

نامه انجمن حشره‌شناسان ایران
جلد هشتم (شماره ۱ و ۲) - اسفند ماه ۱۳۶۴

سطح حساسیت لارو *Anopheles stephensi* به
Bacillus thuringiensis (serotype H- 14)

نگارش:

دکتر مرتضی زعیم* - حسین لدونی** - دکتر منصور معتبر*

چکیده

مطالعه‌ای بمنظور تعیین سطح حساسیت لارو *Anopheles stephensi* به
Bacillus thuringiensis سروتیپ اچ - ۱۴، تعیین LC_{50} ، مقایسه سطح
حساسیت سنین مختلف لارو و بالاخره اثر دوام لاروکش نامبرده با استفاده از دو تولید
تجارتی مختلف بنامهای Teknar (سامدوز، ۶۰۰ واحد بین‌المللی در هر میلی‌گرم)
و Bactimos (بیوکم پروداکتس، ۶۰۰۰ واحد بین‌المللی در هر میلی‌گرم) در تابستان
سال ۱۳۶۱ در کارزون، فارس، بعمل آمد. زمان‌رها سازی لاروها در محیط‌های آلوده به لاروکش

* - واحد حشره‌شناسی پزشکی، گروه بهداشت محیط، دانشکده بهداشت و انستیتو
تحقیقات بهداشتی، دانشگاه تهران.

** - ایستگاه تحقیقات پزشکی کارزون، دانشکده بهداشت، دانشگاه تهران.

- این مقاله در تاریخ ۱۳۶۳/۹/۷ به دفترنامه انجمن رسید است.

(زمانهای صفر ، ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از تهویه محلول) اثر معنی داری روی مرگ و میر لاروها نداشتهاست ، لیکن ، در تمام موارد ، لاروهای گروه سنی ۲ - ۱ از ۳ - ۴ به دو فرآوده نامبرده حساستر بوده اند . LC50 برای گروههای سنی ۲-۱ و ۳-۴ در مورد محصول Teknar ، بترتیب $10^{-4} \times 0/26$ و $10^{-3} \times 0/26$ سی سی در لیتر و برای Bactimos بترتیب $10^{-3} \times 1$ و $10^{-3} \times 31$ میلیگرم در لیتر مشاهده شده است . اثر متقابل غلظت سم و سن لارو در مرگ و میر در هر دو مورد کاملاً " معنی دار بوده است .

مقدمه:

مسئله مبارزه با بیماری مالاریا که هنوز مشکل درجه یک بهداشتی اکثر ممالک دنیا از جمله کشور ما را تشکیل می دهد در سالهای اخیر با مشکلات بسیار زیادی روبرو بوده است . از جمله این مسائل بروز مقاومت آنوفلهای ناقل بیماری به سموم حشره کش ، افزایش روز افزون قیمت سموم و خطرات ناشی از استعمال سموم حشره کش در محیط زیست می باشد که دست یابی به روشهای دیگر مبارزه را الزامی می نماید . یکی از طرق مهم مبارزه که امروزه بعنوان جایگزین روشهای مبارزه شیمیایی و با عاملی در مبارزه تلفیقی علیه پشه های ناقل بیماری به آن نگریده می شود ، روش کنترل بیولوژیک است . در این میان ، باکتری اسپرادر ، *Bacillus thuringiensis* (سروتپاچ - ۱۴) که در مراحل اولیه تحقیقات آزمایشگاهی و صحرایی توانسته است بطرز موثری در کاهش جمعیت پشه های ناقل بیماری موثر افتد بعنوان نامزد درجه یک مبارزه بیولوژیک علیه پشه ها بوسیله سازمان بهداشت جهانی معرفی شده است (WHO 1979) . این باکتری در هنگام تولید اسپر کریستال سمی بنام دلتا اندوتوکسین تولید می کند که خوردن آن تولید مسمومیت در لارو پشه نموده و در مدتی کوتاه باعث مرگ آن می گردد . این سم برخلاف خیلی از ترکیبات حشره کش موجود کاملاً " اختصاصی بوده و فقط برای لارو پشه ها و *Simuliidae* ها کشنده است . (Sinegre et al. 1979; Miura et al. 1980; Garcia et al. 1980; Burges 1981) پشه هایی که به سموم حشره کش متعددی مقاومت نشان داده اند در مقابل استعمال این سم (دلتا اندوتوکسین) مقاومت متقابل از خود بروز نداده (Chin-Nig Sun et al. 1980) و تحت فشار این لارو کش (تا حدود ۲۵ نسل) مقاومتی در آنها ظاهر نشده است . (Rishekesht et al. 1983) . بی خطر بودن این باکتری برای انسان و حیوانات که تحت مطالعات بسیار متعددی مشخص شده و مورد تأیید سازمان بهداشت جهانی است

