

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

اثر *Bacillus thuringiensis* H-14 بر روی
لارو آنوفل‌ها در محیط‌های زیست‌طبیعی در جنوب ایران
(کازرون ، فارس)

نگارش:

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

چکیده:

در تابستان ۱۳۶۱ در قراء اسلام‌آباد و جدس از دهستان شاپور شهرستان کازرون
مطالعاتی بمنظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف *Bacillus thuringiensis*
بر روی لارو آنوفل‌ها ، در مقیاسی کوچک ، در دو مرحله انجام پذیرفت .
در مرحله اول غلظت‌های ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر *Bactimox* (با یوکم پروداکتس ،
۶۰۰۰ واحد بین‌المللی در هر میلی‌گرم) بر روی سنبل ۱ - ۲ و ۳ - ۴
Anopheles dthali در ظروف استوانه‌ای مشبک که در محیط زیست لاروی قرار داده

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

** - واحد حشره‌شناسی پزشکی ، گروه بهداشت محیط ، دانشکده بهداشت ، دانشگاه تهران .

- این مقاله در تاریخ ۱۳۶۳/۹/۷ به دفتر نامه انجمن رسیده است .

شده بود مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مطالعات نشان دادند که مقادیر ۲ و ۴ میلیگرم در لیتر این فرآورده بترتیب باعث مرگ و میر ۹۵/۵ و ۹۶ درصد لاروهای سنین ۲ - ۱ و ۹۳/۶ و ۹۴ درصد لاروهای سنین ۴ - ۳ می‌گردند.

در مرحله دوم غلظتهای ۲ و ۴ میلیگرم در لیتر Bactimos، در محیط‌های زیست طبیعی بموقع اجرا گذاشته شد. هدف از این مطالعات تعیین اثر دوام و میزان مرگ و میر لارو آنوفلها (از جمله *Anopheles superpictus* و *An. dthali*) تحت تأثیر غلظتهای بکار برده بوده است. میزان مرگ و میر لاروها (با احتساب تمام سنین) تحت تأثیر غلظتهای بکار برده شده بترتیب ۹۲ و ۹۵ درصد در عرض ۴۸ ساعت تماس بوده است. در رابطه با اثر دوام لاروکش، حداکثر مرگ و میر لاروها غالباً در ۲۴ ساعت اولیه پس از تماس و در مواردی پس از ۴۸ ساعت بوده است. همچنین اثر دوام لاروکش در غلظت بالاتر بیشتر بوده بطوریکه در لانه لاروی که با ۴ میلیگرم در لیتر سمپاشی شده بود و فورسین ۴ - ۳ بعد از گذشت ۸ روز تقریباً $\frac{1}{10}$ قبل از سمپاشی بوده است. در حالی که در لانه لاروی شاهد و فور در عرض این مدت نزدیک به دو برابر شده است.

مقدمه:

ناکمون تعداد زیادی موحودات انگل و شکارچی با قدرت مؤثر در جهت کنترل بیولوژیک آفات و یا حشرات ناقل بیماری تشخیص داده شده است. لیکن فقط تعداد بسیار محدودی از آنها در سطح گسترده در برنامه‌های کنترل بیولوژیک استفاده شده‌اند. یکی از دلایل کمی پیشرفت در این زمینه وجود حشره‌کش‌هایی با تأثیر مؤثر در جهت کنترل حشرات ناقل بیماری بوده است. حال آنکه با ظهور و گسترش مقاومت در برخی از بندپایان، افزایش روزافزون قیمت سموم و از طرفی آلودگی محیط زیست و بهم خوردن اکوسیستم در نتیجه استعمال مداوم حشره‌کش‌ها، در حال حاضر توجه زیادی به روشهای مبارزه بیولوژیک بخصوص در قالب کنترل تلفیقی معطوف گردیده است (Rishekesht et al. 1983).

کشف سروتیبیپاچ - ۱۴ *Bacillus thuringiensis* بعنوان یکی از لاروکش‌های انتخابی پشه‌ها و *Simuliidae* یکی از موفقیت آمیزترین قدمها در راه کنترل ناقلین مهم بیماریهای انسان در سالهای اخیر تلقی شده است (WHO 1982). پیشرفت در زمینه کاربرد این حشره‌کش آنچنان سریع بوده است که اگرچه فقط ۸ سال از کشف این سروتیبیپ می‌گذرد مراحل اولیه مطالعات آزمایشگاهی و صحرایی را پشت سر گذارده

و در سطح گسترده جهت مبارزه با پشه‌ها و *Simuliidae* ها بکار گرفته شده است (Rishekesht et al. 1983). مطالعات مختلف نشان داده است که این باکتری هیچگونه خطری برای انسان، پستانداران و مهره‌داران آبی ندارد (Barjac et al. 1980; Burges 1981).

