نامه‌ی انجمن حشره‌شناسی ایران
۱۳۸۷ – ۲۸(۱): ۶۳-۷۴

بررسی آزمایشگاهی قدرت بیمارگری ویروس *Mb*NPV روی بید کلم *Plutella xylostella* (Lep.: Plutellidae)

آزاده فهیمی[۱و*]، عزیز خرازی پاکدل[۱]، رضا طلایی حسنلویی[۱]، محمدرضا رضاپناه[۲] و فیضا.. ملکی[۱]

۱- گروه گیاه‌پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ۲- بخش تحقیقات مبارزه‌ی بیولوژیک، موسسه‌ی تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، تهران.

*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: az_fahimi2004@yahoo.com

Evaluation of the effect of *Mb*NPV on cabbage moth, *Plutella xylostella* (Lep.: Plutellidae), in laboratory conditions

A. Fahimi[1&*], A. Kharazi-Pakdel[1], R. Talaei-Hassanloui[1], M. R. Rezapanah[2] and F. Maleki[1]

1. Department of Plant Protection, Campus of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran, 2. Department of Biological Control, Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran.

*Corresponding author, E-mail: az_fahimi2004@yahoo.com

چکیده

بید کلم با نام علمی *Plutella xylostella* L. از مهم‌ترین آفات کلم و کلزا در ایران است. یکی از دشمنان طبیعی مهم این آفت ویروس‌های چندوجهی هسته‌ای است. با توجه به اهمیت اقتصادی بید کلم و لزوم کنترل آن، ویروس *Mb*NPV از خانواده‌ی Baculoviridae انتخاب شد و قدرت بیمارگری آن روی بید کلم مورد بررسی قرار گرفت. بررسی‌های انجام شده در مورد اثر ویروس *Mb*NPV روی مراحل مختلف رشدی بید کلم نشان داد که این ویروس از قدرت بیمارگری بالایی روی لاروها برخوردار می‌باشد. در آلودگی سطحی دستجات تخم با غلظت ۱×۱۰^{۵} پلی‌هدر بر میلی‌لیتر، تمام لاروها در روز سوم پس از تفریخ تخم از بین رفتند. میزان LC_{50} برای لاروهای سن دوم، ۱۱/۹۹ پلی‌هدر بر میلی‌متر مربع محاسبه گردید. پس از ثبت تلفات لاروها به مدت ۱۲ روز، زمان لازم برای ایجاد تلفات ۵۰ درصد (LT_{50}) برای دزهای ۱۹/۵ و ٤٧/٨٦ پلی‌هدر بر میلی‌متر مربع، به ترتیب ۷/۱٦ و ۶/۱۱ روز به دست آمد. میانگین تلفات با دز ٤٧/٨٦ پلی‌هدر بر میلی‌متر مربع برای سنین ۲، ۳ و ٤ لاروی، به ترتیب ۷٤/٤٤، ٤۲/۷۸ و ۱۱/۱۱ درصد ثبت گردید.

واژگان کلیدی: *Plutella xylostella*، *Mb*NPV، LC_{50}، LT_{50}، کلزا

Abstract

Cabbage moth, *Plutella xylostella* L., is the most important pest in cabbage and canola cultures in Iran. Nuclear polyhedrosis viruses are known as important natural enemies of this pest. Because of economic importance of cabbage moth and the necessity of its control, *Mb*NPV (Baculoviridae) was chosen to evaluate its effect on cabbage moth. Experimental data showed that the virus had high virulence and could be considered as the important agent for the control of this insect. In infestation of egg surfaces with 1×10^5 PIB/ml of *Mb*NPV, all of larvae died three days after hatching. The LC_{50} value for the second instar larvae of cabbage moth was calculated 11.99 PIB/mm^2. The LT_{50} values for the same larvae with 19.5 and 47.86 PIB/mm^2 doses of *Mb*NPV were 7.16 and 6.11 days, respectively. Mean percentages of mortality with 47.86 PIB/mm^2 for 2nd, 3rd and 4th instar larvae were 74.44, 42.78 and 11.11, respectively.

Key words: *Plutella xylostella*, *Mb*NPV, LC_{50}, LT_{50}, canola

دریافت: ۱۳۸۶/۲/۷، پذیرش: ۱۳۸۷/۴/۱۱.