اهمیت این عامل کنترل بیولوژیک را چندبرابر می‌کند (Burges 1981; Shaduck 1980; WHO 1981) مقامات بین‌المللی امید دارند که با تولید *B. thuringiensis* بکمک مواد خام ارزان قیمت محلی در هر کشور آنرا بعنوان ارزانتترین لاروکش پشه‌ها در دنیا معرفی نمایند. در این مقاله ارزشیابی سطح حساسیت *An. stephensi* ناقل درجه یک مالاریای جنوب‌ایران (Manouchehri et al. 1976) به دو قرآورده تجارتي *B. thuringiensis* گزارش می‌گردد.

روش بررسی :

بمنظور تعیین سطح حساسیت *An. stephensi* به *B. thuringiensis* و تعیین LC_{50} ، همچنین جهت مقایسه سطح حساسیت سنین مختلف لارو و مطالعه اثر ابقایی سم نامبرده مطالعاتی در انسکناریوم ایستگاه تحقیقات پزشکی کازرون با استفاده از *An. stephensi* سوش کازرون در تابستان سال ۱۳۶۱ بعمل آمد. در این بررسی محصول تجارتي دو کارخانه تولید سم مزبور مورد استفاده واقع شد:

- ۱ - Teknar (سندوز، ۶۰۰ واحد بین‌المللی در هر میلی‌گرم).
- ۲ - Bactimos (بیوکم پروداکتس، ۶۰۰۰ واحد بین‌المللی در هر میلی‌گرم).

آزمایش مزبور که بر اساس طرح فاکتوریل بنا شده بود شامل ۱۶۸ لیوان پلاستیکی شد که در گروه‌های دوتایی در کنار یکدیگر قرار می‌گرفتند. ۹۶ ظرف مربوط به آزمایش سم Teknar و ۷۲ ظرف باقی‌مانده مربوط به Bactimos بوده است. در آزمایش با Teknar ۸ غلظت صفر (شاهد)، 1.5×10^{-5} ، 3×10^{-4} ، 6×10^{-4} ، 1.2×10^{-4} ، 2.5×10^{-4} ، 5×10^{-3} و 1×10^{-2} سی‌سی در لیتر و در مورد آزمایش با Bactimos ۶ غلظت صفر (شاهد)، ۵/۵، ۵/۱۲۵، ۵/۳۱، ۵/۵۰۸، ۲ و ۵ میلی‌گرم در لیتر بکار گرفته شد. در هر دو آزمایش زمان رهاسازی لارو در محیط آلوده به لاروکش (صفر، ۴۸، ۹۶ ساعت پس از تهیه محلول) برای تعیین اثر دوام سم و دو گروه مختلف سنی لارو (سنین ۱-۲ و ۳-۴) برای تعیین گروه سنی حساستر، در نظر گرفته شد. دوتکرار برای هر آزمایش منظور گردید. در هر لیوان ۱۵۰ میلی‌لیتر آب و ۲۰ عدد لاروسن ۱-۲ و یا سن ۳-۴ اضافه گردیدند. تعداد لاروهای مرده و یا بیمار پس از ۲۴ ساعت تماس شمارش و درصد مرگ و میر مربوطه ثبت گردیدند. درجه حرارت محیط آزمایش 29 ± 1 درجه سانتیگراد بوده است.

نتایج و بحث :

نتایج بررسی سطح حساسیت *An. stephensi* به *B. thuringiensis* با استفاده دو فرآورده مختلف سم مزبور: Teknar و Bactimos، مقایسه سطح حساسیت سنین ۱-۲ و ۳-۴ لارو و تعیین سطح حساسیت لارو در رابطه با زمان رهاسازی در محیط آلوده به لاروکش (تعیین اثربخایی) در حداقل ۱ و ۲ خلاصه شده است. در این بررسی که بخاطر دقت عمل بیشتر بصورت طرح فاکتوریل بنا شد نه تنها اثر عوامل غلظت سم، سن لارو و زمان رهاسازی مورد آزمایش قرار گرفت بلکه اثر متقابل هر ۲ عامل و یا مجموعه آنها در مرگومیر لاروهای *An. stephensi* مورد بررسی قرار گرفته است.