با ظهور مقاومت‌های پی‌درپی در *An. stephensi* ناقل اصلی مالاریا در مناطق جنوبی کشور به‌حشره‌کش‌های ددت، دیندرین و مالاتیون (Mofidi et al. 1958; Manoucheri et al. 1976) و همچنین تمایلات اگزوفیلی برخی دیگر از ناقلین (Manouchehri & Rohani 1975) که در نتیجه تماس آنها با سطوح سمپاشی شده به‌حداقل می‌رساند و مشکلات موجود در راه کنترل آنها برنامه‌های کنترل بیولوژیک در قالب برنامه‌های کنترل تلفیقی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. هدف از این مطالعات ارزشیابی اثر *B. thuringiensis* بر روی لاروهای *Anophelelinae* و نهایتاً بررسی امکان استفاده از آن در برنامه‌های مبارزه با بیماری مالاریا در جنوب کشور می‌باشد. منطقه کازرون بعطت وجود امکانات مطالعاتی در ایستگاه تحقیقات پزشکی برای این بررسی انتخاب گردید.

روش بررسی:

بمنظور مطالعه اثر *B. thuringiensis* در امر مبارزه با ناقلین مالاریا در جنوب کشور مطالعاتی در دو مرحله انجام پذیرفت. در مرحله اول که در تعقیب مطالعات و نتایج بدست آمده از بررسی‌های آزمایشگاهی انجام گردیده بود (زعیم و همکاران، در دست تهیه)، اثر فرآورده Bactimos (شرکت بایو کم پروداکتس، ۵۰۰۰ واحد بین‌المللی در هر میلی‌گرم) بر روی لاروهای سنین مختلف *An. dthali* در ظروف محدود، در لانه‌های لاروی طبیعی مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور سه لانه لاروی طبیعی در قریه اسلام‌آباد در ۲۵ کیلومتری شمال کازرون در حاشیه رودخانه شاپور که دارای بستری از نوع شن و سنگریزه بودند به‌ابعاد زیر انتخاب شدند. لانه لاروی شماره یک به‌وسعت ۱۳۷/۶ متر مربع و عمق آب ۳۰ سانتیمتر، لانه لاروی شماره دو به‌وسعت ۱۷/۳ متر مربع و عمق متوسط آب ۳۵ سانتیمتر و لانه لاروی شماره سه به‌وسعت ۱۴/۲ متر مربع و عمق متوسط ۲۰ سانتیمتر. در لانه‌های لاروی شماره یک و دو تعداد ۶ ظرف استوانه‌ای پلاستیکی به قطر ۸ و طول ۲۰ سانتیمتر که با کمک قطعه چوبی در داخل لانه لاروی نگهداری می‌شد قرار داده شد. دهانه این ظروف در

دو طرف مقابل تا ارتفاع ۸ و عرض ۲ سانتیمتر بریده شده و جهت جلوگیری از خروج لاروها، بوسیله توری نازک پوشیده شده بود. پس از نصب این ظروف در نقاط مختلف محیط زیست، در نیمی از آنها لاروهای سنین ۱-۲ و در نیمی دیگر لاروهای سنین ۳-۴ (*An. dthali*) که قبلاً "بالغ آنان از صحرا جمع آوری و در آزمایشگاه تکثیر یافته بودند، به تعداد ۲۰ عدد اضافه گردید. در لانه لاروی شماره سه که بعنوان شاهد انتخاب شده بود ۲۰ ظرف استوانه‌ای مطابق مشخصات بالا، محتوی لاروهای سنین ۱-۲ و ۳-۴ به تفکیک و بطور مساوی قرار داده شده بود. لانه لاروی شماره یک با ۴ میلیگرم و لانه لاروی شماره دو با ۲ میلیگرم در لیتر Bactimos، با توجه به ابعاد هر لانه لاروی، سمپاشی شیده و مرگومیر لاروها پس از ۲۴ ساعت محاسبه گردیده است.