مقدمه

بید کلم با نام علمی *Plutella xylostella* L. بزرگترین تهدید چلیپائیان در سراسر جهان است که گاه موجب صدمه به ۹۰ درصد محصول می‌شود و هر ساله خسارتی بیش از یک بیلیون دلار آمریکا را تحمیل می‌کند (Verkerk & Wright, 1996). فقدان دشمنان طبیعی به ویژه پارازیتوئیدها در بسیاری از مناطق غیر بومی، قابلیت مهاجرت حشره به فواصل طولانی و نرخ بالای باروری آن از علل عمده‌ی طغیان این آفت در بسیاری از مناطق جهان است (Lim, 1992). به علاوه مصرف گسترده حشره‌کش‌های مصنوعی برای کشت‌های چلیپائیان منجر به رده‌های بالایی از مقاومت در جمعیت‌های این حشره گردیده است (Krishnakumar *et al*., 1986). به عنوان مثال در دهه‌ی ۱۹۸۰، پیرتروئیدها با مقاومت شدید این آفت روبه‌رو گردیدند. همچنین کاربرد acylurease و *Bacillus turingiensis* هم در اواخر دهه‌ی ۱۹۸۰ با شکست مواجه شد (Cartwright *et al*., 1987; Lqbal *et al*., 1996).

عوامل میکروبی از جمله ویروس‌ها همانند دشمنان طبیعی، این ظرفیت را دارند که خودشان را در محیط حفظ کنند. اما از این مهم‌تر، از دیدگاه مدیران کنترل آفات می‌توان آنها را به روشی مشابه آفت‌کش‌های شیمیایی مورد استفاده قرار داد (Hunter-Fujita *et al*., 1998). باکولوویروس‌ها به عنوان عوامل مؤثر در کنترل جمعیت حشرات شناخته شده‌اند و به میزان زیادی برای این رده‌ی جانوری اختصاصی عمل می‌کنند (Burges, 1981). آنها دامنه‌ی میزبانی محدودی در بین بی‌مهرگان دارند. تولید انبوه این ویروس‌ها، با وجود مشکلات فراوان، امکان‌پذیر بوده و تحت شرایط ویژه از پایداری بالایی برخوردارند. علاوه بر این، استفاده از آنها آلودگی محیط زیست را به دنبال ندارد (Tanada & Kaya, 1992).

Biever & Andrews (1984) قابلیت بیمارگری ویروس *Galleria mellonella* NPV (*Gm*NPV) روی بید کلم را بررسی کردند. سپس توانایی ویروس *Autographa californica* NPV (*Ac*MNPV) در کاهش جمعیت بید کلم مورد بررسی قرار گرفت (Kolodny-Hirsch & van Beek, 1997). Black *et al*. (1997) نشان دادند ویروس‌های *Ac*MNPV، *Af*MNPV، *Gm*MNPV و *Mb*NPV که پروانه‌های خانواده‌ی Noctuidae را بیمار می‌سازند، روی بید کلم هم بیمارگر هستند. در همین سال، توانایی ویروس *Af*MNPV در مهار جمعیت بید کلم بررسی شد (Farrar & Ridgway, 1997).

Farrar & Ridgway (1999) نشان دادند که *Gm*MNPV و *Ac*MNPV برای بید کلم بسیار کشنده هستند. در همین سال، قابلیت ویروس‌های *Ac*MNPV، *Af*MNPV و *Px*MNPV در کاهش جمعیت بید کلم مورد مطالعه قرار گرفت (Kariuki & McIntosh, 1999). در سال ۱۹۹۱ یک جدایه‌ای از *Px*NPV توسط Padmavathamma و Veeresh از هند گزارش شد و بعد در سال ۱۹۹۵ این دو محقق نشان دادند که این ویروس در کاهش جمعیت بید کلم بسیار مؤثر است (Padmavathamma & Veeresh, 1991, 1995). در سال ۱۹۹۹، *Px*MNPV از نمونه‌های لارو آلوده به granuloviruses که از چین جمع‌آوری شده بود کشف شد (Kariuki & McIntosh, 1999). McIntosh *et al.* (2004) ویروس نوترکیب *Px*MNPV-Aaıt را با جایگزینی ژن توکسین Aaıt به جای ژن egt در جدایه‌ی وحشی ویروس به دست آوردند. این ویروس از لحاظ بیمارگری به تیپ وحشی خود برتری نداشت اما LT_{50} آن تقریباً نصف جدایه‌ی وحشی بود.

