

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده کشاورزی

رساله‌ی دکتری حشره شناسی کشاورزی

اثرات زیرکشندگی باکتری *Bacillus thuringiensis* روی برخی پارامترهای اکوفیزیولوژیک
شب‌پره *Helicoverpa armigera* و زنبور پارازیتوئید *Habrobracon hebetor*

نگارش

امین صدارتیان جهرمی

استاد راهنما

دکتر یعقوب فتحی‌پور

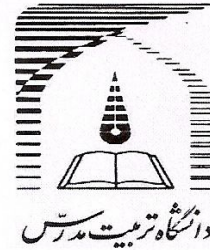
اساتید مشاور

دکتر رضا طلایی حسنلویی

Dr. Juan Luis Jurat-Fuentess

بهمن ماه ۱۳۹۱

بسمه تعالی



تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از رساله دکتری

آقای امین صدارتیان جهرمی رساله ۱۸ واحدی خود را با عنوان: اثرات زیرکشنندگی باکتری *Bacillus thuringiensis* روی برخی پارامترهای اکوفیزیولوژیک شب پره *Helicoverpa armigera* و زنبور پارازیتوئید *Habrobracon hebetor* در تاریخ ۱۳۹۱/۱۱/۹ ارائه کردند.

اعضای هیات داوران نسخه نهایی این رساله را از نظر فرم و محتوا تایید کرده است و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه دکتری پیشنهاد می کنند.

اعضای هیات داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضاء
۱- استاد راهنمای اصلی	دکتر یعقوب فتحی پور	استاد	
۲- استاد راهنمای دوم	-		
۳- استاد مشاور اول	دکتر رضا طلایی حسنلویی	دانشیار	
۴- استاد مشاور دوم	-		
۵- استاد ناظر (داخل)	دکتر علی اصغر طالبی	دانشیار	
۶- استاد ناظر (داخل)	دکتر سعید محرمی پور	دانشیار	
۷- استاد ناظر (خارج)	دکتر جعفر محقق نیشابوری	دانشیار	
۸- استاد ناظر (خارج)	دکتر وحید حسینی نوه	دانشیار	
۹- نماینده شورای تحصیلات تکمیلی	دکتر علی اصغر طالبی	دانشیار	



بسمه تعالی

آیین نامه چاپ پایان نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیت‌های علمی-پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد زیر متعهد می‌شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله) خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به (دفتر نشر آثار علمی) دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه) عبارت زیر را چاپ کند:

(کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد/رساله دکتری نگارنده در رشته حشره شناسی کشاورزی است که در سال ۱۳۹۱ در دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی جناب آقای دکتر یعقوب فتحی پور و مشاوره جناب آقای دکتر رضا طلایی حسنلویی و دکتر Juan Luis Jurat-Fuentess از آن دفاع شده است.)

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به (دفتر نشر آثار علمی) دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس تادیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می‌کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتاب‌های عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶: اینجانب امین صدارتیان جهرمی دانشجوی رشته حشره شناسی کشاورزی مقطع دکتری تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی: امین صدارتیان جهرمی

تاریخ و امضا: ۱۳۹۱/۱۲/۵

دستور العمل حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش‌های علمی دانشگاه تربیت

مدرس

مقدمه : با عنایت به سیاست‌های پژوهشی دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسان‌ها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیات علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح در مورد نتایج پژوهش‌های علمی که تحت عناوین پایان نامه، رساله و طرح‌های تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد ذیل را رعایت نمایند:

ماده ۱- حقوق مادی و معنوی پایان نامه‌ها، رساله‌های مصوب دانشگاه متعلق به دانشگاه است و هرگونه بهره‌برداری از آن باید با ذکر نام دانشگاه و رعایت آیین نامه‌ها و دستورالعمل‌های مصوب دانشگاه باشد.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان نامه/رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی می‌باید به نام دانشگاه بوده و استاد راهنما نویسنده مسئول مقاله باشند.

تبصره : در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی به صورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان نامه و رساله منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب حاصل از نتایج پایان نامه، رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با مجوز کتبی صادره از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه و براساس آیین نامه‌های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان نامه، رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این دستورالعمل در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۱۳۸۴/۴/۲۵ در شورای پژوهشی دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب لازم‌الاجرا است و هرگونه تخلف از مفاد این دستورالعمل از طریق مراجع قانونی قابل پیگیری خواهد بود.

تقدیم بہ

ہمسرمہربان و فداکار

و

دختر نازینیم الناز

الهی، هرچه بی طلب به مادادی به سزاواری ماتباه کن. هرچه به جای ما کردی از نیکی، به عیب ما از ما بیده کن و هرچه سزای ما ساختی به ناسزایی ما از ما جدا کن.

سپاس این دوستان را که امید به او بمواره روشنی را بهم بوده و انجام این کار جز به لطف و یاری او میسر نبود. تحقیق حاضر و سیدای شد تا از تمامی اساتید و بزرگوارانی که مراد مراحل مختلف انجام آن یاری نموده اند تشکر و قدردانی نمایم.

ابتداء بر خود لازم می دانم تا از اساتید محترم را به نام جناب آقای دکتر یعقوب قحی پور که با نظرات و پیشنهادات ارزنده و زحمات بی دینشان در طی مراحل مختلف طراحی، اجرا، تجزیه، نگارش و ارائه رساله مرایاری نمودند صمیمانه قدردانی نمایم.

