروتئین‌های کریستالی در روده حشرات، باعث ایجاد مرگ‌ومیر یا کاهش تغذیه در رسته‌ها و گروه‌های مختلف حشرات می‌شود. اگرچه فعالیت زیرگونه‌های *B. thuringiensis san diego* و *B. thuringiensis tenebrionis* ظاهراً مشابه به نظر می‌رسد و محدود به لاروها و حشرات کامل بعضی از سخت‌بال‌پوشان مانند سوسک زردآرد، سوسک برگ‌خوار نارون و سوسک کلرادو است (Hajjaliloo Bonab et al.,

References

- Abai, M. 2010. Pests of Forest Trees and Shrubs of Iran. 1st ed. AREEO Publication, 178 Pages. (In Persian)
- Abbasipour, H., Zeinolabedin Fard, N. & Saeedizadeh, A. 2017. Comparison of entomopathogenic nematodes efficacy on control of the Elm-Leaf Beetle, *Xanthogaleruca luteola* Müller (Col.: Chrysomelidae) in vitro. 2nd Iranian International Congress of Entomology, 2-4 September. Karaj. Iran.
- Alford, D.V. 2012. Pests of Ornamentals Trees, Shrubs and Flowers. CRC Press, Manson Publishing Ltd, London.
- Arbab, A., Sahragard, A. & Jalali Sendi, J. 2002. Laboratory investigation on Elm Leaf Beetle *Xanthogaleruca luteola* Muller (Col.: Chrysomelidae) biology. Journal of Entomological Society of Iran, 21: 73-85. (In Persian with English Summary).