با توجه به اهمیت اقتصادی بید کلم و لزوم کنترل آن، ویروس *Mb*NPV از خانواده‌ی Baculoviridae انتخاب شد تا قدرت بیمارگری آن روی بیدکلم مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

پرورش میزبان در آزمایشگاه

به منظور ایجاد کلنی اولیه، نمونه‌برداری از مزرعه‌ی پژوهشی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی در تیر ماه ۸۴ آغاز و مراحل مختلف زیستی بید کلم جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. پرورش لاروها روی گیاه کلزا صورت گرفت. جهت تغذیه‌ی حشرات کامل از شربت سوکروز ۱۰ درصد استفاده گردید. به منظور تخم‌ریزی ماده‌ها از فویل‌های آلومینیومی آغشته به اسانس کلزا استفاده شد (Talaei-Hassanloui, 2005). فویل‌های آلومینیومی پس از تخم‌ریزی ماده‌ها روی گلدان‌های کلزا قرار گرفت تا لاروها بلافاصله پس از تفریخ به گیاه میزبان دسترسی داشته باشند.

تهیه سوسپانسیون مادر ویروس

نمونه‌ی ویروسی مورد استفاده از پاساژ ماده‌ی تجاری Mamestrine روی پروانه‌ی برگ‌خوار چغندرقند، *Spodoptera exigua* (Hübner)، توسط دکتر شهاب منظری به دست آمده

بود، که از طریق دانشگاه ارومیه در اختیار این پژوهش قرار گرفت. سوسپانسیون غلیظی از ویروس *Mb*NPV تهیه و ۱۰۰ عدد لارو سن ۳ بید کلم از طریق تغذیه‌ی برگ‌های کلزای آغشته به ویروس آلوده شدند (Parnell, 1999). مراحل خالص‌سازی بر اساس روش Jones (2000) انجام گردید. غلظت سوسپانسیون مادر ویروس $۱/۲۰۵ \times ۱۰^{۸}$ OB/ml تعیین شد.

اثر بیمارگر روی لارو

برای تعیین میزان تأثیر دزهای مختلف ویروس روی لاروهای بید کلم و محاسبه‌ی LC_{50}، از لاروهای سن دوم استفاده شد (Abdul Kadir, 1992). آزمایش با ۷ تیمار شامل شش دز لگاریتمی از ویروس *Mb*NPV به مقادیر ۱/۲، ۳/۰۲، ۷/۵۸، ۹/۰۵، ٤٧/٨٦ و ۱۲۰/۵ پلی‌هدر بر میلی‌متر مربع سطح برگ به اضافه‌ی شاهد (آب مقطر) در سه تکرار انجام شد. هر تکرار شامل ۱۵ عدد لارو بود. آلوده‌سازی لاروها از طریق تغذیه از برگ‌های آلوده به ویروس صورت گرفت (Evans, 1981). به این منظور از دیسک‌های برگی به مساحت ۱۰ سانتی‌متر مربع استفاده شد. پس از تیمار سطح پشتی به وسیله‌ی دزهای مختلف ویروسی، قطعات برگی درون تشتک‌های پتری ۸ سانتی‌متری قرار گرفت و درِ آنها با میکروفیلم مسدود شد. ارزیابی مرگ و میر لاروها هر ٢٤ ساعت انجام شد و برای اطمینان بیشتر، از همولنف لاروهای مرده، لام‌هایی به طریقه‌ی فروتی (frottis) تهیه گردید و ذرات ویروسی در زیر میکروسکوپ مشاهده شد. آزمایش تا زمان تفریخ شفیره و خروج پروانه‌ها دنبال گردید. در صورتی‌که در طی این مدت برگ‌های داخل پتری مصرف و یا در اثر تبخیر آب خشک می‌گردید، تکه‌های کوچکی از برگ‌های غیر آلوده در اختیار لاروها قرار می‌گرفت. موارد عدم خروج پروانه‌ها از شفیره‌های تشکیل شده، جزو تلفات به حساب آمد.

آلودگی سطحی دستجات تخم با ویروس *Mb*NPV

به منظور بررسی تأثیر ویروس *Mb*NPV روی دستجات تخم و لاروهای حاصل از این دسته تخم‌ها، ١٤ دسته تخم که هر یک شامل ۱۵ عدد تخم بود، انتخاب و در دو گروه ۷ تایی قرار گرفت (۷ تکرار) (Manzari *et al.*, 2001). روی گروه اول که به عنوان شاهد به کار رفت، ۰/۱ میلی‌لیتر آب مقطر و روی گروه دوم ۰/۱ میلی‌لیتر سوسپانسیون ویروسی با غلظت ۱×۱۰^{۵}

پلی‌هدر بر میلی‌لیتر تلقیح شد. دستجات تخم تیمار شده پس از خشک شدن روی سطوح برگی غیر آلوده قرار گرفتند و تعداد تخم‌های تفریخ شده و تلفات روزانه‌ی لاروها یادداشت و میانگین درصدی آنها با هم مقایسه گردید.