از جناب آقای دکتر رضا طلایی حسینی و دکتر *Juan-Luis Jurat-Fuentes* اساتید محترم مشاور به خاطر توصیه ها، راهنمودها و همکاری های ارزنده شان صمیمانه سپاسگزارم.

از اساتید محترم گروه جناب آقای دکتر سعید محرمی پور و جناب آقای دکتر علی اصغر طالبی به خاطر راهنمودها و نظرات علمی ارزشمندشان در هرچه بهتر نمودن این رساله و همچنین به خاطر زحمانی که در مطالعه این رساله به عنوان اساتید ناظر مستقبل شدند صمیمانه قدردانی می نمایم. همچنین بر خود لازم می دانم که از جناب آقای دکتر جعفر محقق نیشابوری و جناب آقای دکتر وحید حسینی نوه که به عنوان اساتید ناظر قبول زحمت فرموده و مطالعه رساله را بر عهده گرفتند قدردانی نمایم.

از همسر مهربانم که همواره همراه و پشتیبان من بوده و در تمامی مراحل این رساله دلسوزانه مشوق و یاری دهنده من بوده اند بی نیات قدردانی و سپاسگزاری می نمایم. در پایان از تمامی عزیزانی که به نحوی در انجام این رساله مرایاری نموده اند تشکر و قدردانی می نمایم.

این صداریان جهرمی

بهمن ماه ۱۳۹۱

چکیده

اثرات زیرکشندگی بیمارگر *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (Btk) روی پارامترهای اکوفیزیولوژیک شب‌پره‌ی *Helicoverpa armigera* (Hübner) و پارامترهای زیستی زنبور پارازیتوئید *Habrobracon hebetor* (Say) در شرایط دمایی 26 ± 1 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 70 ± 5 درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی مورد مطالعه قرار گرفت. کمترین ($31/87$ روز) و بیشترین ($37/17$ روز) طول دوره‌ی رشد و نمو مراحل نابالغ لاروهای نئونات تیمار شده‌ی شب‌پره‌ی *H. armigera* به ترتیب در تیمارهای شاهد و LC_{25} ثبت شد. باروری حشرات ماده نیز به طور معنی‌داری تحت تاثیر قرار گرفته و کمترین میزان باروری ($98/46$ تخم) در تیمار LC_{25} ثبت شد. نرخ تفریح نیز با افزایش غلظت کاهش یافت و در تیمار LC_{25} به صفر رسید. علاوه بر لاروهای نئونات تیمار شده، غلظت‌های مختلف بیمارگر Btk پارامترهای زیستی نسل بعد این شب‌پره را نیز تحت تاثیر قرار دادند. بر همین اساس، کمترین ($82/92$ نتاج ماده) و بیشترین ($349/13$ نتاج ماده) مقادیر نرخ خالص تولید مثل (R_0) به ترتیب در تیمارهای LC_{25} و شاهد ثبت شد. کمترین مقادیر نرخ ذاتی (r_m) و متناهی (λ) افزایش جمعیت نیز در تیمار LC_{25} ثبت شد (به ترتیب $0/129$ و $1/137$ بر روز). بیشترین مقادیر شاخص رشد نسبی (RGR) ($0/073$ میلی گرم/میلی گرم/روز) در بالاترین غلظت زیرکشنده‌ی مورد مطالعه (LC_{25}) به دست آمد. شاخص مصرف نسبی (RCR) نیز با افزایش غلظت مورد مطالعه افزایش یافت و بیشترین مقدار آن در تیمار LC_{25} محاسبه گردید ($2/138$ میلی گرم/میلی گرم/روز). علاوه بر پارامترهای زیستی و شاخص‌های تغذیه‌ای، فعالیت پروتئازی معده‌ی میانی در لاروهای سن پنجم شب‌پره‌ی *H. armigera* نیز تحت تاثیر غلظت‌های زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk قرار گرفت. بیشترین میزان فعالیت پروتئازی کل در تیمار شاهد ثبت شد و با افزایش غلظت از میزان فعالیت ویژه‌ی این آنزیم کاسته شد. فعالیت ویژه‌ی آنزیم‌های کیموتریپسین و الاستاز نیز با افزایش غلظت بیمارگر Btk کاهش یافت اما تیمارهای مختلف مورد استفاده فعالیت ویژه‌ی آنزیم تریپسین را تحت تاثیر قرار ندادند. با توجه به اینکه فعالیت ویژه‌ی آنزیم تریپسین یکی از عوامل ایجاد مقاومت نسبت به بیمارگر Bt می‌باشد، لذا نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر موید پتانسیل شب‌پره *H. armigera* در ایجاد مقاومت نسبت به این بیمارگر می‌باشد. بر اساس نتایج به دست آمده، پارامترهای زیستی زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* نیز تحت تاثیر غلظت‌های زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk قرار گرفت. کمترین ($12/34$ روز) و بیشترین ($14/11$ روز) طول مراحل رشد و نمو قبل از بلوغ این پارازیتوئید در تیمار شاهد و LC_{25} ثبت شد. کمترین میزان باروری این پارازیتوئید در تیمار LC_{25} ثبت شد ($41/14$ تخم). نرخ خالص تولید مثل (R_0) زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* نیز در تیمارهای مختلف از نظر آماری متفاوت بود و کمترین میزان این پارامتر ($9/68$ نتاج ماده) در تیمار LC_{25} ثبت شد. مقادیر محاسبه شده‌ی نرخ ذاتی افزایش جمعیت (r_m) نیز در تیمارهای مختلف مورد مطالعه از نظر آماری متفاوت بود و بیشترین میزان این پارامتر در تیمار شاهد به دست آمد ($0/227$ بر روز). کمترین ($1/121$ بر روز) و بیشترین ($1/255$ بر روز) مقادیر نرخ متناهی افزایش جمعیت (λ) زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* نیز به ترتیب در تیمارهای LC_{25} و شاهد محاسبه شد. بر اساس نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر، توانایی شب‌پره‌ی *H. armigera* در ایجاد مقاومت نسبت به بیمارگر Btk و همچنین کاهش پتانسیل تولید مثلی زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* روی لاروهای تیمار شده شب‌پره‌ی *H. armigera* از جمله مواردی است که در برنامه‌های مدیریت تلفیقی کرم غوزه‌ی پنبه با استفاده از این عوامل مهار زیستی باید مورد توجه ویژه قرار گیرد.