در استعمال Teknar که بصورت سوسپانسیون و با سمیت ۶۰۰ واحد بین المللی در هر میلیگرم از ظرف شرکت تولید کننده عرضه شده بود مرگومیر بسیار سریعی در عرض چند ساعت پس از استعمال لاروکش ملاحظه گردید. با استعمال غلظتهای بین 10^{-5} تا 10^{-2} سی سی در لیتر محصول نامبرده، متوسط درصد مرگومیر لاروها، با احتساب سنین مختلف لارو پشه و زمانهای متعدد رهاسازی، بین ۶۱/۲۵ و ۹۹/۵۸ درصد مشاهده گردید. اثر سن لارو در مرگومیر کاملاً معنی دار بوده (۹۹/۹۹٪) و با احتساب تمام غلظتها و زمانهای رهاسازی لارو بطور متوسط ۷۹/۶۹٪ مرگومیر در سن ۱-۲ در مقابل ۶۳/۹۶٪ در سن ۳-۴ دیده شده است. زمان رهاسازی لاروها در محیطهای آلوده به لاروکش، که در این بررسی زمانهای صفر، ۴۸ و ۹۶ انتخاب شده بودند، اثر معنی داری نداشته است. LC_{50} برای سنین ۱-۲ و ۳-۴ به ترتیب 0.26×10^{-4} و 0.26×10^{-3} سی سی در لیتر مشخص شده است.

در رابطه با استعمال فرآورده Bactimos نیز مرگومیر سریعی در عرض چند ساعت اول استعمال لاروکش دیده شد و حداکثر مرگومیر در ظرف ۲۴ ساعت حاصل شده بود. متوسط درصد مرگومیر لاروها در بین غلظتهای ۰/۰۰۸ و ۲ mg/l. با احتساب سنین مختلف لارو و زمانهای متعدد رهاسازی از ۲۵ الی ۹۵/۴۲ منفی بوده است. سن ۱-۲ با متوسط ۶۶/۸۱٪ مرگومیر (با احتساب غلظتها و زمانهای مختلف رهاسازی) در مقابل ۵۶/۹۴٪ برای سن ۳-۴ بطرز قابل ملاحظه ای (۹۹/۹۹٪) به لاروکش حساس تر بوده است. مجدداً "زمان رهاسازی تأثیر معنی داری در میزان مرگومیر لاروها نداشته است". LC_{50} برای فرآورده Bactimos در شرایط ذکر شده قبلی ۰/۰۰۱ برای سنین ۱-۲ و ۰/۰۳۱ میلیگرم در لیتر برای سنین ۳-۴ تعیین گردیده است. در هر دو بررسی اثر متقابل غلظت سم

و سن لارو در میزان مرگ و میر *An. stephensi* مثبت بوده است.

یکی از نکات جالب توجه این بررسی کارآیی بیشتر لاروکش Teknar بوده است که با مشاهده به LC50 های بدست آمده برای سنین مختلف لارو در بالا، توجه می گردد. احتمالاً این کارآیی در رابطه با فرمولاسیون سم است. Teknar برخلاف Bactimos که بصورت پودر و قابل استفاده گردید سوسپانسیون بوده و در آب بهتر پخش شده و تمایلات ته نشینی کمتری دارد. در نتیجه شانس حورده شدن و مرگ و میر پشه های آنوئل افزایش یافته است. مقایسه فرمولاسیونهای مختلف Teknar در آینده می تواند این مسئله را بهتر توجیه نماید.