حساسیت سنین مختلف لاروهای میزبان به ویروس *Mb*NPV

برای انجام آزمایش از لاروهای سنین ۲، ۳ و ٤ استفاده گردید. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با نمونه‌های مساوی، با سه تیمار (سن لارو) در شش تکرار و هر تکرار با شش عدد لارو انجام شد (Evans, 1981). سطوح برگی با دز ٤٧/٨٦ پلی‌هدر بر میلی‌متر مربع سطح برگ آلوده شد و پس از خشک شدن، لاروها به روی آنها منتقل گردید. نمونه‌گیری از مرگ و میر لاروها طبق روال قبل صورت گرفت.

تجزیه‌ی اطلاعات حاصل از آزمایش‌ها

نرمال بودن داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Minitab 11.12 مورد بررسی قرار گرفت. برای تعیین LC_{50} از نرم‌افزار POLO–PC استفاده شد. میزان LT_{50} با استفاده از تجزیه‌ی پروبیت نرم‌افزار SPSS 13 به دست آمد. مقایسه‌ی درصد تلفات لاروهای حاصل از دسته تخم‌های آلوده و غیر آلوده با آزمون t-test انجام گردید. در مورد تلفات روز سوم پس از تفریخ لاروهای بید کلم، به علت غیر نرمال بودن داده‌ها، از آزمون غیرپارامتری Man-Witney استفاده شد. میزان مرگ و میر ناشی از ویروس *Mb*NPV در سنین مختلف لاروی با آزمون دانکن مورد مقایسه قرار گرفت. آزمون‌های t-test و Man-Witney با نرم‌افزار SPSS 13 انجام شد. داده‌های حاصل از نرم‌افزار POLO–PC به وسیله‌ی نرم‌افزار Pre-Probit تبدیل شد و رسم خطوط و نمودارها با نرم‌افزار Excel صورت گرفت.

نتایج و بحث

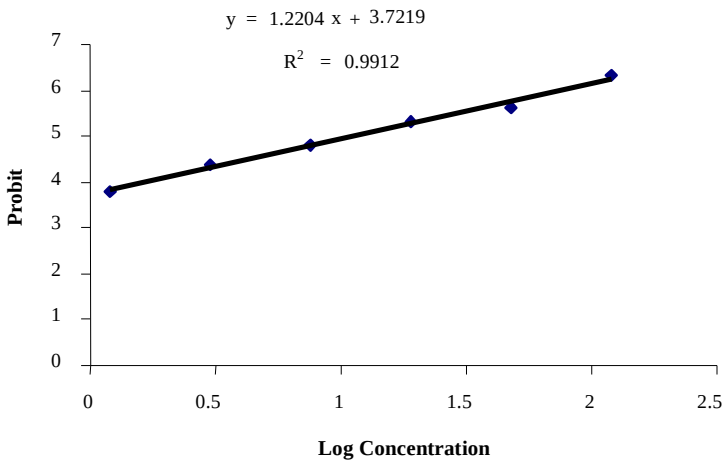
تأثیر دزهای مختلف *Mb*NPV روی لاروهای سن دوم میزبان

اطلاعات حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که روند نسبتاً یکنواختی در مرگ و میر لاروها با توجه به غلظت‌های لگاریتمی وجود دارد. شکل ۱ بهترین خط برازش‌کننده‌ی

نقاط تلاقی دز و مرگ و میر را نشان می دهد. میزان LC_{50}، ۱۱/۹۹ پلی‌هدر بر میلی‌متر مربع سطح برگ محاسبه گردید.

تعیین رابطه‌ی بین زمان و مرگ و میر ایجاد شده

در مورد دزهای ٤٧/٨٦ و ۱۹/۰۵ پلی‌هدر بر میلی‌متر مربع سطح برگ که منجر به مرگ و میر لاروهای سن دوم به میزان ۷۳/۳۳ و ٦٢/٢٢ گردید، محاسبه‌ی مدت زمان لازم برای ایجاد ۵۰ درصد مرگ و میر انجام گرفت. براساس تجزیه‌ی پروبیت مقادیر مربوط به LT_{50} به ترتیب برابر ٦/١١ و ٧/١٦ محاسبه گردید.



