دوفصلنامه علمی ترویجی علوم و فنون زنبورعسل
دوره ۱۶، شماره ۲۹، سال ۱۴۰۳، (۱۱-۲۳)

ارزیابی اثرات توأم باکتری *Bacillus thuringiensis* و ویروس چندوجهی هسته‌ای (*NPV*) روی لاروهای شب پره‌موم‌خوار بزرگ (*Galleria mellonella*)، در شرایط آزمایشگاهی

ام‌کلثوم عبیدی[۱]، مهدی مخبر[۲*]، شهرام آرمیده[۳]، علی هاشمی[۴]

۱- پژوهشگر، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی، ارومیه، ایران
۲- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۳- دانشیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۴- دانشیار، گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۳/۱۲ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۳/۵/۲۸
شناسه دیجیتال (DOI): 10.22034/HBSJ.2024.365964.1166
رایانامه: m.mokhber@urmia.ac.ir

چکیده:

شب‌پره موم‌خوار بزرگ (*Galleria mellonella* L.) یکی از آفات مهم کندوهای زنبورعسل (*Apis mellifera*) به‌شمار می‌رود. هدف از پژوهش حاضر، استفاده از باکتری (*Bacillus thuringiensis* B) و ویروس چندوجهی هسته‌ای (NPV) به‌همراه بررسی اثر توأم این ترکیبات بیولوژیکی روی لاروهای سن سوم بیدموم‌خوار در شرایط آزمایشگاهی است. لاروهای پروانه موم‌خوار بزرگ از زنبورستان‌ها جمع‌آوری و برای تخمگذاری به آزمایشگاه منتقل و پرورش داده شدند. بعد از

زیست سنجی و تعیین LC۵۰ و LC۲۵ باکتری و ویروس اثر ترکیبی آنها روی سن سوم لاروی مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور تعیین سطوح کشندگی، داده‌های حاصل بعد از اصلاح با معادله آبوت به روش تجزیه پروبیت آنالیز و مقادیر LC۵۰ محاسبه شد. آنالیز تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها توسط نرم افزار SPSS-V۲۲ انجام شد. در بررسی اثر ترکیبی باکتری B.t و ویروس NPV روی سن سوم لاروی بیدموم‌خوار، بیشترین مرگ و میر در تیمار ترکیب دو عامل بیولوژیک LC۲۵+ NPV LC۲۵ B.t و کمترین کشندگی در تیمار شاهد مشاهده شد. در بررسی تأثیر دز زیرکشندگی (LC۱۵) باکتری B.t و ویروس NPV در تبدیل مرحله لاروی به شفیرگی و مرحله شفیرگی به حشره کامل با توجه به میانگین تیمارها، بیشترین تبدیل مربوط به تیمار شاهد بود و کمترین آنها مربوط به تیمار ویروس بود. نتایج این بررسی نشان داد هرچند هر دو عامل باکتری B.t و ویروس NPV در کنترل مرحله لاروی این آفت مؤثر هستند، ولی استفاده توأم این دو عامل بیولوژیک در مدیریت تلفیقی این آفت مؤثرتر است.

واژه‌های کلیدی: باکتری باسیلوس تورینجینسیس، ویروس VPN، بید موم‌خوار، زنبورعسل،

مقدمه

زنبورهای‌عسل *Apis melifera* L. (Hymenoptera: Apidae) حشرات اجتماعی و از لحاظ اقتصادی و گرده افشانی بسیار مفید هستند (Mokhber & Ghaffari, 2019). کلنی‌های زنبورعسل دائماً در معرض آفات مختلف از قبیل کنه‌ها، پروانه‌ها، زنبورها و غیره قرار دارند (Vijayakumar *et al*., 2019; Mokhber & Rasouli, 2020) که در این بین پروانه موم‌خوار، *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae)، یکی از مهمترین آفات کلنی‌های زنبورعسل و محصولات تولیدی کندو به شمار می‌رود. لاروی‌های این آفت به‌عنوان یکی از مهمترین آفت‌های موم زنبورعسل مورد توجه قرار دارد (Williams, 1997; Ritter & Akratanakul, 2011). لاروها جدی‌ترین آفت موم زنبورعسل در محل نگهداری آنها و نیز درون کندوهای با جمعیت کم است و همه ساله خسارات قابل توجهی به شان‌ها، کندو و زنبورهای عسل در زنبورستان‌های اکثر نقاط دنیا وارد می‌کند (Charrière & Imdorf, 2004; Hood *et al*., 2016). میزان کاهش درآمد زنبورداری ناشی از این آفت در کشورهای در حال توسعه از قبیل هند به‌دلیل شیوع بالای آفت، حتی به ۶۰ الی ۷۰ درصد می‌رسد (Swamy *et al*., 2009; Vijayakumar *et al*., 2019). شدت زیاد آلودگی کلنی زنبورعسل توسط لارو بید موم‌خوار، اغلب منجر به از دست دادن کلنی، فرار و کاهش اندازه جمعیت کندو و در نهایت از دست رفتن کلنی می‌گردد (Gulati & Kaushik, 2004 Gu-lati & Kaushik, 2004; Pirk *et al*., 2016).

ویروس‌های چند وجهی هسته‌ای (NPV) باکولو ویروس‌ها هستند، پاتوژن‌های اجباری با نوکلئوکپسید میله‌ای شکل حاوی DNA دایره‌ای دو رشته‌ای. راه طبیعی عفونت از طریق بلع چند وجهی است یا در برخی موارد ویریون‌ها می‌توانند حشرات میزبان را آلوده کنند. امروزه استفاده از سموم شیمیایی محیط زیست را تحت تأثیر قرار داده و سلامتی انسان، حیوانات و حشرات مفید را نیز به خطر می اندازد. ویروس چند وجهی هسته‌ای جایگزین مناسبی برای آفت کش‌های مصنوعی است. این ویروس می‌تواند حشرات لپیدوپتران محصولات زراعی مانند سیب‌زمینی، پنبه، کلم و غیره را کنترل کند. این بیوسید با طیف باریک فقط میزبان خاص یعنی آفات حشرات را هدف قرار می‌دهد، نه میزبان‌های غیر هدف که شامل حشرات مفید است. کشت انبوه NPVها روی Spodopteralitura با استفاده از جیره طبیعی، برگ کرچک در شرایط آزمایشگاهی در سطل های پلاستیکی به راحتی امکان پذیر است. اسپری فرمولاسیون NPV باید در اواخر روز انجام شود، زمانی که اوج نور خورشید یا عصر از اشعه خورشید خارج می‌شود تا از ذرات میکروارگانیسم محافظت شود تا اثربخشی NPV افزایش یابد (Mondal and *et al*., 2021).