در مرحله دوم بررسی، ضمن توجه به نتایج بدست آمده از مرحله اول، اثر غلظت‌های مختلف Bactimos بر روی لاروهای *Anopheles* (از جمله *An. superpiectus*; *An. dthali*) در بسترهای طبیعی مورد آزمایش قرار گرفت. برای این منظور سه لانه لاروی محزا در حدس واقع در ۱۸ کیلومتری شمال غربی کازرون انتخاب شدند. وسعت لانه‌های لاروی بترتیب ۱۷۲، ۵۶ و ۵۵ متر مربع و عمق متوسط آب ۱۵ سانتیمتر بوده‌اند. در لانه‌های لاروی شماره یک و دو بترتیب غلظت‌های ۴ و ۲ میلیگرم در لیتر Bactimos مورد آزمایش قرار گرفته و لانه لاروی شماره سه بعنوان شاهد به کار گرفته شد. اولین مطالعات ۲۴ ساعت پس از سمپاشی و پس از آن بطور روزانه همزمان با تغییرات و فور لاروی ادامه داشت. تراکم جمعیت لاروی بر اساس و فور به دهه ملاحظه محاسبه شده است.

نتایج و بحث:

نتایج مطالعات تاثیر *B. thuringiensis* بر روی لاروهای *Anopheles* در ظروف محدود که از طریق مطالعه نتایج مرگومیر لارو پشه در غلظت‌های صفر (شاهد)، ۲ و ۴ میلیگرم در لیتر انجام یافته در جدول شماره یک منعکس شده است. در این بررسی ۹۶٪ لاروهای سنین ۱-۲ و ۹۴٪ سنین ۳-۴ در عرض ۲۴ ساعت در غلظت ۴ میلیگرم در لیتر از بین رفتند. در غلظت‌های ۲ میلیگرم در لیتر نیز بترتیب ۹۵/۵ درصد لاروهای سنین ۱-۲ و ۹۳/۶٪ لاروهای سنین ۳-۴ در عرض همین مدت تلف شده بودند که تفاوت محسوسی با غلظت ۴ میلیگرم در لیتر از خود نشان نداد. مرگومیر قابل توجهی در خلال ایس مدت در کنترل مشاهده نشد.

در بررسی اثر *B. thuringiensis* بر روی لاروهای *Anophelelinae* در لانه‌های لاروی طبیعی که در قرینه جدس کازرون انجام پذیرفت و وفور لاروی بترتیب *An. segenti*; *An. turkhudi*; *An. superpictus*; *An. dthali* تعیین شده بود نتایج زیر بدست آمد که در جداول ۲ و ۳ نیز خلاصه شده‌اند:

در بررسی غلظت ۴ میلی‌گرم در لیتر Bactimos، وفور لاروی در ۱۰ ملاقه در عرض ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از اجرای برنامه لاروکشی، بترتیب از ۳۳ به ۱/۸ و ۱/۴ تقلیل یافت حال آنکه وفور لاروی در لانه شاهد بین ۳۱ و ۳۷ به ده ملاقه در نوسان بوده و تقلیل محسوسی در آن دیده نشد (جدول شماره ۲). استعمال غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر Bactimos نیز حاکی از تقلیل جمعیت لاروی از ۲۵/۳ قبل از سمپاشی به ۳/۲ و ۱/۹ در ۲۴ ساعت و ۴۸ ساعت پس از سمپاشی می‌باشد که نشان دهنده ۹۲٪ مرگومیر در عرض ۴۸ ساعت تماس با لاروکش، با احتساب تمام سنین لارو، است.

حداکثر مرگومیر لاروها در کلیه آزمایش‌ها غالباً " در ۲۴ ساعت اولیه پس از تماس و در مواردی پس از ۴۸ ساعت بدست آمده است. اثر باقی این فرآورده در لانه‌های لاروی در مقادیر بالا بیشتر بوده بنحوی که در لانه لاروی که با ۴ میلی‌گرم در لیتر Bactimos، سمپاشی شده بود و فولاً لارو در سنین ۳ - ۴ بعد از گذشت ۸ روز تقریباً " ۱۰٪ قبل از اجرای برنامه لاروکشی بوده است. در حالی که در لانه لاروی شاهد نزدیک به دو برابر شده است. در لانه لاروی که با ۲ میلی‌گرم در لیتر Bactimos سمپاشی شده بود جمعیت لارو پشه خیلی سریعتر به حالت اولیه برگشته است. لذا بمنظور برقراری یک کنترل مطلوب می‌بایست حداقل هفته‌ای یکبار عمل لاروکشی را تکرار نمود. این عمل ممکن است مقرون به صرفه نباشد مگر آنکه بتوان لاروکشی نامبرده را با استفاده از مواد خام محلی، بصورت ارزان، در کشور تهیه نمود.