واژگان کلیدی: *Bacillus thuringiensis*, *Helicoverpa armigera*, *Habrobracon hebetor*، غلظت زیرکشنده، پارامترهای رشد جمعیت، شاخص‌های تغذیه‌ای، فعالیت پروتئازی

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
۱- فصل اول: مقدمه	۲
۲- فصل دوم: مرور منابع	۷
۲-۱-۱- کرم غوزه‌ی پنبه <i>H. armigera</i>	۷
۲-۱-۱-۱- دامنهی میزبانی و اهمیت اقتصادی	۷
۲-۱-۲- مناطق انتشار	۸
۲-۱-۳- جایگاه <i>H. armigera</i> در رده بندی حشرات	۹
۲-۱-۴- زیست شناسی	۹
۲-۱-۵- پارامترهای رشد جمعیت	۱۰
۲-۱-۶- شاخص‌های تغذیه‌ای	۱۲
۲-۱-۷- دستگاه گوارش حشرات	۱۳
۲-۱-۷-۱- آنزیم‌های گوارشی	۱۵
۲-۱-۸- مهار شیمیایی شب‌پره‌ی <i>H. armigera</i> و اهمیت استفاده از عوامل مهار زیستی	۱۸
۲-۲- استفاده از بیمارگرهای حشرات در مهار شب‌پره‌ی <i>H. armigera</i>	۱۸
۲-۲-۱- بیمارگر Bt	۲۱
۲-۲-۱-۱- مکانیسم اثر Bt	۲۲
۲-۲-۱-۲- استفاده از بیمارگر Bt علیه <i>Helicoverpa</i> spp.	۲۳
۲-۲-۳- اثر Bt روی شاخص‌های تغذیه‌ای	۲۴
۲-۲-۴- غلظت‌های زیرکشنده‌ی Bt	۲۵
۲-۲-۴-۱- اثرات زیرکشنده‌ی بیمارگر Bt روی آفات	۲۶
۲-۲-۴-۲- اثرات زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk روی دشمنان طبیعی	۲۷
۲-۳- زنبور پارازیتوئید <i>H. hebetor</i>	۲۸
۲-۳-۱- دوره‌ی زندگی	۲۸
۲-۳-۲- میزبان‌های گزارش شده	۲۹
۲-۳-۳- فعالیت روی شب‌پره‌ی <i>H. armigera</i>	۲۹
۲-۳-۴- اهمیت ارزیابی اثرات سموم روی زنبور پارازیتوئید <i>H. hebetor</i>	۳۰
۳- فصل سوم: مواد و روش‌ها	۳۲
۳-۱- پرورش کلنی <i>H. armigera</i>	۳۳