روش‌های مختلف شامل مدیریتی، فیزیکی و شیمیایی برای مقابله با پروانه موم‌خوار ارائه شده است (Calderone 2000; Kaushik, 2004; Ritter & Akratanakul 2011; Vijayaku-mar *et al*., 2019). با وجود مؤثر بودن روش‌های مدیریتی (Ritter & Akratanakul, 2011) و فیزیکی (Gulati & Kau-shik, 2004)، به‌دلیل محدودیت‌هایی اجرایی که این روش‌ها دارند، مواد شیمیایی تدخینی گزینه اول زنبورداران برای کنترل پروانه موم‌خوار است (Charrière & Imdorf, 1999). از این مواد می‌توان به سولفور، استیک اسید، اتانول بروماید، کلسیم سیانید، متیل بروماید، فسفین، پارادی‌کلروبنزن و دی اکسید کربن، اشاره کرد (Gulati & Kaushik, 2004; Ritter & Akratanakul, 2011; Ellis *et al*., 2013; Krams *et al*., 2015; Chantawannakul *et al*., 2016). متاسفانه با توجه به اثرات زیست محیطی و مقاومت تدریجی آفت لارو پروانه موم‌خوار در مقابل آفت‌کش‌ها (Aramideh *et al*., 2010) و نیز تأثیر سوء آن روی گونه‌های غیرهدف از قبیل زنبورعسل (Owayss *et al*.,

2007; Ritter & Akratanakul 2011; Shabani Nejad *et al*., 2016; Tuncsoy *et al*., 2021)، مخالفت‌های زیادی در مقابل استفاده از این مواد شیمیایی وجود دارد و در برخی موارد، استفاده از آنها ممنوع اعلام شده است (Owayss *et al*., 2007; Ritter & Akratanakul 2011). با توجه به محدودیت‌های عنوان شده برای روش‌های شیمیایی در خصوص کنترل این آفت، استفاده از روش‌های مدیریت تلفیقی آفات، ضروری به‌نظر می‌رسد (Aramideh *et al*., 2010). در راستای استراتژی مدیریت تلفیقی کنترل لاروهای موم‌خوار، در کنار مدیریت صحیح زنبورستان (Tuncsoy *et al*., 2021)، گرایش به روش‌هایی کارآمد با اثرات سوء کمتر از قبیل روش‌های بیولوژیکی افزایش یافته است (Gulati & Kaushik, 2004; Adeyemi & Adebote, 2010; Harding *et al*., 2013; Kwadha *et al*., 2017). امروزه حشره‌کش‌های بیولوژیکی به‌طور وسیعی در کنترل بیولوژیک آفات کشاورزی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Ruiu, 2018). این مواد بیولوژیکی دشمن طبیعی حشرات بوده و اثرات مخرب حشره‌کش‌های شیمیایی را ندارند (Majeed *et al*., 2017). با وجود اهمیت مقابله با این آفت در صنعت زنبورداری، کرم موم‌خوار در طی دو دهه اخیر جایگاه ویژه‌ای به‌عنوان حیوان مدل در تحقیقات میکروبیولوژی، شیوع و مقاومت میزبان به بیماری‌ها و سموم، اثربخشی آنتی بیوتیک‌ها، قارچ کش‌ها و سایر مواد بیولوژیکی فعال در بدن موجود، دارد (Wilson-Sanders, 2011; Champion *et al*., 2016; Tsai *et al*., 2016; Mikulak *et al*., 2018). از میان حشره‌کش‌های بیولوژیکی، باکتری Bacillus thuringiensis (B.t) یکی از شاخص‌ترین عوامل میکروبی برای کنترل حشرات محسوب می‌شود (Soberon *et al*., 2018). این عامل کنترلی یک باکتری گرم مثبت بوده و اسپورزا است (Raymond *et al*., 2010; Tuncsoy *et al*., 2021). بیماری‌زایی این باکتری به دلیل وجود عوامل کریستال پروتئین حشره‌کش (Cry) و پروتئین سیتولتیک (Cyt) است که در حین اسپورسازی تولید می‌شوند. پروتئین‌های Cry و Cyt دارای پروتوکسین بوده و پس از بلع در روده لارو حل می‌شوند و توکسین را آزاد می‌کنند که به سلول‌های پوششی روده متصل شده و باعث تشکیل منافذی روی غشای این سلول‌ها می‌شود. تشکیل این منافذ باعث به هم خوردن تعادل یونی و در نهایت مرگ لاروها می‌شود (Soberon *et al*., 2018). همچنین ویروس پلی هدر هسته‌ای (Nuclear polyhedrosis virus- NPV) روی سلول‌های روده میزبان تأثیر گذاشته، باعث تجزیه سلول‌های روده و فلج گوارشی و در نهایت موجب مرگ لاروهای موم‌خوار می‌شود (Biswas *et al*., 2003). در مطالعات انجام شده توسط موسکاردی و همکاران (Moscardi *et al*. 1997) روی خاصیت حشره‌کشی ویروس چندوجهی هسته‌ای، این ویروس را به‌عنوان عامل بیمارگر در حشرات معرفی کرده‌است. پژوهش‌های انجام گرفته توسط Haase و همکاران (۲۰۱۵) روی خاصیت حشره‌کشی ویروس NPV نشان داد که این ویروس علی‌رغم کنترل آفات، خطری برای سلامتی انسان و محیط زیست ندارد. همچنین در مطالعات متعدد دیگر خاصیت حشره‌کشی ویروس NPV روی لاروهای شب‌پره موم‌خوار مورد بررسی و تأیید قرار گرفت (Biswas, 2003; Magholi Fard *et al*., 2014; El Husseini, 2020).

لذا با توجه به اثرات مخرب ترکیبات شیمیایی روی سلامت، بهداشت و آلودگی‌های زیست محیطی، در پژوهش حاضر اثرات مستقل و توأم باکتری *B. thuringiensis* و ویروس چندوجهی هسته‌ای روی سن سوم لاروی شب‌پره موم‌خوار *G. mellonella* در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش ها

پرورش شب‌پره موم‌خوار بزرگ *Galleria mellonella*

لاروهای بید موم‌خوار از زنبورستان‌های استان‌های آذربایجان‌غربی و خوزستان جمع‌آوری و به آزمایشگاه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان‌غربی منتقل شدند. پرورش حشرات در ظروف با ابعاد ۳۰×۱۵×۲۰ سانتیمتر حاوی موم‌های سیاه و قدیمی، در دمای ۱±۳۰ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۸۵ درصد و دوره نوری ۱۴:۱۰ ساعت (تاریکی: روشنایی) انجام شد. جهت اطمینان از هم سن بودن لاروها، دسته‌های تخم واحد تفکیک و بطور مجزا به واحدهای آزمایشی اختصاصی منتقل شدند. دوباره لاروها بر حسب اندازه عرض کپسول سر از هم تفکیک و با در نظر گرفتن طول دوره لاروی، لاروهای ۵-۱۰ روزه پس از تفریخ به‌عنوان لارو سن سوم برای انجام آزمایشات مورد استفاده قرار گرفتند (آرمیده و همکاران، ۱۳۸۴، حیدری و همکاران، ۱۳۹۵).