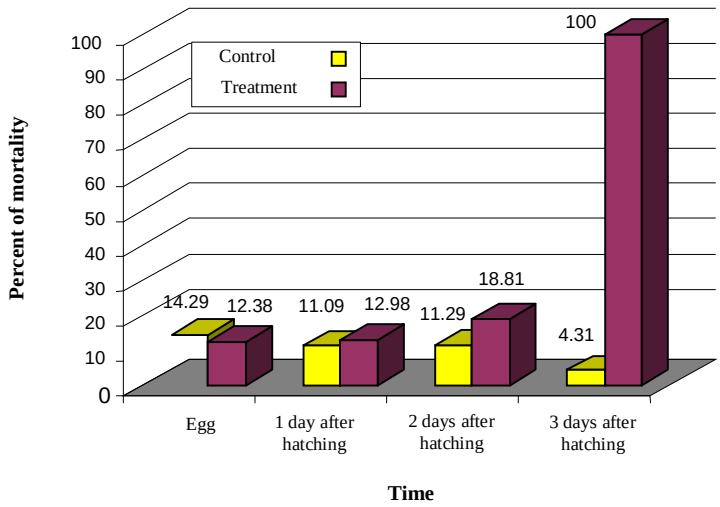
شکل ۱. مرگ و میر لاروهای سن دوم بید کلم تغذیه کرده از غلظت‌های مختلف *Mb*NPV.

Fig. 1. Mortality of second instar larvae of cabbage moth fed on different concentrations of *Mb*NPV.

آلودگی سطحی دستجات تخم با ویروس *Mb*NPV و اثر آن روی لاروها

آزمایش به روشی که اشاره شد، انجام و موارد عدم تفریخ تخم‌ها و تلفات روزانه‌ی لاروها در هر گروه تا سه روز پس از تفریخ یادداشت گردید. بین میانگین درصد تخم‌های تفریخ نشده (تلفات تخم) در دو تیمار شاهد و ویروس اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد

(df = ۱۲، P = ۰/۵۲، T = ۰/۶۷). همچنین میانگین مربوط به درصد تلفات یک و دو روز پس از تفریخ گروه‌های شاهد و تیمار، اختلاف معنی‌داری نشان نداد (آماره‌ها به ترتیب df = ۱۲، P = ۰/۶۴، T = −۰/۴۸؛ df = ۱۲، P = ۰/۲۲۴، T = −۱/۲۸۴)، درصورتی‌که در مورد میانگین درصد تلفات سومین روز پس از تفریخ اختلاف معنی‌دار بود (Man-Witney U = ۰، P = ۰/۰۱) (شکل ۲) و کلیه‌ی لاروهای گروه تیمار مرده بودند.



شکل ۲. میانگین درصد تلفات لاروهای بید کلم حاصل از دسته تخم‌های غیرآلوده (شاهد) و آلوده (با غلظت ۱×۱۰^{۵} پلی‌هدر بر سانتی‌متر مکعب).

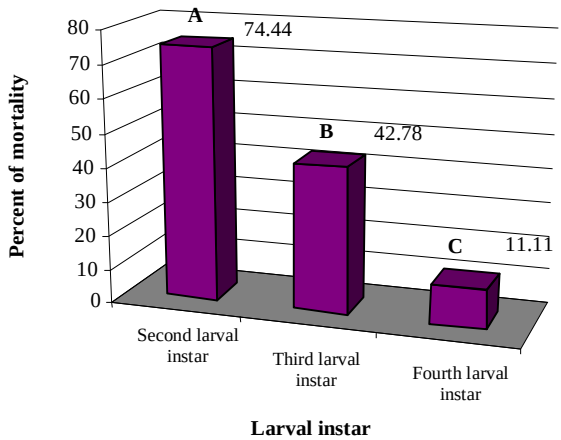
Fig. 2. Mean percentage mortality of the larvae of cabbage moth hatching from untreated (control) and treated eggs (concentration = 1×10^5 PIB/cm^3).