۳-۲- تهیه‌ی رژیم غذایی مصنوعی مورد استفاده در تغذیه‌ی لاروها	۳۴
۳-۳- فرمولاسیون تجاری مورد استفاده Btk	۳۵
۳-۴- آزمایش‌های زیست‌سنجی و تعیین غلظت‌های زیرکشنده	۳۶
۳-۴-۱- مرحله‌ی مقدماتی	۳۶
۳-۴-۲- مرحله‌ی اصلی	۳۸
۳-۵- پرورش شب‌پره‌ی <i>Ephestia kuehniella</i> (Zeller) آرد	۳۹
۳-۶- پرورش زنبور پارازیتوئید <i>H. hebetor</i>	۴۰
۳-۷- ارزیابی اثرات زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk روی شب‌پره‌ی <i>H. armigera</i>	۴۲
۳-۷-۱- اثرات زیرکشنده‌ی روی لاروهای نئونات تیمار شده	۴۲
۳-۷-۲- اثرات زیرکشنده‌ی روی نتاج لاروهای نئونات تیمار شده	۴۵
۳-۸- ارزیابی اثرات زیرکشنده‌ی Btk روی شاخص‌های تغذیه‌ای لاروهای نئونات تیمار شده‌ی شب‌پره‌ی <i>H. armigera</i>	۴۷
۳-۹- ارزیابی اثرات زیرکشنده‌ی Btk روی فعالیت پروتئولیتیک لاروهای سن پنجم شب‌پره‌ی <i>H. armigera</i>	۵۰
۳-۹-۱- آماده‌سازی تیمارها	۵۰
۳-۹-۲- تهیه‌ی عصاره‌ی آنزیمی از معده‌ی میانی	۵۱
۳-۹-۳- تعیین اسیدیت‌ی بهینه برای سنجش میزان فعالیت پروتئازی	۵۱
۳-۹-۳-۱- تهیه‌ی بافر یونیورسال	۵۱
۳-۹-۳-۲- تعیین اسیدیت‌ی بهینه برای سنجش میزان فعالیت پروتئاز کل	۵۲
۳-۹-۳-۳- تعیین اسیدیت‌ی بهینه برای سنجش میزان فعالیت تریپسین، کیموتریپسین و الاستاز ...	۵۳
۳-۹-۴- تعیین غلظت پروتئین در تیمارهای مختلف و مقایسه‌ی میزان فعالیت پروتئولیتیک در تیمارهای مختلف زیرکشنده	۵۴
۳-۱۰- ارزیابی اثرات زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk روی پارامترهای زیستی زنبور پارازیتوئید <i>H. hebetor</i>	۵۵
۴- فصل چهارم: نتایج	۶۰
۴-۱- آزمایش‌های زیست‌سنجی	۶۰
۴-۲- اثرات زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk روی پارامترهای زیستی شب‌پره‌ی <i>H. armigera</i>	۶۱
۴-۲-۱- اثرات زیرکشنده‌ی روی لاروهای نئونات تیمار شده	۶۱
۴-۲-۲- اثرات زیرکشنده‌ی روی نتاج لاروهای نئونات تیمار شده	۶۵
۴-۳- اثرات زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk روی شاخص‌های تغذیه‌ای شب‌پره‌ی <i>H. armigera</i>	۷۳
۴-۳-۱- شاخص‌های تغذیه‌ای لاروهای سن سوم	۷۳

۲-۳-۴	- شاخص‌های تغذیه‌ای لاروهای سن چهارم	۷۶
۳-۳-۴	- شاخص‌های تغذیه‌ای لاروهای سن پنجم	۷۸
۴-۳-۴	- شاخص‌های تغذیه‌ای مجموع سنین لاروی	۸۰
۴-۴	- اثرات زیرکشدگی بیمارگر Btk روی میزان فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک شب‌پره‌ی <i>H. armigera</i>	۸۳
۱-۴-۴	- اسیدیتته‌ی بهینه برای سنجش میزان فعالیت ویژه‌ی آنزیم‌های پروتئولیتیک	۸۳
۲-۴-۴	- اثرات زیرکشدگی بیمارگر Btk روی فعالیت ویژه‌ی آنزیم پروتئاز کل	۸۴
۳-۴-۴	- اثرات زیرکشدگی بیمارگر Btk روی فعالیت ویژه‌ی آنزیم تریپسین	۸۵
۴-۴-۴	- اثرات زیرکشدگی بیمارگر Btk روی فعالیت ویژه‌ی آنزیم کیموتریپسین	۸۶
۵-۴-۴	- اثرات زیرکشدگی بیمارگر Btk روی فعالیت ویژه‌ی آنزیم الاستاز	۸۷
۵-۴	- اثرات زیرکشدگی بیمارگر Btk روی پارامترهای زیستی زنبور پارازیتوئید <i>H. hebetor</i>	۸۸
۱-۵-۴	- طول مراحل مختلف زندگی، باروری و نسبت جنسی زنبور	۸۸
۲-۵-۴	- زنده‌مانی (l_x) و باروری (m_x) ویژه‌ی سنی	۹۱
۳-۵-۴	- امید به زندگی (e_x)	۹۳
۴-۵-۴	- پارامترهای جدول تولید مثل	۹۴
۵-۵-۴	- پارامترهای رشد جمعیت	۹۵
۹۸	- فصل پنجم: بحث	
۱-۵	- اثرات زیرکشدگی بیمارگر Btk روی پارامترهای زیستی شب‌پره‌ی <i>H. armigera</i>	۹۸
۱-۱-۵	- اثرات زیرکشدگی بیمارگر Btk روی طول دوره‌های مختلف رشدی	۹۸
۲-۱-۵	- اثرات زیرکشدگی بیمارگر Btk روی وزن شفیره‌های تشکیل شده	۱۰۰
۳-۱-۵	- اثرات زیرکشدگی بیمارگر Btk روی پتانسیل تولید مثلی	۱۰۰
۴-۱-۵	- اثرات زیرکشدگی بیمارگر Btk روی پارامترهای رشد جمعیت	۱۰۲
۵-۱-۵	- جمع بندی	۱۰۳
۲-۵	- اثرات زیرکشدگی بیمارگر Btk روی شاخص‌های تغذیه‌ای شب‌پره‌ی <i>H. armigera</i>	۱۰۳
۱-۲-۵	- جمع بندی	۱۰۷
۳-۵	- فعالیت آنزیم‌های پروتئاز معده‌ی میانی لاروهای سن پنجم شب‌پره‌ی <i>H. armigera</i> در تیمارهای زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk	۱۰۷
۱-۳-۵	- اسیدیتته‌ی بهینه برای فعالیت آنزیم‌های پروتئاز	۱۰۷
۲-۳-۵	- اثرات زیرکشدگی بیمارگر Btk روی فعالیت ویژه‌ی آنزیم‌های پروتئاز	۱۰۸
۳-۳-۵	- جمع بندی	۱۱۰