جدول شماره ۱ - درصد مرگ و میر لاروهای سنبل ۲-۱ و ۲-۲ از *An. Stephensii* پس از ساعت تماس با لاروکن Teknar

زمان رهاسازی (بسیارتهیه‌شده)	سن لارو	فصلت										جمع
		CC/lit					فصلت					
		۱۵ × ۱۰ ^{-۵} - Δ	۲ × ۱۰ ^{-۴} - Δ	۶ × ۱۰ ^{-۴} - Δ	۱۲ × ۱۰ ^{-۴} - Δ	۲۵ × ۱۰ ^{-۴} - Δ	۵ × ۱۰ ^{-۳} - Δ	۱ × ۱۰ ^{-۲} - Δ	۱ × ۱۰ ^{-۲} - Δ	۱ × ۱۰ ^{-۲} - Δ	جمع	
صفر	۱	۵	۸۵	۹۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۹۵۵	
	۲	۰	۸۰	۱۰۰	۱۰۰	۹۵	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۹۴۵	
ساعت	۱	۵	۳۵	۲۵	۶۵	۸۰	۱۰۰	۹۵	۱۰۰	۹۵	۴۴۰	
	۲	۰	۳۰	۴۵	۵۵	۱۰۰	۱۰۰	۹۰	۱۰۰	۱۰۰	۴۲۵	
۴۸ ساعت	۱	۵	۸۰	۷۵	۸۵	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۹۲۰	
	۲	۵	۷۵	۷۵	۹۰	۱۰۰	۱۰۰	۹۰	۱۰۰	۱۰۰	۹۲۵	
۹۶ ساعت	۱	۰	۲۵	۷۰	۹۰	۹۰	۹۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۴۹۵	
	۲	۰	۳۰	۸۰	۸۵	۹۵	۹۵	۹۵	۱۰۰	۱۰۰	۵۲۰	
۹۶ ساعت	۱	۰	۹۰	۸۵	۸۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۹۲۰	
	۲	۰	۸۵	۸۵	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۹۵	۱۰۰	۱۰۰	۹۵۰	
جمع	۱	۰	۹۵	۸۰	۸۵	۸۵	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۹۲۵	
	۲	۰	۸۵	۷۰	۸۵	۷۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۵۷۵	
معدل	۲۰	۷۴۵	۷۴۰	۹۰۰	۱۰۲۰	۱۱۱۵	۱۱۷۰	۱۱۹۵	۱۱۹۵	۱۱۹۵	۶۸۹۵	
معدل	۱/۶۷	۶۱/۲۵	۶۱/۶۷	۷۵	۸۵	۹۲/۹۲	۹۷/۵	۹۹/۵	۹۹/۵	۹۹/۵	۹۹/۵	

* - معدل مرگ و میر لاروها در زمانهای رهاسازی صفر، ۴۸ و ۹۶ ساعت به ترتیب ۶۷/۳۴، ۶۷/۶۳ و ۷۰/۵۷ بوده است.

** - معدل درصد مرگ و میر سنبل ۲-۱ و ۲-۲ لاروها به ترتیب ۶۹/۷۹ و ۹۶/۶۲ بوده است.

Bactimos پس از ۲۴ ساعت تماس بالاروکش *An. Stephensii* ۲-۱ و ۲-۲ درصد مرگ و میر لاروهای سنبلین ۲ - در صد مرگ و میر لاروهای سنبلین ۲ - جدول شماره ۲

زمان رها سازی (پس از تهیه محلول)	سن لارو	غلظت mg/lit					جمع
		صفر	۰/۰۰۸	۰/۰۲۱	۰/۱۲۵	۰/۵	
صفر ساعت	۱	۰	۵۵	۸۵	۸۰	۹۰	۲۱۰
	۲	۵	۶۰	۷۷	۸۰	۸۵	۲۹۰
	۴	۰	۵	۲۵	۸۰	۹۰	۲۰۰
	۴	۰	۲۰	۲۰	۹۵	۱۰۰	۲۴۵
۴۸ ساعت	۱	۵	۵۵	۷۵	۹۰	۸۰	۲۹۰
	۲	۰	۵۰	۹۵	۹۰	۹۵	۲۲۰
	۴	۰	۵	۸۰	۸۰	۱۰۰	۲۴۵
	۴	۰	۵	۶۰	۸۵	۹۵	۲۴۵
۹۶ ساعت	۱	۰	۷۰	۷۵	۸۰	۸۰	۲۰۵
	۲	۰	۶۵	۸۰	۹۰	۶۵	۲۸۵
	۴	۰	۲۰	۲۵	۹۰	۹۵	۲۲۰
	۴	۰	۱۰	۵۵	۹۰	۱۰۰	۲۵۵
جمع	۱۰	۲۲۰	۷۷۵	۱۰۲۰	۱۰۷۵	۲۲۵۵	
معدل	۰/۸۲	۲۵	۶۴/۵۸	۸۵/۸۲	۸۹/۵۸	۹۵/۲۲	