میزان کشندگی میانه (LC۵۰) باکتری و ویروس

جهت تعیین میزان کشندگی میانه (LC۵۰) باکتری *B. thuringiensis* (زیرگونه *Kurstaki* تولید شرکت Probelete S.A. CTRA اسپانیا با نام تجاری®*Belthural*) و ویروس NPV (OBs)/L NPV 5×10^{8} موسسه تحقیقات گیاهپزشکی ایران) روی سن سوم لاروی موم‌خوار زنبورعسل، ابتدا در یک

سری آزمایشات مقدماتی غلظت‌های حداقل و حداکثر که تلفات ۲۰ الی ۸۰ درصد روی سن سوم لاروی داشته را تعیین و سپس در حد فاصل دو غلظت مشخص شده، سه غلظت به روش لگاریتمی مشخص شد (Aramideh, 2010). بدین ترتیب ۵ غلظت شامل به همراه یك غلظت آب مقطر و هر غلظت در سه تکرار و تمام غلظت‌ها به همراه محلول یک درصد پخش‌کننده ان یو فیلم-۱۷ روی ورقه ها موم آج دار که به‌خوبی توسط پتری دیش‌های یکبار مصرف محلول پاشی شدند و تعداد ۱۰ عدد لارو سن سوم در هر ظرف پتری، رهاسازی شدند. سپس مرگ حاصل از تأثیرغلظت‌های مختلف هر عامل کنترل بطور جداگانه روی سن سوم لاروی بعد از ۴۸ و ۷۲ ساعت ثبت‌شد.

بعد از زیست سنجی و تعیین LC۵۰ و LC۲۵ باکتری و ویروس به تنهایی، اثر ترکیبی آنها نیز روی سن سوم لاروی مورد ارزیابی قرار گرفت. در این روش تیمارهایی شامل LC۵۰ باکتری، LC۵۰ ویروس، LC۲۵ باکتری + LC۲۵ ویروس به همراه تیمار شاهد و هر تیمار در سه تکرار روی سن سوم لاروی مورد بررسی قرار گرفت. سپس، مرگ حاصل از تأثیر غلظت‌های مختلف هر ترکیب بعد از ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت یادداشت‌برداری و با برنامه پروبیت تجزیه و تحلیل و توسط معادله ۱ و ۲ شاخص سمیت و سمیت نسبی به‌دست آمد.

معادله ۱	نسبی سمیت = (LC50 کم اثرترین سم / LC50 ترکیب دیگر)
معادله ۲	شاخص سمیت = (LC50 قویترین سم / LC50 ترکیب دیگر) ×100

● تأثیر دوز زیرکشنده (LC_{15}) باکتری *Bt* و ویروس *NPV* روی شب‌پره مومخوار بزرگ

در این آزمایش لاروهای سن سوم پروانه مومخوار بوسیله موم های ورقه ای درون ظرف پتری آغشته به دوز زیرکشنده (LC_{15}) باکتری *Bt* و ویروس *NPV* تغذیه شدند و درصد تبدیل مرحله لاروی به شفیره و همچنین تبدیل مرحله شفیرگی به حشره کامل محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تیمارهای آزمایشگاهی در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل شد. به منظور تعیین کشندگی ترکیبات در آزمایشگاه، داده‌های حاصل از مرگ و میر سنین لاروی بعد از اصلاح با معادله ابوت (Abbott, 1925) (معادله ۳) با استفاده از روش تجزیه پروبیت آنالیز و مقادیر LC۵۰ محاسبه شد. برای ارزیابی اثر ترکیبی باکتری *B.t* و ویروس NPV روی لارو سن سوم پروانه مومخوار و ارزیابی تبدیل مرحله لاروی به شفیرگی و شفیرگی به حشره کامل از روش تجزیه واریانس ANOVA یک طرفه و مقایسه میانگین ها با استفاده از روش توکی در سطح احتمال ۵ درصد از نرم افزار SPSS var. 22 استفاده شد.

معادله ۳	ومیر مرگ درصد = (تلفات تیمار - تلفات شاهد / تلفات شاهد) ×100

نتایج و بحث

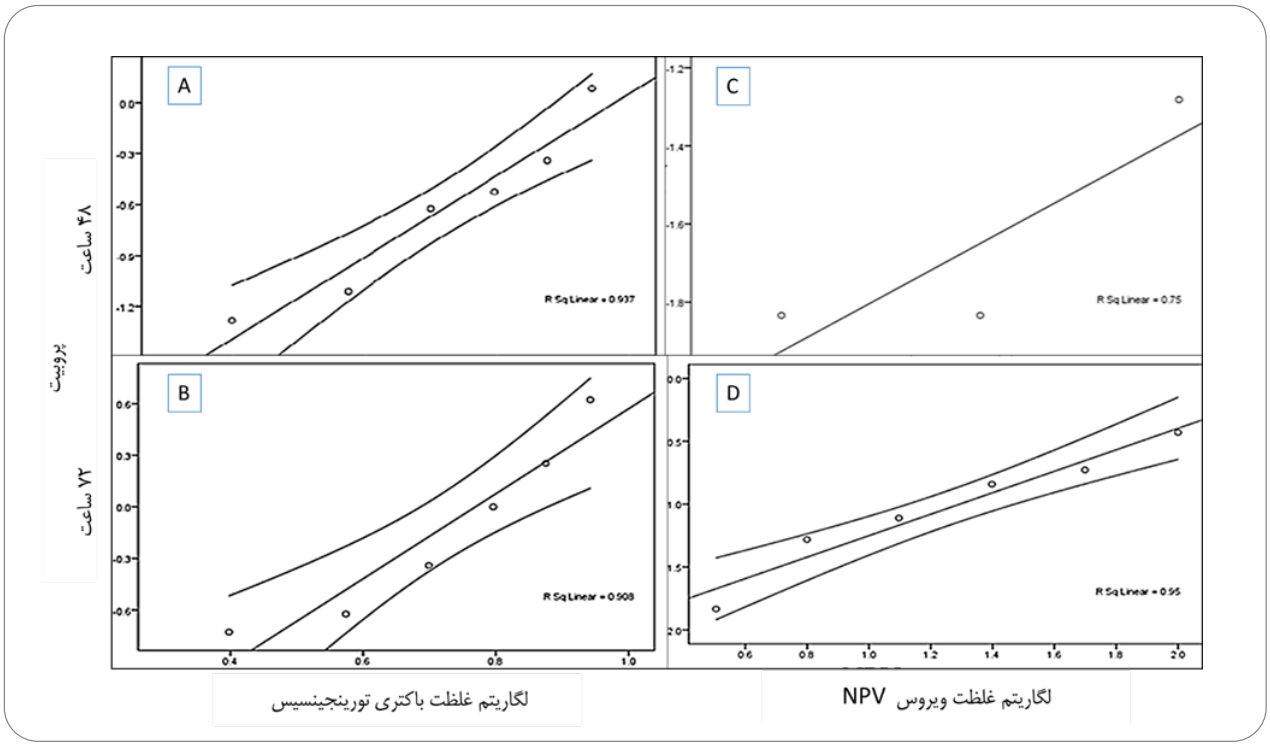
● تعیین کشندگی LC_{50}

تجزیه پروبیت حاصل از تأثیر غلظت‌های مختلف باکتری *B. thuringiesis*، و ویروس NPV بعد از ۴۸ و ۷۲ ساعت روی لاروسن سوم پروانه مومخوار *G. mellonella* مطابق جدول شماره ۱ حاصل شد. با توجه به سمیت نسبی و شاخص سمیت بر پایه LC۵۰ حاصل از ترکیبات روی لارو سن سوم *G. mellonella* بعد از ۴۸ و ۷۲ ساعت باکتری دارای سمیت بیشتری نسبت به ویروس بود.