۴-۵- پارامترهای زیستی زنبور پارازیتوئید <i>H. hebetor</i> روی لاروهای تیمار شده‌ی شب‌پره‌ی <i>H. armigera</i> با غلظت‌های زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk	۱۱۰
۱-۴-۵- اثرات بیمارگر Btk روی نرخ زنده‌مانی زنبورهای پارازیتوئید	۱۱۱
۲-۴-۵- اثرات بیمارگر Btk روی طول مراحل مختلف رشدی زنبورهای پارازیتوئید	۱۱۲
۳-۴-۵- اثرات بیمارگر Btk روی باروری زنبورهای پارازیتوئید	۱۱۳
۴-۴-۵- اثرات بیمارگر Btk روی پارامترهای رشد جمعیت زنبورهای پارازیتوئید	۱۱۴
۵-۴-۵- جمع بندی	۱۱۵
۵-۵- پیشنهادات	۱۱۶
فهرست منابع	۱۱۸

فهرست جدول‌ها

عنوان	صفحه
جدول ۱-۲- پارامترهای رشد جمعیت شب‌پره‌ی <i>Helicoverpa armigera</i> روی میزبان‌های گیاهی مختلف	۱۱
جدول ۲-۲- برخی از بیماری‌گرهای جدا شده از گونه‌های مختلف جنس <i>Helicoverpa</i>	۲۰
جدول ۱-۳- فرمول‌های لگاریتمی مورد استفاده در محاسبه غلظت‌های استفاده شده در مرحله‌ی اصلی آزمایش‌های زیست‌سنجی	۳۸
جدول ۲-۳- فرمول‌های مورد استفاده در محاسبه‌ی پارامترهای جدول زندگی شب‌پره‌ی <i>Helicoverpa armigera</i> در تیمارهای مختلف زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk	۴۶
جدول ۴-۳- فرمول‌های مورد استفاده در محاسبه‌ی پارامترهای رشد جمعیت شب‌پره‌ی <i>Helicoverpa armigera</i> در تیمارهای مختلف زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk	۴۷
جدول ۳-۳- فرمول‌های مورد استفاده در محاسبه‌ی پارامترهای جدول تولید مثل شب‌پره‌ی <i>Helicoverpa armigera</i> در تیمارهای مختلف زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk	۴۶
جدول ۵-۳- فرمول‌های مورد استفاده در محاسبه‌ی شاخص‌های تغذیه‌ای شب‌پره‌ی <i>Helicoverpa armigera</i> در تیمارهای مختلف زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk	۴۹
جدول ۱-۴- نتایج حاصل از آزمایش‌های زیست‌سنجی بیمارگر Btk علیه لاروهای نئونات شب‌پره‌ی <i>Helicoverpa armigera</i>	۶۰
جدول ۲-۴- پارامترهای زیستی (میانگین \pm SE) لاروهای نئونات تیمار شده‌ی شب‌پره‌ی <i>Helicoverpa armigera</i> با غلظت‌های زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk	۶۴
جدول ۳-۴- اثرات زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk روی طول مراحل زیستی و باروری (میانگین \pm SE) نتاج لاروهای نئونات تیمار شده‌ی شب‌پره‌ی <i>Helicoverpa armigera</i>	۶۶
جدول ۴-۴- اثرات زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk روی نسبت جنسی شب‌پره‌ی <i>Helicoverpa armigera</i>	۷۰
جدول ۵-۴- پارامترهای رشد جمعیت (میانگین \pm SE) نتاج لاروهای نئونات شب‌پره‌ی <i>Helicoverpa armigera</i> تیمار شده با غلظت‌های زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk	۷۳
جدول ۶-۴- اثرات زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk روی شاخص‌های تغذیه‌ای لاروهای سن سوم شب‌پره‌ی <i>Helicoverpa armigera</i>	۷۵
جدول ۷-۴- اثرات زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk روی شاخص‌های تغذیه‌ای لاروهای سن چهارم شب‌پره‌ی <i>Helicoverpa armigera</i>	۷۷

- جدول ۴-۸- اثرات زیرکشندگی بیمارگر Btk روی شاخص‌های تغذیه‌ای لاروهای سن پنجم شب‌پره‌ی *Helicoverpa armigera* ۷۹
- جدول ۴-۹- اثرات زیرکشندگی بیمارگر Btk روی شاخص‌های تغذیه‌ای مجموع سنین لاروی شب‌پره‌ی *Helicoverpa armigera* ۸۱
- جدول ۴-۱۰- میانگین (\pm SE) طول مراحل زیستی زنبور پارازیتوئید *Habrobracon hebetor* روی لاروهای شب‌پره‌ی *Helicoverpa armigera* تیمار شده با غلظت‌های زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk ۹۰
- جدول ۴-۱۱- اثرات زیرکشندگی بیمارگر Btk روی دوره‌ی بلوغ و باروری روزانه و کل زنبور پارازیتوئید *Habrobracon hebetor* ۹۱
- جدول ۴-۱۲- اثرات زیرکشندگی بیمارگر Btk روی نسبت جنسی زنبور پارازیتوئید *Habrobracon hebetor* ۹۱
- جدول ۴-۱۳- آنالیز آماری نرخ زنده‌مانی زنبور پارازیتوئید *Habrobracon hebetor* روی لاروهای تیمار شده *Helicoverpa armigera* با غلظت‌های زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk ۹۲
- جدول ۴-۱۴- پارامترهای جدول تولید مثل زنبور پارازیتوئید *Habrobracon hebetor* در تیمارهای زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk ۹۵
- جدول ۴-۱۵- پارامترهای رشد جمعیت زنبور پارازیتوئید *Habrobracon hebetor* روی لاروهای شب‌پره‌ی *Helicoverpa armigera* تیمار شده با غلظت‌های زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk ۹۶