* - معدل درصد مرگ و میر لاروهای نوزادانه‌های رها سازی صفر، ۲۸، ۹۶ ساعت بترتیب ۶۱/۸۸ و ۶۲/۵۴ و ۶۰/۲۱ بترتیب ۶۱/۸۸ و ۶۲/۵۴ و ۶۰/۲۱ بوده است.
 ** - معدل درصد مرگ و میر لاروهای نوزادانه‌های رها سازی ۲ و ۱ - ۲ و ۱ بترتیب ۶۶/۸۱ و ۵۶/۶۴ بوده است.

Journal of Entomological Society of Iran
March 1986, Vol. 8(1,2)

SUSCEPTIBILITY OF *Anopheles stephensi* LISTON
TO *Bacillus thuringiensis* (H- 14)

By:

Zaim, M*, H. Ladoni*, M. Motabar*

Two commercial products of *Bacillus thuringiensis* Serotype H-14; Teknar (Sandoz-402-1, suspension, 600 ITU/mg) and Bactimos (Biochem Products, wettable powder, 6000 ITU/mg) were used against *Anopheles stephensi* in the laboratory for larvicidal potency. Impact of the different concentrations, residual effect of the larvicide and larval age as well as their interactions on larval mortality were investigated through a factorial experiment. Mortality rates were recorded after 24 hrs of exposure.

No significant effect on the mortality of *An. stephensi* larvae has been observed when the larvae were released in different concentrations of *Bacillus thuringiensis*, prepared in 0, 48 and 96 hrs before the test. Also, larval instars 1-2 were much more susceptible than larval instars 3-4. Lc50 for Teknar has been $.26 \times 10^{-4}$ and $.26 \times 10^{-3}$ cc/Lit for larval instars 1-2 and 3-4, respectively. Bactimos gave Lc50 values of .001 and .031 mg/Lit for larval instars 1-2 and 3-4, respectively. In both experiments, the

* Department of Medical Entomology, School of Public Health, Teheran University, Iran.

interaction of the larvicide concentration and larval age on mosquito mortality has been highly significant.

REFERENCES

- BURGES, H.D., 1981- Control of insects by bacteria, *Parasitol.*, 84: 79-117.
- CHIN-NING SUN, G.P.GEORGHIOU & K.L.WEISS, 1980-Toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* to mosquito larvae variously resistant to conventional insecticides. *Mosquito News*, 40: 614-618.
- GARCIA, R., B. Des ROCHERS & W.TOZER, 1980-Studies on the toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* against organisms found in association with mosquito larvae. *Proc. Pap. Calif. Mosq. Vect. Contr. Assoc.*, 48: 33-36.
- MANOUCHEHRI, A.V., E. JAVADIAN, N. ESHGHI & M. MOTABAR, 1976-Ecology of *Anopheles stephensi* Liston in southern Iran. *Trop. Geog. Med.*, 28: 228-232.
- MIURA, T., R.M. TAKAHASHI & F.S. MULLIGAN, 1980-Effects of the bacterial mosquito larvicide *Bacillus thuringiensis* serotype H-14 on selected aquatic organisms, *Mosquito News*, 40: 619-622.
- RISHEKESH, N., H.D. BURGES & M. VANDEKAR, 1983-Operational use of *Bacillus thuringiensis* serotype H-14 and environmental safety. *WHO/VBC/83.871*.
- SHADDUCK, J.A. 1980-*Bacillus thuringiensis* serotype H-14 maximum challenge and eye irritation safety tests in mammals, unpublished document *WHO/VBC/80.763*.

SINEGRE, G., B. GAVEN & J.L. JULLIEN, 1979- Securite d'emploi du serotype H-14 de *Bacillus thuringiensis* pour la faune non-cible des gites à moustiques du littoral méditerranéen français, unpublished document. *WHO/VBC/79. 742.*

WORD HEALTH ORGANIZATION, 1979- Data sheet on biological control agent *Bacillus thuringiensis* serotype H-14 (de Barjak 1978), unpublished document *WHO/VBC/ 79.750.*

WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1981-Mammalian safety of microbial agents for vector control: A WHO memorandum. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 59: 857-863.