جدول ۱- غلظت کشندگی (LC) باکتری *B. thuringiesis*.. و ویروس *NPV* بعد از ۴۸ و ۷۲ ساعت روی لارو سن سوم *Galleria mellonella*
Table 1. The lethal concentration (LC) of *B. thuringiensis* and NPV virus after 48 and 72h on third instar larvae of *Galleria mellonella*

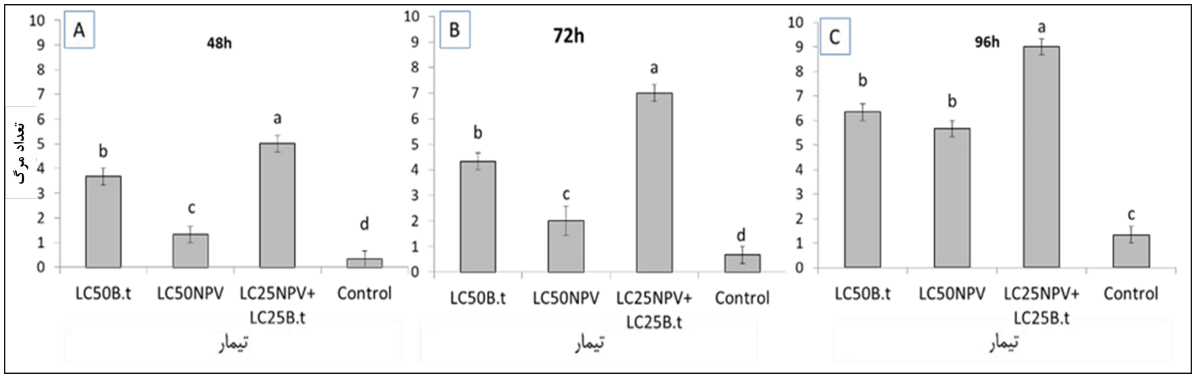
تیمار	دزمصرفی Ppm	زمان (ساعت)	Slop± SE	Intercepts+5	X2 (df)	LC_{50}	LC_{25}	LC_{15}
باکتری Bt	۳/۲	۴۸	۲/۴۸۶±۰/۶۲	-۲/۴۱۱+۵	۱/۲۳۴(۴)	۴۳/۲۵	۲۳/۰۵	۹/۲۵
	۶/۳							
	۱۲/۵							
	۲۵	۷۲	۲/۵۰۵±۰/۵۵	-۱/۹۳۲+۵	۲/۱۳۷(۴)	۳۶/۳۳	۱۶/۳۱	۷/۳۹
	۵۰							
	۱۰۰							
ویروس NPV	۲/۵۰	۴۸	۱/۴۴۴±۰/۶۹	-۴/۱۶۴+۵	۰/۸۴۹(۴)	۴/۳۸	۲/۰۸	۱/۳۸
	۳/۷۵							
	۵							
	۶/۲۵	۷۲	۰/۸۰۰±۰/۲۴	-۲/۰۲۴+۵	۱/۲۱۹(۴)	۳/۲۱	۱/۰۶	۰/۸۰
	۷/۵۰							
	۵/۷۵							

ضریب همبستگی (R^2) حاصل از تأثیر غلظت‌های مختلف باکتری *B. thuringiesis* و مرگ و میر لاروهای سن سوم پروانه مومخوار *G. mellonella* بعد از ۴۸ و ۷۲ ساعت در شرایط آزمایشگاهی به‌ترتیب معادل ۰/۹۰۸ و ۰/۹۳۷ و برای تیمار ویروس به‌ترتیب ۰/۹۵ و ۰/۷۵ بدست‌آمد. بیشترین رابطه رگرسیونی و برازش در ۴۸ ساعت مربوط به باکتری *B. thuringiesis* و در ۷۲ ساعت مربوط به ویروس *NPV* می‌باشد (شکل ۱).



شکل۱- رابطه رگرسیونی بین تیمارهای باکتری *B. thuringiesis* (AوB) و ویرس NPV (C و D) با میزان مرگ و میر لاروهای سن سوم بید مومخوار بعد از ۴۸ و ۷۲ ساعت
Figure 1. Regression relation between of *B. thuringiensis* (A and B) and NPV virus (C and D) treatment and mortali-.ty of third instar larvae of the *G. mellonella* after 48 and 72 hours

تجزیه واریانس حاصل از تأثیر تیمارهای ترکیبی باکتری *B.t* و ویروس *NPV* روی لارو سن سوم پروانه موم‌خوار بعد 48 (F3, 8 =61.333; P<0.05) ، ۷۲ و ۹۶ ساعت نشان داد که تفاوت میان تیمارها معنی‌دار بوده‌است. (Sig =0.001; P=0.05) ; ($F_{3,8}$=47.556) و (Sig=0.001; P=0.05 ; $F_{3,8}$=79.583) (شکل ۲). با توجه به میانگین تیمارها، بیشترین مرگ و میر در تیمار ترکیب دو عامل بیولوژیک LC25NPV+ LC25B.t و کمترین کشندگی در تیمار شاهد مشاهده شد (شکل ۲).



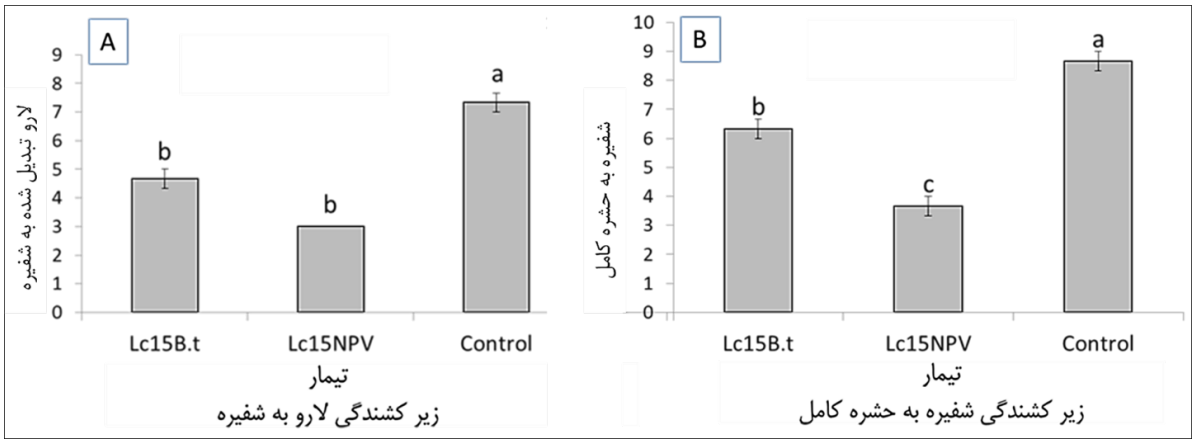
شکل ۲- میانگین مرگ و میر لاروهای سن سوم پروانه موم‌خوار بعد از ۴۸ (A)، ۷۲ (B) و ۹۶ (C) ساعت در سطح احتمال ۹۵٪ با آزمون توکی. ستون‌های باحروف یکسان اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

Figure 2. The average number of the mortality of third instar larvae of the *G. mellonella* after 48 (A), 72 (B) and 96 (C) in 95% probability level with Tukey's test. Columns with the same letters are not significantly different.