حساسیت سنین مختلف لاروی میزبان نسبت به ویروس *Mb*NPV

میانگین مرگ و میر سنین ۲، ۳ و ٤ به ترتیب برابر ۷٤/٤٤ و ٤۲/۷۷ و ۱۱/۱۱ به دست آمد. تجزیه‌ی واریانس داده‌های مربوط به مرگ و میر این سنین لاروی که از برگ‌های آلوده به دز ٤۷۸٦۳۰/۱ پلی‌هدر بر میلی‌لیتر تغذیه کرده بودند نشان می‌دهد که بین میانگین تلفات سنین مختلف لاروی در سطح آماری ۱٪ اختلاف معنی‌دار وجود دارد (df = ۲، F = ۳/۸۲). نتیجه‌ی

آزمون فوق حاکی از آن است که با افزایش سن لاروی حساسیت ویروسی به طور چشم‌گیری کاهش می‌یابد (شکل ۳).

نتایج به دست آمده حاکی از آن بود که ویروس *Mb*NPV دارای قدرت بیمارگری بالایی روی لاروهای بید کلم است و می‌تواند عامل مهمی در کنترل آفت مذکور تلقی گردد. Padmavathamma & Veeresh (1991) میزان LC_{50} جدایه‌ی هندی ویروس *P. xylostella* NPV (*Px*NPV) را برای لاروهای سن اول، دوم، سوم و چهارم بید کلم به ترتیب $۵/۴۹ \times ۱۰^{-۳}$، $۵/۴۳ \times ۱۰^{-۲}$، $۱/۸۵ \times ۱۰^{-۱}$ و $۳/۹۹ \times ۱۰^{۲}$ پلی‌هدر بر میلی‌متر مربع سطح برگ ذکر کردند. میزان LC_{50} محاسبه شده برای لارو سن دوم بید کلم از میزان LC_{50} به دست آمده در تحقیق حاضر (۱۱/۹ پلی‌هدر بر میلی‌متر مربع سطح برگ) کمتر است. با توجه به اختصاصی بودن ویروس *Px*NPV برای بید کلم نتیجه‌ی به دست آمده قابل توجیه می‌باشد. شایان ذکر است که Biever & Andrews (1984) میزان LC_{50} ویروس *Gm*MNPV را روی لارو سن سوم بید کلم $۱/۵ \times ۱۰^{٤}$ پلی‌هدر بر میلی‌متر مربع به دست آوردند.



شکل ۳. مرگ و میر سنین مختلف لاروی بید کلم تغذیه کرده از دز ٤٧٨٦٣٠/١ پلی‌هدر بر میلی‌لیتر *Mb*NPV.

Fig. 3. Mortality of different larval instars of cabbage moth fed on 478630.1 OB/mm^2 *Mb*NPV.

Farrar & Ridgway (1997) میزان LD_{50} ویروس *Autographa falcifera* MNPV (*Af*MNPV) را برای لارو سن دوم بید کلم $۱/٤٦ \times ۱۰^{٥}$ پلی‌هدر ثبت کردند. Kolodny-Hirsch & van Beek (1997) میزان LC_{50} تیپ وحشی و پاساژ شده‌ی ویروس *Ac*MNPV را برای لارو سن دوم بید کلم به ترتیب $۸٦/٤ \times ۱۰^{٤}$ و $٥/۹ \times ۱۰^{٤}$ پلی‌هدر بر میلی‌لیتر گزارش کردند. Kariuki & McIntosh (1999) مقادیر $۹/۲۲ \times ۱۰^{۳}$ و $۱/۱٦ \times ۱۰^{٤}$ پلی‌هدر بر سانتی‌متر مربع را به ترتیب به عنوان میزان LC_{50} ویروس‌های *Af*MNPV و *Ac*MNPV برای لارو سن اول بید کلم به دست آوردند. Abdul Kadir *et al*. (1999) میزان این فاکتور را برای ویروس‌های *Gm*MNPV و *Ac*MNPV روی لارو سن اول بید کلم به ترتیب $۳/۷–۱۲ \times ۱۰^{٦}$ و $۲/٦–۳/۷ \times ۱۰^{۷}$ پلی‌هدر بر میلی‌لیتر تعیین کردند. Doyle *et al*. (1990) میزان LC_{50} ویروس *Mb*NPV را برای لارو سن دوم بید کلم، ۲۷ پلی‌هدر بر میلی‌متر مربع ذکر کرده و در جدول طبقه‌بندی، شب‌پره‌ی مذکور را جزء حشرات حساس به این ویروس قرار داده‌اند. تفاوت‌های مشاهده شده بین نتایج تحقیقات فوق و تحقیق حاضر می‌تواند به علت تفاوت در عکس‌العمل گونه، تفاوت قدرت بیمارگری ویروس و یا هر دو، نوع ویروس مورد آزمایش، سنین لاروی و روش به کار رفته باشد. از آنجا که قبل از انجام آزمایش‌های مربوط به LC_{50}، دو پاساژ با ماده‌ی تجاری مذکور روی لاروهای حشره‌ی مورد نظر صورت گرفت، افزایش ویرولانس بیمارگر به احتمال زیاد به دلیل این امر بوده است. طبق تحقیقات Cherry *et al*. (2004)، پس از اینکه تیپ وحشی *Ac*MNPV برای ۲۰ بار روی لاروهای سن سوم بید کلم پاساژ شد، ویرولانس ویروس مذکور به میزان ۱۵ برابر افزایش یافت.