- Berry, R.E. & DeAngelis, J.D. 2000. Insect control on nursery and landscape plants with entomopathogens. pp. 629-650 In: Lacey, L.A. & Kaya H.K. (eds.), Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology. Springer Science.
- Coyle, D.R., McMillin, J.D., Krause, S.C. & Hart, E.R. 2000. Laboratory and field evaluations of two *Bacillus thuringiensis* formulations, Novodor and Raven, for control of cottonwood leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). Journal of Economic Entomology, 93(3): 713-720.
- Cranshaw, W.S., Day, S.J., Gritzmacher, T.J. & Zimmerman, R.J. 1989. Field and laboratory evaluations of *Bacillus thuringiensis* strains for control of elm leaf beetle. Journal of Arboriculture, 15: 31-34.
- Dahlsten, D.L., Rowney, D.L. & Tait, S.M. 1994. Development of integrated pest management programs in urban forests: the elm beetle (*Xanthogaleruca luteola* (Müller)) in California, USA. Forest Ecology and Management, 65: 31-44.
- Francardi, V. 1990. Results in the use of a new microbiological preparation based on *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* in the control of the larvae of *Pyrrhalta luteola* (Mull). Redia, 73: 463-472.
- Gaugler, R. 2002. Entomopathogenic Nematology, CABI Publishing, 388 pages.
- Giayetto, A.L. & Cichón, L.I. 2006. Distribución, gama de huéspedes y especificidad de cinco poblaciones de *Heterorhabditis bacteriophora* (NEMATODA: HETERORHABDITIDAE) del Alto Valle de Río Negro y Neuquén, Argentina. Revista de Investigaciones Agropecuarias, 35(2): 163-183.
- Hajialiloonab, S., Moravej, G. & Haidari Latibari, M. 2017. Comparative study on the effect of *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* on adult and third instar larva of elm leaf beetle, *Xanthogaleruca luteola* (Mull) under laboratory and field conditions. Proceedings of the 8th Biolical control conference. 1-2 November, Rasht, Iran., P. 7. (In Persian with English Summary).
- Hajialiloonab, S., Moravej, G. & Sadeghi Namaghi, H. 2016. Comparative study on the efficacy of *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* and a neem based insecticide on adults and larvae of *Xanthogaleruca luteola* (Mull) (Col: Chrysomelidae) in laboratory conditions. Journal of Entomology and Zoology Studies, 4(4): 1122-1125.
- Haji Allahverdi pour, H. 2025. Potential of entomopathogenic nematodes and *Bacillus thuringiensis* in control of Elm Leaf Beetle *Xanthogaleruca luteola*. Final Report Project. ISBN: 67432, Agricultural Research, Education, Extension Organization, 30 Pages. (In Persian with English Summery).
- Haji Allahverdi pour, H. & Marzban, R. 2023. Efficacy assessment of the nematode *Steinernema carpocapsae* and the bacterium *Bacillus thuringiensis* in control of Elm Leaf Beetle, (*Xanthogaleruc luteola*) under laboratory conditions. Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture), 46(1): 25-37.
- James, R.R., Croft, B.A. & Strauss, S.H. 1999. Susceptibility of the Cottonwood Leaf Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) to different strains and transgenic toxins of *Bacillus thuringiensis*. Environmental Entomology, 28(1): 108-115.
- Jisha, V.N., Smitha, R.B. & Benjamin, S. 2013. An overview on the crystal toxins from *Bacillus thuringiensis*. Advances in Microbiology, 3(05): p. 462.
- Jung, S. & Kim, Y. 2006. Synergistic effect of entomopathogenic bacteria (*Xenorhabdus* sp. and *Photorhabdus temperata* ssp. *temperata*) on the pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* ssp. *aizawai* against *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). Environmental Entomology, 35(6): 1584-1589.
- Kalyuzhnaya, N.S., Gorbacheva, O.V. & Didyk, L.K. 1995. *Galerucella luteola* Müll. (Coleoptera, Chrysomelidae) as a pest of plantations of trees in the southern Ergeni Hills (Kalmykia). Ėntomologicheskoe Obozrenie, 74(1): 45-51.
- Kaya, H.K., Hara, A.H. & Reardon, R.C. 1981. Laboratory and field evaluation of *Neoplectana carpocapsae* (Rhabditida: Steinernematidae) against the elm leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) and the western spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae). Canadian Entomologist, 113: 787-793.
- Li, Y. & Wu, S.Y. 2024. Entomopathogenic nematodes in insect pest biocontrol: Diversity and function of excretory/secretory proteins. Journal of Invertebrate Pathology, 207: 108205.
- Ma, X., Hu, J., Ding, C. Portieles, R., Xu, H., Gao, J., Du, L., Gao, X., Yue, Q., Zhao, L. & Borrás-Hidalgo, O. 2023. New native *Bacillus thuringiensis* strains induce high insecticidal action against *Culex pipiens pallens* larvae and adults. BMC Microbiology, 23: 100.
- Memari, Z. 2016. Study on the effect of entomopathogenic nematodes on *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lep. Pyralidae) [MSc thesis, Ferdowsi University of Mashhad].
- Osman, G.E.H., El-Ghareeb, D., Already, R., Assaeedi, A.S.A., Organji, S.R., Abulreesh, H.H. & Althubiani, A.S. 2015. Bioinsecticide *Bacillus thuringiensis* a comprehensive review. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 25(1): 271-288.
- Saberi, F., Marzban, R., Ardjmand, M., Pajoum Shariati, F. & Tavakoli, O. 2020. Optimization of culture media to enhance the ability of local *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis*. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences, 19(7): 468-475.