● بررسی تأثیر دز زیرکشندگی (LC_{15}) باکتری *B.t* و ویروس *NPV* روی تبدیل مرحله لاروی به شفیره و مرحله شفیرگی به حشره کامل

تجزیه واریانس حاصل از تأثیر غلظت‌های زیرکشنده باکتری B.t و ویروس NPV روی تبدیل لاروها به شفیره نشان داد که تفاوت میان تیمارها معنی‌دار نبوده‌است ($F_{3,8}$=64.50, P=0.05) (شکل ۳-الف). با توجه به میانگین تیمارها، بیشترین تبدیل لارو به شفیره مربوط به تیمار شاهد بود و سایر تیمارها باهم اختلاف معنی‌داری نداشتند.

تجزیه واریانس حاصل از تأثیر تیمارهای زیرکشنده باکتری B.t و ویروس NPV روی تبدیل شفیره‌ها به حشره کامل نشان داد که تفاوت میان تیمارها معنی‌دار بوده‌است ($F_{3, 8}$= 56.33 ; P<0.05) . (شکل۳- ب). با توجه به میانگین تیمارها، بیشترین تبدیل شفیره به حشره کامل مربوط به تیمار شاهد و کمترین آنها مربوط به تیمار ویروس بود (شکل۳- B).



شکل ۳ - مقایسه میانگین تعداد لارو تبدیل شده به شفیره (A) و شفیره به حشره کامل (B) تحت غلظت‌های زیرکشنده باکتری B.t و ویروس NPV(در سطح احتمال ۹۵٪ با آزمون توکی). ستون‌های باحروف یکسان اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

Figure 3. Comparison of the average number of the conversion of larval to pupal stage (A), pupal to adult insect (B) under sublethal dose of *B. thuringiensis* and NPV virus (in 95% probability level with Tukey's test). Columns with the same letters are not significantly different.

هرچند تاکنون روش‌های کنترل بیولوژیکی در مقابله با آفت مومخوار به‌طور کامل مورد بررسی قرار نگرفته است، محققان پیشین موارد مختلف از مبارزات بیولوژیکی را مورد بررسی قرار داده و به‌عنوان کنترل های بیولوژیکی مؤثر معرفی کرده‌اند. از این موارد می‌توان به اثر قارچ Beauveria bassiana (Ibrahim *et al*., 2016; Chertkova *et al*., 2018)، نماتد Heterorhabditid (Murad Rahoo *et al*., 2018; Salem *et al*., 2020)، باکتری *Bacillus thuringiensis* (Basedow *et al*., 2012; Essa et al.,2015; Gebremariam *et al*., 2021; Tuncsoy *et al*., 2021)، ویروس Bracon hebetor (El Husseini, 2020; Alam *et al*., 2014)، زنبور Trichogramma (Reay-Jones *et al*., 2006) و تکنیک عقیم سازی نرها (Kwadha *et al*., 2017) اشاره کرد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که باکتری *B. thuringiensis* بعد از ۴۸ و ۷۲ ساعت روی لارو سن سوم پروانه مومخوار *G. mellonella* مؤثر بوده و خاصیت حشره‌کشی قابل قبولی در کنترل آفت پروانه مومخوار دارد. این نتیجه با نتایج سایر محققین مطابقت داشت (Altincicek و همکاران (۲۰۰۷) Rahman و همکاران (۲۰۰۴)، Mostafa و همکاران (۲۰۰۵)، Dubovskiy و همکاران (۲۰۰۸)، Eleftherianos & Revenis، Grizanova (۲۰۱۱) و همکاران (۲۰۱۴)). در بررسی انجام گرفته توسط Bravo و همکاران (۲۰۱۵) روی لاروهای پروانه مومخوار نتایج نشان داد حشرات آلوده به غلظت های بالای Bt علائمی مانند توقف تغذیه، کاهش وزن و توقف رشد را در مقایسه با حشرات کنترل نشان می‌دهند که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. مطالعات انجام شده توسط Dubovskiy و همکاران (۲۰۰۸) روی تأثیر B.t روی لاروهای پروانه مومخوار نتایج نشان داد که این باکتری روی سلول‌های معده میانی لاروهای این حشره مؤثر بوده و موجب ایجاد عفونت عمومی می‌شود که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد (Dubovskiy *et al*., 2008).

در بررسی های صورت گرفته توسط Parthasarathy و Rabindra روی اثر ویروس پلی‌هدر هسته‌ای بر پروانه مومخوار در شرایط آزمایشگاهی، نتایج نشان داد این ویروس روی پروانه فوق مؤثر بوده است که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. همچنین به‌دلیل سهولت پرورش انبوه این ویروس و صرفه اقتصادی آن در کنترل تلفیقی این آفت قابل توصیه است (Parthasarathy & Rabindra, 2003).

در بررسی انجام گرفته توسط Rohel و همکاران (۱۹۸۰) روی تأثیر ویروس پلی‌هدر هسته‌ای بر پروانه مومخوار نتایج نشان داد که لاروها نسبت به این ویروس حساس بوده و این ویروس اثرات کنترلی خوبی روی لاروهای این آفت داشته که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. طی تحقیقات انجام گرفته توسط Tompkins و همکاران (۱۹۸۱) روی قابلیت کنترل پروانه مومخوار با استفاده از NPV، نتایج نشان داد که میتوان این آفت را در شرایط مختلف با استفاده از ویروس کنترل کرد که

مطابق نتایج حاصل از تحقیق فوق می باشد.

در بررسی های انجام شده توسط Stairs (۱۹۶۵) روی اثر کشندگی ویروس روی لاروهای پروانه مومخوار، نتایج نشان داد که این ویروس دارای تاثیر کشندگی روی لاروهای این آفت می باشد که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد (Stairs, 1965). همچنین طی بررسی های انجام شده توسط Parthasarathy و همکاران روی تاثیر ویروس NPV بر لاروهای پروانه مومخوار این ویروس را عفونت زا معرفی کردند که با نتایج حاصل از بررسی حاضر تطابق دارد (Parthasarathy *et al*., 2004). طی تحقیقات انجام شده توسط Srinivasan و همکاران (۲۰۰۵) روی علایم ایجاد شده در لاروهای های آلوده به ویروس NPV اعلام کردند که لاروهای آلوده تنبل و مایل به صورتی بودند و تغذیه خود را متوقف کردند و بدن لارو شکننده و اغلب پاره می شد. لاروهای مرده آویزان شده که نشان دهنده عفونت NPV است ولی در تحقیق حاضر رنگ لاروهای آلوده به ویروس مایل به قهوه ای بود. طی مطالعات انجام شده توسط Demir و همکاران (۲۰۱۴) روی اثرات کشندگی ویروس NPV روی چند آفت بالپولکدار، نتایج نشان داد که این ویروس ۲۵ درصد کشندگی روی لاروهای پروانه مومخوار داشت که این ویروس را در برنامه تلفیقی آفت فوق میتوان توصیه نمود. در بررسی انجام گرفته توسط Ala-Ud-Din و همکاران (۱۹۷۳) روی کنترل بیولوژیکی پروانه مومخوار، با اشباع شانه با فرم تجاری باکتری Thuricide-HP به‌عنوان یک روش کنترلی، نتایج نشان داد Thuricide-HP در غلظت کم برای محافظت از پایه شانه در برابر پروانه مومی مؤثر می‌باشد.