فهرست شکل‌ها

عنوان	صفحه
شکل ۱-۲- پراکنش جهانی <i>Helicoverpa armigera</i>	۸
شکل ۲-۲- قسمت‌های مختلف دستگاه گوارش حشرات (برگرفته از Klowden, 2007).....	۱۴
شکل ۳-۲- تصویر شماتیک از یک سلول ستونی (برگرفته از Klowden, 2007).....	۱۵
شکل ۴-۲- آنزیم‌های پپتیداز در حشرات و نحوه‌ی اثر آن‌ها (برگرفته از Klowden, 2007).....	۱۶
شکل ۵-۲- تکثیر باکتری Bt و تولید کریستال‌های سمی در فاز اسپورزایی (برگرفته از Rodrigo-Simon et al., 2008).....	۲۲
شکل ۶-۲- مکانیسم اثر بیماری‌گر Bt روی سلول‌های پوششی جدار معده‌ی میانی (برگرفته از Http://web.utk.edu/~jurat/).....	۲۲
شکل ۱-۳- مراحل مختلف پرورش شب‌پره <i>Helicoverpa armigera</i> در شرایط آزمایشگاه. الف) کیسه-های پلاستیکی حاوی تخم؛ ب) لاروهای نئونات روی توری‌های حریر؛ ج و د) لاروها روی غذای مصنوعی درون ظروف در دار گرد؛ و) ظروف مورد استفاده در پرورش انفرادی لاروها؛ ه) ظروف تخم‌ریزی شب‌پره-های بالغ (اصل).....	۳۴
شکل ۲-۳- مراحل زیست‌سنجی بیماری‌گر Btk علیه لاروهای نئونات شب‌پره <i>Helicoverpa armigera</i> الف) آماده سازی غلظت‌ها؛ ب) مخلوط کردن غلظت‌ها با غذای مصنوعی؛ ج) انتقال لاروهای نئونات به درون میکروتیوب‌های حاوی غذای مصنوعی مخلوط با غلظت‌های مختلف بیماری‌گر Btk؛ د) تکرارهای مورد استفاده در هر غلظت (اصل).....	۳۷
شکل ۳-۳- مراحل مختلف پرورش شب‌پره آرد <i>Ephestia kuehniella</i> در شرایط آزمایشگاه الف) ظروف تخم‌ریزی؛ ب) انتقال لاروهای نئونات به درون آرد؛ ج) لاروهای سنین پایین درون آرد؛ د) لاروهای سن پنجم؛ و) شفیره‌های تشکیل شده؛ ه) حشره بالغ (اصل).....	۴۰
شکل ۴-۳- مراحل مختلف پرورش زنبور پارازیتوئید <i>Habrobracon hebetor</i> روی لاروهای سنین آخر شب‌پره‌ی آرد در شرایط آزمایشگاهی الف) شفیره؛ ب) حشره بالغ نر؛ ج) حشره بالغ ماده؛ د) ظروف تخم-ریزی؛ و) لاروهای پارازیت شده‌ی شب‌پره‌ی آرد و تخم‌های زنبور پارازیتوئید روی آن؛ ه) لاروهای زنبور پارازیتوئید در حال تغذیه از لاروهای شب‌پره‌ی آرد (اصل).....	۴۱
شکل ۵-۳- ثبت مراحل مختلف رشدی نابالغ در شب‌پره‌ی <i>Helicoverpa armigera</i> در تیمارهای مختلف زیرکشنده بیماری‌گر Btk الف) از چپ به راست لارو سن آخر، پیش شفیره و شفیره؛ ب) لاروها کمی قبل از پوست اندازی؛ ج) کپسول سر و پوسته‌های به جامانده پس از پوست اندازی؛ د) شفیره‌ی خارج شده از پوسته‌ی آخرین سن لاروی (اصل).....	۴۳

شکل ۳-۶- ثبت میزان تخم‌ریزی شب‌پره‌ی *Helicoverpa armigera* در تیمارهای مختلف زیرکشنده بیمارگر Btk (الف و ب) ظروف مورد استفاده به منظور ثبت میزان تخم‌ریزی حشرات ماده: (ج) توری‌های تخم جمع آوری شده به منظور محاسبه‌ی نسبت جنسی و درصد تفریح تخم (اصل) ۴۴

شکل ۳-۷- مطالعه‌ی اثرات زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk روی شاخص‌های تغذیه‌ای شب‌پره‌ی *Helicoverpa armigera* (الف) استفاده از پوسته‌های لاروی به عنوان ملاک پوست اندازی: (ب) لارو سن چهار: (ج) توزین روزانه لاروها، غذای داده شده و فضولات تولید شده: (د) اندازه‌گیری وزن خشک نمونه‌ها (اصل) ۴۹