اطلاعات به دست آمده از آلودگی سطحی دستجات تخم نشان می‌دهد که ویروس *Mb*NPV پایداری مطلوبی جهت کنترل لاروهای تازه تفریخ شده دارد و لاروها پس از تفریخ با تغذیه از پوسته‌ی تخم، مایه‌ی ویروسی را کسب می‌کنند؛ به طوری که لاروهای حاصل از تفریخ تخم‌های تیمارشده پس از گذشت ۳ روز، ۱۰۰ درصد مرگ و میر نشان دادند. نتایج آزمایش اثر ویروس روی سنین مختلف لاروی، نشان‌دهنده‌ی کاهش حساسیت با بالا رفتن سن لاروی است، به طوری که میانگین درصد تلفات لارو سن دوم تقریباً ۷ برابر سن چهارم بود. با توجه به آسیب‌پذیری بیشتر لاروها در سنین پایین‌تر این نتیجه قابل توجیه است.

بر اساس اطلاعات آزمایشگاهی به دست آمده در این تحقیق، ویروس *Mb*NPV می‌تواند به عنوان بیمارگری کارآمد در برنامه‌های کنترل بید کلم مد نظر باشد. لذا انجام آزمایش‌های تکمیلی و تعمیم نتایج آزمایشگاهی در سطح مزرعه ضروری به نظر می‌رسد. همچنین پیشنهاد می‌گردد، مطالعاتی درمورد انتقال ویروس به نسل بعدی حشره و نیز امکان کاربرد عوامل سینرژیست درجهت تقویت ویرولانس عامل بیمارگر مذکور صورت گیرد.

منابع

Abdul Kadir, H. B. (1992) Potential of several baculoviruses for the control of diamondback moth. pp. 185-192 in Talekar, N. S. (Ed.) *Proceedings of the Second International Workshop on Diamondback Moth and other Crucifer Pests, Tainan, Taiwan*. AVRDC publications.

Abdul Kadir, H. B., Payne C. C., Crook N. E., Fenlon J. & Winstanley, D. (1999) The comparative susceptibility of the diamondback moth *Plutella xylostella* and some other major lepidopteran pests of brassica crops to a range of baculoviruses. *Biocontrol Science and Technology* 9, 421-433.

Biever, K. D. and Andrews, P. L. (1984) Susceptibility of lepidopterous larvae to *Plutella xylostella* nuclear polyhedrosis virus. *Journal of Invertebrate Pathology* 44, 117-119.

Black, B. C., Brennan, L. A., Dierks, P. M. & Gard, I. E. (1997) Commercialization of baculoviral insecticides. *Journal of Maharashtra Agricultural Universities* 26, 115-116.

Burges, H. D. (1981) *Microbial control of pests and plant diseases*. 872 pp. Academic Press, London.

Cartwright, B., Edelson, J. V. & Chambers, C. (1987) Composite action thresholds for the control of lepidopterous pests on fresh-market cabbage in the lower Rio Grande Valley of Texas. *Journal of Economical Entomology* 80, 175-181.

Cherry, A. J., Mercadier, G., Meikle, W., Castelo-Branco, M. & Schroer, S. (2004) The role of entomopathogens in DBM biological control. pp. 51-70 in Krik, A. A. & Bordat, D. (Eds) *Proceedings of the International Symposium on Improving Biocontrol of Plutella xylostella, Montpellier, France*. CIRAD Publications.

Doyle, C. J., Hirst, M. L., Cory, J. S. & Entwistle, P. F. (1990) Risk assessment studies: detailed host range testing of wild type cabbage moth, *Mamestra brassicae* (Lep:

Noctuidae) nuclear polyhedrosis virus. *Applied Environmental Microbiology* 56(9), 2704-2710.