لذا با توجه به اثرات مخرب ترکیبات شیمیایی روی سلامت، بهداشت و آلودگی‌های زیست محیطی در این بررسی تأثیر توأم باکتری B.t. و ویروس پلی هدر هسته‌ای NPV روی سن سوم لاروی پروانه مومخوار در شرایط آزمایشگاهی مورد ارزیابی گرفت و نتایج حاصل از آزمایش فوق نشان داد که ویروس و باکتری ترکیبات مؤثری برای کنترل پروانه مومخوار است.

نتیجه‌گیری

در راستای کاهش مصرف سموم و تولید محصول ارگانیک و سالم به بررسی تأثیر سموم زیست پایه روی یکی از آفات مهم محصول عسل اقدام گردید و با توجه به تحقیق آزمایشگاهی صورت گرفته نتایج نشان داد، در شرایط آزمایشگاهی اختلاط ویروس و باکتری به‌عنوان بخشی از برنامه مدیریت تلفیقی این آفت قابل توصیه می‌باشد.

سپاسگزاری

از معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه برای حمایت مالی از این پژوهش تشکر می‌کنیم.

اعلام عدم تعارض

نویسندگان اعلام می دارند که هیچ تضاد منافعی در رابطه با نویسندگی و یا انتشار این مقاله ندارند.

منبع ها:

1. Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol, 18(2), 265-267.

Adeyemi, H. M., & Adebote, D. A. (2010). A comparative study of the antifeedant effect of *Bobgunnia madagascariensis* (Desv.) JH Kirkbr & Wiersema. (Caesalpiniaceae) plant extracts with a standard storage pesticide. Electronic Journal of Environmental, Agricultural & Food Chemistry, 9(10). 1559-1566.

Alam, M., Alam, S. N., Miah, R. U., Mian, M., Hossain, I., & Hossain, M. (2014). Biology of Bracon hebetor reared on wax moth (Galleria mellonella) larvae. Persian Gulf Crop Protection, 3(4).

Ala-Ud-Din, A., Abdellatif, M. A., Bakry, N. M., & El-Sawaf, S. K. (1973). Studies on the biological control of the greater wax moth, Galleria mellonella II. Impregnation of comb foundation with Thuricide-HP as a method of control. Journal of Apicultural Research, 12(2), 125-130.

Altincicek, B., Linder, M., Linder, D., Preissner, K. T., & Vilcinskas, A. (2007). Microbial metallopro-

teinases mediate sensing of invading pathogens and activate innate immune responses in the lepidopteran model host *Galleria mellonella* . Infection and Immunity, 75(1), 175-183.

Aramideh, S., Saferalizadeh, M. H., Pourmirza, A. A., Bari, M. R., Keshavarzi, M., & Mohseniazar, M. (2010). Characterization and pathogenic evaluation of *Bacillus thuringiensis* isolates from West Azerbaijan province-Iran. African Journal of Microbiology Research, 4(12), 1224-1229.

Basedow, T., Shafie, H., Abo-El-Saad, M., & Al Ajlan, A. (2012). Evaluation of *Bacillus thuringiensis* aizawi and neem for controlling the larvae of the greater wax moth, Galleria mellonela (Lepidopthera: Pyralidae). International journal of Agriculture and Biology, 14: 60–63.

Biswas, D., Corporation, T., Narayanan, K., & Chakraborty, M. 2003. Survey for natural enemies of *Galleria mellonella* and cross infectivity of its nucleopolyhedrovirus. Entomon- Trivandrum. 28(2), 179-184.

Bravo, A., Gill, S. S., Soberó, M. (2007). Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. Toxicon., 49: 423–435.

Bravo, A., Gill, SS., & Soberon, M. (2005). Bacillus thuringiensis: mechanisms and use. In: Gilbert LI, Kostas I, Gill SS, eds. Comprehensive Molecular Insect Science. Amsterdam: Elsevier. 175-205.

Calderone, N. (2000). IPM. Wax moth, mice, wasps and robber bees. Bee Culture Magazine. Jan. Issue).

Champion, O. L., Wagley, S., & Titball, R. W. (2016). *Galleria mellonella* as a model host for microbiological and toxin research. Virulence, 7(7), 840-845.

Chantawannakul, P., de Guzman, L.I., Li, J. and Williams, G.R. 2016, Parasites, pathogens, and pests of honeybees in Asia. Apidologie. 47: 1–24.

Chantawannakul, P., de Guzman, L.I., Li, J., & Williams, G.R. (2016). Parasites, pathogens, and pests of honeybees in Asia. Apidologie, 47: 1–24.

Charles, A. K., George, O. O., Paul, N. N., Suresh, K. R., & Ayuka, T. F. (2017). The biology and control of the greater wax moth, Galleria mellonella . Insects, 8(2), 61.

Charriere, J.D., & Imdorf, A. (2004 revised). Protection of honey combs from wax moth damage. Swiss Bee Research Centre, Nr. 24. 1-15.

Chertkova, E. A., Grizanova, E. V., & Dubovskiy, I. M. (2018). Bacterial and fungal infections induce bursts of dopamine in the haemolymph of the Colorado potato beetle Leptinotarsa decemlineata and greater wax moth Galleria mellonella . Journal of Invertebrate Pathology, 153, 203-206.

Crane, E. (1990). Bees and beekeeping: science, practice and world resources. Heinemann Newnes.

Demir, I., Nalcacioglu, R., Gholizad, L. M., & Demibag, Z. (2014). A highly effective nucleopolyhedrovirus against Malacosoma spp. (Lepidoptera: Lasiocampidae) from Turkey: isolation, characterization, phylogeny, and virulence. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 38(4), 462-470.

Dubovskiy, I. M., Krukova, N. A., & Glupov, V. V. (2008). Phagocytic activity and encapsulation rate of Galleria mellonella larval haemocytes during bacterial infection by Bacillus thuringiensis. Journal of Invertebrate Pathology, 98(3), 360-362.

Dubovskiy, I.M., Grizanova, E.V., Whitten, M.M., Mukherjee, K., Greig, C., Alikina, T., Kabilov, M., Vilcinskas, A., Glupov, V.V. and Butt, T.M., 2016. Immuno-physiological adaptations confer wax moth *Galleria mellonella* resistance to Bacillus thuringiensis. Virulence, 7(8), pp.860-870.

Eleftherianos, I., & Revenis, C. (2011). Role and importance of phenoloxidase in insect hemostasis. Journal of Innate Immunity, 3(1), 28-33.

Ellis, J. D., Graham, J. R., & Mortensen, A. (2013). Standard methods for wax moth research. Journal of Apicultural Research, 52(1), 1-17.

Essa, N. M., El-Sherif, H. A., El-Aziz, A., & Nahla, M. (2015). Effects of *Bacillus thuringiensis* and Nuclear Polyhedrosis Virus on some Biological Aspects and Metamorphosis of the Cotton Leaf Worm,

Spodoptera littoralis (Boisd.). Egyptian Journal of Biological Pest Control, 25(2).