" *B. thuringiensis* (سروتیپاچ - ۱۴) برخلاف خیلی از ترکیبات حشره‌کش موجود کاملاً " اختصاصی بوده و فقط برای لارو پشه‌ها و *Simuliidae* ها کشنده است (Mulligan et al. 1980). پشه‌هایی که به سموم متعددی مقاومت نشان داده‌اند در مقابل استعمال این لاروکش مقاومت متقابل از خود بروز ندادند (Chin-Ning Sun et al. 1980) و تحت فشار این لاروکش (تاجدود ۲۰ نسل) مقاومتی در آنها ظاهر نشده است (Rishekesht et al. 1983). بی‌خطر بودن این باکتری برای انسان و حیوانات و پتانسیل آن که در مطالعات ما و محققین دیگر در سطح دنیا مشاهده شده نیاز بررسی‌های عمیق‌تر را بخصوص در زمینه جنبه‌های اقتصادی استفاده از آن تأکید می‌نماید. تولید فرآورده‌هایی با خاصیت کشندگی و باقی‌مانده بیشتر و یا تولید فرآورده‌هایی با قدرت چرخش در طبیعت می‌تواند در افزایش پتانسیل کاربرد لاروکش مزبور بسیار مؤثر افتد.

جدول ۱ - نتایج بررسی فلپت‌های مختلف Bactimos بر روی لاروهای *An. dthali* در ظروف محدود (اسلام‌آباد)

نتایج مرگ و میر بعد از ۲۴ ساعت		تعداد لارو مورد آزمایش	سنین لارو	مشخصات لاروهای
% مرگ و میر	زنده			
۹۵/۵	۲۷	۶۰۰	۱-۲	با ۲ میلی‌گرم سمپاشی شده
۹۳/۶	۳۸	۶۰۰	۳-۴	
۹۶	۲۴	۶۰۰	۱-۲	با ۴ میلی‌گرم سمپاشی شده
۹۴	۳۶	۶۰۰	۳-۴	
۰	۲۰۰	۲۰۰	۱-۲	شاهد
۰	۲۰۰	۲۰۰	۳-۴	

جدول ۲ - اثر غلظت ۴ میلیگرم در لیتر Bactimos بر روی لاروهای *Anopheles*، قریه چپس (کازرون، فارس)

لاروه لاروی شاه		لاروه لاروی شاه		تاریخ	
سن ۴-۳	سن ۲-۱	سن ۴-۳	سن ۲-۱	سن ۴-۳	سن ۲-۱
۷/۰۹	۲۴/۵	۳۱/۶	۲۲/۵	۱۰/۵	۲۳/۵
۹/۱	۳۱/۵	۲۰/۶	۱/۶	۰/۲	۱/۸
۸/۵	۲۸/۵	۳۷	۱	۰/۴	۱/۴
۱۲/۱	۲۹/۹	۴۲	۴/۲	۱/۲	۵/۴
۹/۶	۴۲/۷	۵۲/۳	۸/۱۴	۰	۸/۱۴
۱۰/۹	۴۱/۳	۵۲/۲	۶/۶	۰/۸	۷/۲
۱۳/۶	۲۸/۴	۴۲	۱۲	۱	۱۳
۶/۶	۲۸/۹	۳۵/۸	۱۲/۱	۱/۴	۱۳/۵
۱۱/۶	۲۷/۴	۳۹	۱۱/۵	۱	۱۳/۵
۱۱/۴	۴۸/۳	۵۹/۷	۱۳/۲	۱/۸	۱۴/۷

* - عملیات لاروکشی پس از وفورگیری لارو در تاریخ ۶/۶/۶۱ انجام پذیرفت.