شکل ۳-۸- معده‌ی میانی استخراج شده از لاروهای سن پنجم شب‌پره *Helicoverpa armigera* (اصل) ۵۰

شکل ۳-۹- دستگاه میکروپلیت ریدر مورد استفاده به منظور مطالعه‌ی اثرات زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk روی فعالیت پروتئولیتیک معده‌ی میانی لاروهای سن پنجم شب‌پره‌ی *Helicoverpa armigera* (اصل) ۵۳

شکل ۳-۱۰- استفاده از روش برادفورد به منظور تعیین غلظت پروتئین در عصاره‌های آنزیمی استخراج شده از معده‌ی میانی لاروهای سن پنجم شب‌پره *Helicoverpa armigera* در تیمارهای مختلف زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk (اصل) ۵۴

شکل ۳-۱۱- مطالعه‌ی پارامترهای زیستی زنبور پارازیتوئید *Habrobracon hebetor* روی لاروهای تیمار شده‌ی شب‌پره‌ی *Helicoverpa armigera* با غلظت‌های زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk (الف) ظروف ویژه‌ی تخم‌ریزی زنبورهای پارازیتوئید: (ب) استفاده از محلول آب عسل ۱۰ درصد به منظور تغذیه‌ی زنبورهای بالغ: (ج و د) پرورش انفرادی تخم‌ها و ثبت میزان مرگ و طول مراحل مختلف رشدی (اصل) ۵۷

شکل ۴-۱- نمودار پروبیت مربوط به آزمایش زیست‌سنجی بیمارگر Btk علیه لاروهای نئونات شب‌پره‌ی *Helicoverpa armigera* ۶۱

شکل ۴-۲- ارتباط رگرسیونی بین غلظت‌های زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk و وزن شفیره‌ی شب‌پره‌ی *Helicoverpa armigera* ۶۵

شکل ۴-۳- اثرات زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk روی وزن شفیره‌ی (میانگین \pm SE) شب‌پره‌ی *Helicoverpa armigera* در دو نسل متوالی ۶۸

شکل ۴-۴- ارتباط رگرسیونی بین غلظت‌های زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk و وزن شفیره‌ی نتاج شب‌پره‌ی *Helicoverpa armigera* ۶۹

شکل ۴-۵- منحنی‌های امید به زندگی (e_x) نتاج لاروهای نئونات شب‌پره‌ی *Helicoverpa armigera* تیمار شده با غلظت‌های زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk ۶۹

شکل ۴-۶- منحنی‌های زنده‌مانی نتاج لاروهای نئونات تیمار شده شب‌پره‌ی *Helicoverpa armigera* با غلظت‌های زیرکشنده‌ی بیمارگر Btk ۷۱

شکل ۴-۷- مرگ ویژهی سنی (q_x) در نتاج لاروهای نئونات شب‌پرهی *Helicoverpa armigera* تیمار شده با غلظت‌های زیرکشندهی بیمارگر Btk ۷۲

شکل ۴-۸- اثرات زیرکشندهی بیمارگر Btk روی وزن تر و خشک پیش شفیره‌های تشکیل شده از لاروهای تیمار شدهی شب‌پرهی *Helicoverpa armigera* ۸۲

شکل ۴-۹- فعالیت ویژهی آنزیم پروتئاز کل استخراج شده از معدهی میانی لاروهای سن پنجم شب‌پرهی *Helicoverpa armigera* در اسیدیت‌های مختلف ۸۳

شکل ۴-۱۰- فعالیت ویژهی آنزیم تریپسین استخراج شده از معدهی میانی لاروهای سن پنجم شب‌پرهی *Helicoverpa armigera* در اسیدیت‌های مختلف ۸۴

شکل ۴-۱۱- فعالیت ویژهی آنزیم پروتئاز کل استخراج شده از معدهی میانی لاروهای سن پنجم شب‌پرهی *Helicoverpa armigera* در غلظت‌های زیرکشندهی بیمارگر Btk ۸۵

شکل ۴-۱۲- فعالیت ویژهی آنزیم تریپسین استخراج شده از معدهی میانی لاروهای سن پنجم شب‌پرهی *Helicoverpa armigera* در غلظت‌های زیرکشندهی بیمارگر Btk ۸۶

شکل ۴-۱۳- فعالیت ویژهی آنزیم کیموتریپسین استخراج شده از معدهی میانی لاروهای سن پنجم شب‌پرهی *Helicoverpa armigera* در غلظت‌های زیرکشندهی بیمارگر Btk ۸۷

شکل ۴-۱۴- فعالیت ویژهی آنزیم الاستاز استخراج شده از معدهی میانی لاروهای سن پنجم شب‌پرهی *Helicoverpa armigera* در غلظت‌های زیرکشندهی بیمارگر Btk ۸۸

شکل ۴-۱۵- نرخ زنده‌مانی (l_x) و باروری (m_x) ویژهی سنی زنبور پارازیتوئید *Habrobracon hebetor* روی لاروهای تیمار شدهی *Helicoverpa armigera* با غلظت‌های زیرکشندهی بیمارگر Btk ۹۳

شکل ۴-۱۶- امید به زندگی (e_x) زنبور پارازیتوئید *Habrobracon hebetor* روی لاروهای تیمار شده *Helicoverpa armigera* با غلظت‌های زیرکشندهی بیمارگر Btk ۹۴