Finney, D. J. (1971). Probit analysis, Cambridge University Press. Cambridge, UK.

Gebremariam, A., Chekol, Y., & Assefa, F. (2021). Isolation, characterization, and bio-insecticidal efficiency of Ethiopian isolates of *Bacillus thuringiensis* against *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) and tomato whitefly, Bemisia tabaci (Genn.)(Hemiptera: Aleyrodidae). Egyptian Journal of Biological Pest Control, 31(1), 1-12.

Goodman, R. D., Williams, P., Oldroyd, P. and Hoffman, J. 1990. Studies on the use of phosphin for the control of greater wax moth *Galleria mellonella* Linnaeus in stored honeybee comb. Journal of American Bee 130(6): 473 – 477.

Grizanova EV, Krytsyna TI, Surcova VS, Dubovskiy MI (2019) The role of midgut nonspecific esterase in the susceptibility of*Galleria mellonella* larvae to Bacillus thuringiensis. J Invert Pathol 166:107208.

Grizanova, E. V., Dubovskiy, I. M., Whitten, M. M. A., & Glupov, V. V. (2014). Contributions of cellular and humoral immunity of *Galleria mellonella* larvae in defence against oral infection by Bacillus thuringiensis. Journal of invertebrate pathology, 119, 40-46.

Gulati, R., & Kaushik , H. (2004). Enemies of honeybees and their management-A review. Agricultural review. 25: 189-200.

Harding, C. R., Schroeder, G.N., Collins, J.W., & Frankel, G. (2013). Use of *Galleria mellonella* as a Model Organism to Study Legionella pneumophila Infection. Journal of visualized experiments. 81(e50964): 1-10. doi:10.3791/50964 .

Hood, W.M., Horton, P.M., & McCreadie, J.W. (2003). Field evaluation of the red imported fire ant (Hymenoptera: Formicidae) for the control of wax moths (Lepidoptera: Pyralidae) in stored honey bee comb. Journal of Agricultural and Urban Entomology, 20: 93–103.

Husseini, M. M. (2020). Pathogenicity of nuclear polyhedrosis virus to *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) and its control on stored beeswax foundations. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 30(1), 1-6.

Ibrahim, A.A., Mohamed, H. F., El- Naggar, S. E. M., Swelim, M. A. and Elkhawaga, O. E. (2016). Isolation and Selection of Entomopathogenic Fungi as Biocontrol Agent against the Greater Wax Moth, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae). Egyptian Journal of Biological Pest Control, 26(2): 249-253.

Khosravi, M., Ebadi, R., Seyedoleslami, H., Hatami, B., & Talebi Jahromi, Kh. (2008). Growth disturbances and inhibitory effect of Pyriproxyfen and Diflubenzuron on the greater wax moth (*Galleria mellonella* L.) under different temperatures. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, Water and Soil Science, 12 (45): 297-311 (in Farsi).

Kwadha, C.A., Ong'amo, G.O., Ndegwa, P. N., Raina, S. K., and Fombong, A. T. 2017. The biology and control of the greater wax moth, Galleria mellonella. Insects. 8(2):61-67.

Lacey, L. A., Frutos, R., Kaya, H. K., & Vail, P. (2001). Insect pathogens as biological control agents: do they have a future?. Biological Control, 21(3), 230-248.

Magholi, Z., Abbasipour, H. and Marzban, R. 2014. Effect of Helicoverpa armigera Nucleopolyhedrosis Virus (HaNPV) on the larvae of the Diamondback Moth, Plutella xylostella (L.) (Lepidoptera: Plutellidae). Plant Protection Science., 4: 184 -189.

Magholifard, Z., Hesami, S., Marzban, R., & Salehi Jouzani, G. (2020). Individual and combined biological effects of *Bacillus thuringiensis* and Multicapsid nucleopolyhedrovirus on the biological stages of Egyptian cotton leafworm, Spodoptera littoralis (B.)(Lep.: Noctuidae). Journal of Agricultural Science and Technology, 22(2), 465-476.

Majeed, M.Z., Fiaz, M., Ma, C.S., Afzal, M. (2017). Entomopathogenicity of three muscardine fungi,

Beauveria bassiana, Isaria fumosorosea and Metarhizium anisopliae, against the Asian citrus psyllid, Diaphorina citri Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae). Egypt J Biol Pest Control 27(2):211–215

Mikulak, E., Gliniewicz, A., Przygodzka, M., & Solecka, J. (2018). *Galleria mellonella* L. as model organism used in biomedical and other studies. education, 1, 2.

Mokhber, M., & Ghaffari, M. (2019). Economic value of pollination services of honeybee and solutions to conserve apiculture industry. Honeybee Science Journal, 9(17), 12-16. (In Persian)

Mokhber, M., & Rasouli, R. (2020). A review on the resistance to Varroa mites in honeybee (Apis mellifera). Honeybee Science Journal, 10(19), 25-36. (In Persian)

Moscardi, F., Leite, L. G., & Zamataro, C. E. (1997). Production of nuclear polyhedrosis virus of Anticarsia gemmatalis Hübner (Lepidoptera: Noctuidae): effect of virus dosage, host density and age. Anais da Sociedade Entomologica do Brasil, 26(1), 121-132.

Mostafa, A. M., Fields, P. G., & Holliday, N. J. (2005). Effect of temperature and relative humidity on the cellular defense response of Ephestia kuehniella larvae fed Bacillus thuringiensis. Journal of Invertebrate Pathology, 90(2), 79-84.

Murad Rahoo, A., Mukhtar, T., Abro, S. I., Ali Bughio, B. and Kanwal Rahoo, R. (2018). Comparing the Productivity of Five Entomopathogenic Nematodes in *Galleria mellonella* . Pakistan Journal of Zoolology, 50(2): 679-684.

Omar, N. A. M., El Husseini, M. M., & El Bishry, M. H. (2004). The use of *Bacillus thuringiensis* kurstaki in protecting stored bee wax combs and wax foundations against the greater wax moth larvae, *Galleria mellonella* L. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 14(2), 415-418.

Owayss, A.A., & Abd El- Gayed, A.A. (2007): Potential efficacy of certain volatile oils and chemicals against greater wax moth, *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae). Bulletin of the Entomological Society of Egypt. 33: 67–75.

Parthasarathy, R. and Rabindra, R. J. (2003). Potential use of millet stem borer, Chilo partellus (Swinhoe) (Lepidoptera: Pyralidae) as an in vivo production system for nuclear polyhedrosis virus of greater wax moth, *Galleria mellonella* (Linnaeus). Biological Control of Lepidopteran Pests.

Pirk, C. W., Strauss, U., Yusuf, A. A., Démares, F., & Human, H. (2016). Honeybee health in Africa—a review. Apidologie, 47(3), 276-300.

Mondal, P., Kumar, A., & Tammana, A. (2021). Nuclear Polyhedrosis Virus (NPV): An overview. Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences, 10, 12-19.

Rahman, M. M., Roberts, H. L., Sarjan, M., Asgari, S., & Schmidt, O. (2004). Induction and transmission of *Bacillus thuringiensis* tolerance in the flour moth Ephestia kuehniella. Proceedings of the National Academy of Sciences, 101(9), 2696-2699.