حدول ۳ - اثر غلظت ۲ میلیگرم در لیتر Bactimos بر روی لاروهای *Anopheles* ، قریه جسد (کازرون ، فارس)

لاروه لاروی شاهد		لاروه لاروی شماره ۲		تاریخ
سن ۴-۳	سن ۲-۱	سن ۴-۳	سن ۲-۱	
وفور لارو دهه ملاقله		وفور لارو دهه ملاقله		
۱۱/۵	۲۹/۹	۲/۶	۲۱/۷	* ۶۱/۶/۲۱
۱۵/۵	۴۱/۸	۰/۶	۲/۶	۶۱/۶/۲۲
۱۳/۸	۲۸/۲	۰/۶	۱/۳	۶۱/۶/۲۳
۹/۳	۲۹/۷	۱/۳	۸/۳	۶۱/۶/۲۴
۱۳/۲	۵۱/۴	۲	۱۶	۶۱/۶/۲۵
تمام سنین		تمام سنین		
	۴۱/۴		۲۵/۳	
	۵۷/۳		۳/۲	
	۵۲		۱/۹	
	۴۹		۹/۶	
	۶۴/۶		۱۸	

* - عملیات لاروکشی پس از وفورگیری لارو در تاریخ ۶۱/۶/۲۱ انجام پذیرفت .

THE EFFECT OF *BACILLUS THURINGIENSIS* ON THE
ANOPHELINE MOSQUITOES IN SOUTHERN IRAN

By:

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

An investigation was made to determine the larvicidal potency of *Bacillus thuringiensis* on anopheline mosquitoes in Southern Iran. This study was conducted, in two steps, in small scale, in Kazeroun, Fars, during summer of 1982.

The effect of Bactimos (Biochem Products, Belgium) on the larvae of *Anopheles dthali*, when they were kept in specially made containers inside their natural breeding sites, were investigated. 95.5% and 96% of larval instars 1-2 and 93.6% and 94% of larval instars 3-4 were killed, when 2 and 4 mg/lit of the larvicide were used, respectively.

Larvicidal potency of Bactimos on anopheline mosquitoes, including *An. dthali* and *An. superpictus*, in their natural breeding sites, were investigated. 92% and 95% larval mortality was recorded after 48 hrs of exposure to 2 and 4 mg/lit of Bactimos, respectively. Maximum mortality has usually been observed in the first 24, and in some cases 48 hrs, of exposure. The residual activity

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

depended on the rate of application and was much higher at 4 mg/lit of Bactimos. In the latter case the density of the larval instars 3-4, 9 days after application, reached only 1/10th of the density present before the application. Larval density in control had reached twice as much, in the same period of time.

REFERENCES

- BARJAC, H., I. LARGET, V. COSMAO, L. BENICHOU & G. VIVIANI, 1979-Innocuite De *Bacillus thuringiensis*, souche 1593, pour les mammiferes. *WHO/VBC/79.731*.
- BURGES, H.D., 1981-Safety, testing and quality control of microbial pesticides. In: Burges, H.D., ed., *Microbial Control of Pests and Plant Diseases*, London *Academic Press*: 737-767.
- 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.
- MANOUCHEHRI, A.V., & F. ROHANI, 1975-Notes on the Ecology of *Anopheles dthali* Patton in Southern Iran. *Annls Trop. Med. Parasitol.* 69: 393-397.
- MANOUCHEHRI, A.V., B. DJANBAKSH & F. ROHANI, 1976-Studies on the resistance of *Anopheles stephensi* to malathion in Bandar Abbas, Iran. *Mosquito News* 36: 320-322.

- MOFIDI, Ch., B. SAMIMI, N. ESHGHI & M. GHIASSEDIN, 1959-
Further studies of anopheline susceptibility to
insecticides in Iran, results of Busvine and
Nash method. *Inst. Parasit. & Malar. Teheran*,
Iran Publ. 585:1-7.
- MULLIGAN F.S., C.H. SCHAEFER & W.H. WILDER, 1980-
Efficacy and persistence of *Bacillus sphaericus*
and *Bacillus thuringiensis* H-14 against mosquito
under laboratory and field conditions, *J. Econ.*
Entomol. 73: 684-688.
- RISHEKESH, N., H.D. BURGESS, & M. VANDEKAR, 1983-Opera-
tional use of *Bacillus thuringiensis* serotype
H-14 and environmental safety. WHO/VBC/83.871.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1982-Basic Biology of Micro-
bial Larvicides of Vectors of Human Diseases.
Proceeding of a consultation convened in Geneva,
26-27 April 1982.