Evans, H. F. (1981) Quantitative assessment of the relationships between dosage and response of the nuclear polyhedrosis virus of *Mamestra brassicae. Journal of Invertebrate Pathology* 37, 101-109.

Farrar, R. R. & Ridgway, R. L. (1997) The celery looper (Lepidoptera: Noctuidae) baculovirus: potency and enhancement by Blankophor BBH against 3 lepidopteran species. *Environmental Entomology* 26, 1461-1469.

Farrar, R. R. & Ridgway, R. L. (1999) Relative potency of selected nuclear polyhedrosis viruses against five species of Lepidoptera. *Journal of Agricultural and Urban Entomology* 16, 187-196

Hunter-Fujita, F. R., Entwistle, P. F., Evans, H. F. & Crook, N. E. (1998) *Insect viruses and pests management*. 620 pp. Wiley and Sons Publications.

Jones, K. A. (2000) Bioassays of entomopathogenic viruses. pp. 95-140 in Navon, A. & Ascher, K. R. S. (Eds) *Bioassays of entomopathogenic microbes and nematodes*. 336 pp. University of Greenwich, Greenwich.

Kariuki, C. W. & McIntosh, A. H. (1999) Infectivity studies of a new baculovirus isolate for the control of the diamondback moth (Plutellidae: Lepidoptera). *Journal of Economic Entomology* 92(5), 1093-1098.

Kolodny-Hirsch, D. M. & van Beek, N. A. M. (1997) Selection of a morphological variant of *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus with increased virulence following serial passage in *Plutella xylostella. Journal of Invertebrate Pathology* 69, 205-211.

Krishnakumar, N. K., Srinivasan, K., Suman, C. L. & Ramachander, P. R. (1986) Optimum control strategy of cabbage pests from a chemical trial. *Progressive Horticulture* 18, 104-110.

Lim, G. S. (1992) Integrated pest management of DBM: practical realities. pp. 565-576 in Talekar, N. S. (Ed.) *Proceedings of the Second International Workshop on Diamondback Moth and other Crucifer Pests, Tainan, Taiwan*. AVRDC publications.

Lqbal, M., Verkerk, R. H. J., Furlong, M. J, Ony, P. C., Rehman, S. A. & Wright, D. J. (1996) Evidence for resistance to *Bacillus thuringiensis* (Bt) *kurstaki* HD-1, Bt subsp. *aizawai* and abamectin in field population of *Plutella xylostella* in Malaysia. *Pest Science* 48, 89-97.

Manzari, S., Safar-Alizadeh, M. H., Kharazi-Pakdel, A. & Pourmirza, A. A. (2001) Histopathology and study of the *Mb*NPV effect on different larval instars of beet armyworm, *Spodoptera exigua* Hb. (Lep., Noctuidae). *Applied Entomology and Phytopathology* 68(1 & 2), 85-97. [In Persian with English summary].

McIntosh, A. H., Grasela, J. J., Kariuki, C. W., Goodman, C. L., Brennan, L. A. & Dierks, P. M. (2004) Evaluation of a recombinant diamondback moth Baculovirus in selected lepidopteran cell lines and larvae. in Kirk, A. A. & Bordat, D. (Eds) *Proceedings of the International Symposium on Improving Biocontrol of Plutella xylostella*, *Montpellier*, *France.* CIRAD Publications.

Parnell, M. A. (1999) The genetic variability and efficacy of baculoviruses for control of diamondback moth on brassica vegetables in Kenya. M.Sc. Thesis. University of Greenwich, Greenwich, 72 pp.

Padmavathamma, K. & Veeresh, G. K. (1991) Effect of larval age and dosage of nuclear polyhedrosis virus on the susceptibility of diamondback moth, *Plutella xylostella. Entomologia Experimentalis et Applicata* 60, 39-42.

Padmavathamma, K. & Veeresh, G. K. (1995) Effect of sunlight protectants and time of application on the virulence of nuclear polyhedrosis virus of *Plutella xylostella* (Linnaeus). *Current Research* 24, 92-94.

Talaei-Hassanloui, R. (2005) Genetic diversity of some *Beauveria bassiana* isolates and their virulence against diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) and Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say). Ph.D. Thesis. Faculty of Agriculture, University of Tehran, 134pp. [In Persian with English summary].

Tanada, Y. & Kaya, H. K. (1992) *Insect Pathology.* 666 pp. Academic Press, California.

Verkerk, R. H. J. & Wright, D. J. (1996) Multi tropic interactions and management of the diamondback moth: a review. *Bulletin of Entomological Research* 86, 205-216.