فصل اول

مقدمه

Introduction

۱- فصل اول: مقدمه

کرم غوزه‌ی پنبه^۱ *Helicoverpa armigera* (Hübner) آفتی چندخوار و با پراکنش جهانی می‌باشد که به دلیل قدرت جابه‌جایی زیاد، دوره‌ی رشدی کوتاه و نرخ بالای تولید مثل به یکی از مهم‌ترین آفات گیاهان زراعی در نقاط مختلف دنیا تبدیل شده است. لاروهای این آفت تمایل زیادی به تغذیه از اندام‌های رویشی و زایشی گیاه از خود نشان می‌دهند که این امر تاثیر به‌سزایی در کاهش میزان محصول تولید شده دارد به طوری‌که تغذیه‌ی این آفت روی بسیاری از گیاهان زراعی نظیر پنبه، سویا، کلزا، تنباکو، ذرت و گوجه فرنگی اغلب سبب ایجاد خسارات اقتصادی قابل توجهی می‌شود (Nguyen *et al.*, 2007; Fathipour and Naseri, 2011).

از آنجا که مهار شیمیایی ساده‌ترین و کم هزینه‌ترین روش کنترل کرم غوزه‌ی پنبه می‌باشد، لذا تولیدکنندگان محصولات کشاورزی در مهار این آفت بیشتر از این روش استفاده می‌نمایند. مصرف بی‌رویه‌ی سموم در بوم سامانه‌های کشاورزی^۲ (به ویژه در سال‌های اخیر) پیدایش ناهنجاری‌های متعددی از جمله آلودگی‌های زیست محیطی، تهدید سلامتی انسان، بروز مقاومت نسبت به سموم و طغیان مجدد آفات (به دلیل از بین رفتن دشمنان طبیعی) را به دنبال داشته است. از اینرو استفاده از روش‌های جایگزین به منظور کاهش مصرف سموم شیمیایی در بوم سامانه‌های کشاورزی، محافظت از دشمنان طبیعی و به حداقل رساندن میزان مقاومت نسبت به سموم مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است (Lawo *et al.*, 2008). از جمله روش‌هایی که می‌توان به منظور کاهش اثرات مخرب حشره‌کش‌های شیمیایی^۳ در بوم سامانه‌های کشاورزی مورد توجه قرار داد، استفاده از عوامل مهار زیستی^۴ در قالب برنامه‌های مدیریت تلفیقی (IPM) می‌باشد. چنین برنامه‌هایی نه تنها در دراز مدت سبب بازگرداندن

¹ Cotton bollworm

² Agroecosystems

³ Chemical insecticides

⁴ Biocontrol agents or Natural enemies

تعدادل از بین رفته در بوم سامانه‌های کشاورزی خواهند شد، بلکه تاثیر به سزایی نیز در کاهش هزینه‌های تولید، تولید محصول سالم و حرکت به سمت کشاورزی پایدار خواهند داشت.

بیمارگر^۱ *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt) از جمله عوامل مهار زیستی می‌باشد که در سال‌های اخیر به منظور مهار جمعیت‌های شب پره *H. armigera* در نقاط مختلف جهان مورد استفاده قرار گرفته است (Schnepf *et al.*, 1998) و در حال حاضر فرمولاسیون‌های تجاری تولید شده بر پایه‌ی اسپور و کریستال‌های این باکتری متداول‌ترین آفت‌کش‌های زیستی مورد استفاده در سراسر دنیا را تشکیل می‌دهند (Mohan *et al.*, 2007). علاوه بر فرمولاسیون‌های تجاری، ژن‌های استخراج شده از ژنوم این باکتری نیز تاثیر شگرفی در توسعه زیست فناوری^۲ گیاهی و ایجاد گیاهان تراریخت^۳ مقاوم به آفات داشته‌اند. با این وجود، هنوز در برخی از کشورهای جهان از جمله ایران استفاده از گیاهان تراریخت با اقبال عمومی مواجه نشده است.

علاوه بر Bt، زنبور پارازیتوئید (*Habrobracon hebetor* (Say) نیز از جمله دشمنان طبیعی موفق است که برنامه‌های پرورش انبوه و رهاسازی^۴ آن به منظور مهار آفات زراعی مختلف از جمله کرم غوزه‌ی پنبه هر ساله در قسمت‌های مختلف کشور ما اجرا می‌شود. *H. hebetor* به دلیل دارا بودن برخی ویژگی‌های مناسب نظیر سهولت نسبی پرورش آزمایشگاهی، دوره‌ی رشد و نمو کوتاه و سازگاری مناسب با شرایط اقلیمی مناطق مختلف ایران این پتانسیل را دارد که در تلفیق با باکتری Bt در برنامه‌های مدیریتی کرم غوزه‌ی پنبه مورد استفاده قرار گیرد. البته مهم‌ترین ویژگی این پارازیتوئید به منظور استفاده در برنامه‌های مدیریت تلفیقی کرم غوزه پنبه به همراه Bt ترجیح سنین آخر لاروی میزبان به منظور تخم‌ریزی می‌باشد (برخلاف Bt که سمیت بیشتری نسبت به لاروهای سنین اول دارد). این ویژگی سبب می‌

¹ Pathogen

² Biotechnology

³ Transgenic plants

⁴ Augmentation