- Sato, K., Kadota, Y. & Shirasu, K. 2019. Plant immune responses to parasitic nematodes. *Frontiers in Plant Science*, 10: 1165.
- Sieiro, C., Pichardo-Gallardo, Á., Areal-Hermida, L., Almuiña-González, R. & Villa, T.G. 2021. Parasporal crystal toxins in *Bacillus thuringiensis*. pp. 125-148. In: Villa, T.G. & deMiguel Bouzas, T. (eds.), *Developmental Biology in Prokaryotes and Lower Eukaryotes*. Cham: Springer International Publishing.
- Tenczar, E.G. & Krischik, V.A. 2006. Management of Cottonwood Leaf Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) with a novel transplant soak and biorational insecticides to conserve Coccinellid beetles, *Journal of Economic Entomology*, 99(1): 102-108.
- Thurston, G.S. 2001. *Xanthogaleruca luteola* (Muller), Elm Leaf Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). pp. 272-274. In: Mason, P.G. & Huber, J.T. (eds.), *Biological Control Programmes in Canada, 1981-2000*. CABI.
- Toscano, A. 2019. Parasite-host relationships in the biological control of insects: strategies of immunoevasion/immunosuppression and interference of temperature on the lethality of entomoparasites. PhD Thesis. Available at <https://irinsubria.uninsubria.it/handle/11383/2090711#>
- Wells, A.J., Kwong, R.M. & Field, R. 1994. Elm leaf beetle control using the biological insecticide, Novodor (*Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis*). *Plant Protection Quarterly*, 9: 52-55.
- Zeinolabedin Fard, N., Abbasipour, H., Saeedizadeh, A. & Karimi, J. 2020. Laboratory assay of entomopathogenic nematodes against the elm leaf beetle, *Xanthogaleruca luteola* Müller (Col.: Chrysomelidae). *Journal of Forest Science*, 66: 524-531.
- Zhang, Q., Gang, H. & Adang, M.J. 2017. Effects and mechanisms of *Bacillus thuringiensis* crystal toxins for mosquito larvae. *Insect Science*, 24(5): 714-729.
- Zou, H., Gu, H., Cheng, J., Tian, C., Shu, Q., Peng, P. & Li, B. 2024. The mechanism of damage to the midgut by low concentration of *Bacillus thuringiensis* in the Silkworm, *Bombyx mori*. *Insects*, 15(12): 911.

Potential of *Bacillus thuringiensis* and entomopathogenic nematode *Steinernema carpocapsae* in control of Elm Leaf Beetle in Tehran urban landscapes

Hana Haji Allahverdipour¹, Rasoul Marzban²

1, 2. Assistant Professor, Professor, Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran.

Corresponding author: Hana Haji Allahverdipour, email: hana_agri@yahoo.com

Received: Aug., 06, 2025

12(1) 67–77

Accepted: Aug., 17, 2025

Abstract

The elm tree (*Ulmus* spp.) is one of the dominant species in urban landscapes in most parts of Iran. Elm leaf beetle (*Xanthogaleruca luteola*), Chrysomelidae, is one of the key pests of elm in most areas. The entomopathogenic bacteria, *Bacillus thuringiensis*, have been successful in the control of many foliar pests, and entomopathogenic nematodes have unique characteristics, making them effective biocontrol agents for many landscape and ornamental pests. In the current study, the effect of different concentrations of the native isolate of *Steinernema carpocapsae* (Sc) and the bacteria *B. thuringiensis* subsp. *galleriae* (Btg) either individually or in combination on ELB larval mortalities was tested under field conditions.

Regarding the higher sensitivity of larvae compared with adults, the efficacy test was conducted on larval stages in the field. According to the results of laboratory tests, the field efficacy test included Btg at 5%, Sc at 500 IJs/ml of distilled water, and their combination against ELB larvae at the concentrations above. Five distinct twigs (repeats) infested with ELB larvae were selected for each treatment and three uninterrupted puffs were sprayed on each twig using a hand sprayer. The number of healthy and dead larvae on tagged twigs were counted right before the test and one week afterwards. Pathogenicity of the native isolate of Sc and Btg on larvae and adults of ELB was confirmed; ELB larvae were more susceptible to the nematode and the bacterium in most treatments compared with the adults. The interaction between the tested bacterium and nematode was additive at all concentrations. In field trials in Tehran city during the summer of 2024, application of the tested bacteria resulted in 63.16% mortality of ELB larvae, while the native nematode isolate caused 25% of mortality. The highest effectiveness was observed in the case of the combined application of two agents, resulting in 77.78% larval mortality. The results showed that the integrated use of these biocontrol agents could be employed as an effective, sustainable, and safe strategy in ELB IPM in urban landscapes.

Keywords: *Xanthogaleruca*, Biological control, Entomopathogenic nematode, Pest management, Btg