Raymond, B., Johnston, PR., Nielsen-LeRoux, C., Lereclus, D., & Crickmore, N. (2010). Bacillus thuringiensis: an impotent pathogen? Trends Microbiol. 18:189-94; PMID: 20338765. http://dx.doi.org/10.1016/ j.tim. 2010.02.006.

Reay-Jones, F. P. F., Rochat, J., Goebel, R., & Tabone, E. (2006). Functional response of Trichogramma chilonis to *Galleria mellonella* and Chilo sacchariphagus eggs. Entomologia Experimentalis et Applicata, 118(3), 229-236.

Ritter, W., & Akratanakul, P. (2011). Honey bee diseases and pests: a practical guide. Agricultural and Food Engineering Technical Report (FAO) eng no. 4.

Rohel, D. Z., Chadwick, J., & Faulkner, P. (1980). Tests with inactivated cricket paralysis virus as a possible immunogen against a virus infection of *Galleria mellonella* larvae. Intervirology, 14(2), 61-68.

Ruiu, L. (2018). Microbial biopesticides in agroecosystems. Agronomy, 8(11), 235.

SAS Institute, 1990. SAS/STAT.user's Guide:Release 9.4.SAS Institute Inc., Cary, N.C.

Schnepf, E., Crickmore, N., Van-Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Feitelson, J., Zeigler, D.R., & Dean, D.¬H. (1998). *Bacillus thuringiensis* and its insecticidal proteins, Microbiology and Molecular Biology Reviews, 62(1): 774-806.

Shabani nejad, A., Ajamhassani, M., & Tafaghodinia, B. (2016). Optimization of using pesticide deltamethrin against *Galleria mellonella* by response surface method in laboratory conditions. Plant Pest Research Journal, 6(2): 53-62.

Shimanuki, H. (1980). Diseases and pests of honey bees. In Bee Keeping in the United States; Science and Education Administration, United States Department of Agriculture: Washington, DC, USA, 1980; Volume 335, pp. 118–128.

Soberon, M., Gill, S.S., & Bravo, A. (2009). Signaling versus punching hole: How do *Bacillus thuringiensis* toxins kill insect midgut cells?. Cellular and Molecular Life Sciences. 66: 1337-49. PMID:19132293; http://dx.doi.org/10.1007/s00018-008-8330-9.

Srinivasan R., S.T. Lee, Y.J. Lo and N.S. Talekar, 2005. Maruca vitrata Nuclear Polyhedrosis Virus (MvNPV), a new candidate in the management of Maruca vitrata (F.) (Lepidoptera : Pyralidae). In: Proc. of the Fifth Asia Pacific Congress of Entomology, October 18–21, 2005, Jeju, Republic of Korea, pp. 57

Stairs, G. R. (1965). Dosage-mortality response of *Galleria mellonella* (Unneaus) to a nuclear polyhedrosis virus. Journal of Invertebrate Pathology. 7: 5-9.

Sułek, M., Vertyporokh, L., Waleczko, P., & Wojda, I. (2019). Immune priming of *Galleria mellonella* larvae with *Bacillus thuringiensis* affects coagulation and phenoloxidase activity upon subsequent infection. Invertebrate Survival Journal, 66-71.

Swamy, B. C. H., Venkatesh, H., & Nagaraja, M. V. (2009). Influence of different species of honey bee combs on the life stages and biological parameters of greater wax moth, *Galleria mellonella* L. Karnataka Journal of Agricultural Sciences, 22(3), 670-671.

Tompkins, G. J., Linduska, J. J., Dougherty, E. M., & Young, J. (1982). Control of Lepidoptera larvae on collards with nuclear polyhedrosis viruses and Bacillus thuringiensis, 1981. Insecticide and Acaricide Tests, 7(1), 84-85.

Tsai, C. J. Y., Loh, J. M. S., & Proft, T. (2016). *Galleria mellonella* infection models for the study of bacterial diseases and for antimicrobial drug testing. Virulence, 7(3), 214-229.

Tuncsoy, B., & ÖZALP, P. (2021). Effects of pyriproxyfen and *Bacillus thuringiensis* Berliner, 1915 on enzymatic antioxidant defense system and hemocytes of *Galleria mellonella* (L., 1758) (Lepidoptera: Pyralidae). Turkish Journal of Entomology, 45(2), 159-172.

Vijayakumar, K. T., Neethu, T., Shabarishkumar, S., Nayimabanu Taredahalli, M. K., Bhat, N. S., & Kuberappa, G. C. (2019). Survey, biology and management of greater wax moth, *Galleria mellonella* L. in Southern Karnataka, India. Journal of Entomology and Zoology Studies, 7(4), 585-592.

Williams, J.L. (1997). Insects: Lepidoptera (moths). In Honey Bee Pests, Predators, and Diseases; Morse, R., Flottum, K., Eds.; AI Root Company: Medina, OH, USA, pp. 121–141.

Wilson-Sanders, S. E. (2011). Invertebrate models for biomedical research, testing, and education. ILAR Journal, 52(2), 126-152.

Evaluate of the combined effects of bacteria *Bacillus thuringiensis* and nuclear polyhedra virus (NPV) on third instar larvae of wax moth, (*Galleria mellonella* L.) in laboratory conditions

Omekolsum Obeidi[1], Mahdi Mokhber[2]*, Shahram Aramideh[3], and Ali Hashemi[4]

1- Researcher, Agricultural and Natural Resources Research and Education Institute of West Azerbaijan Province, Urmia, Iran.

2- Associate professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

3 - Associate professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

4- Associate professor, Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

DOI: 10.22034/HBSJ.2024.365964.1166

Abstract

The wax moth (*Galleria mellonella* L.) is one of the most important pests of *Apis mellifera* beehives. Then, the aim of this study is to use bacteria (*Bacillus thuringiensis* B.) and nuclear polyhedrosis virus (NPV) main and combined effects on the wax moth third-instar larvae in laboratory conditions. Large wax moth larvae were collected from apiaries and transported to the laboratory and reared to laying. After bioassay and determination of LC50 and LC25 of bacteria and virus, their combined effect on third instar larvae was assessed. In order to determine the lethality of the compounds, the mortality of larval ages modified with the Abbott equation and were analyzed by probit analysis and LC50 values were calculated. Analysis of variance and comparing the means was carried out using SPSS software var. 22. Our results reveal that the highest and the lowest mortality were related to the treatment of the combined biological agents (LC_{25} NPV+LC_{25}*B.t*) and the control treatments, respectively. The effect of sublethal dose (LC15) of *B. thuringiensis* and NPV on the conversion of larval stage to pupal stage and pupal stage to adult insect according to the mean of treatments, the highest conversion was related to the control treatment and the lowest was related to NPV treatment. Our results showed that, although both *B. thuringiensis* and NPV are effective in controlling the larval stage of the wax moth, the combined form of these two biological agents is more effective in the integrated management of this pest.

Key words: *Bacillus thuringiensis*, Nuclear polyhedrosis virus, Wax moth, Honeybee,

Corresponding Author: Mahdi Mokhber
Email: m.mokhber@urmia.ac.ir