عزل سلالات محلية من بكتيريا *Bacillus* spp. واختبار فاعليتها ضد يرقات فراشة الشمع الكبيرة *Galleria mellonella* L. مخبرياً

محمد العلان*[(1)] ونور الدين ظاهر حجيج[(1)] وعادل المنوفي[(1)] ونبيل الأحمد بك[(2)] ومحبة غنام[(2)]

(1). قسم بحوث الحشرات، إدارة بحوث وقاية النبات، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دمشق، سورية.
(2). قسم بحوث الأمراض، إدارة بحوث وقاية النبات، الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، دمشق، سورية.
(*للمراسلة: د. محمد العلان. البريد الإلكتروني. allanmhd@gmail.com).

تاريخ الاستلام: 2018/06/05 تاريخ القبول: 2018/08/05

الملخص

أُجريت هذه الدّراسة لتقدير فاعليّة سبع عزلات محليّة من جنس البكتريا *Bacillus* لمكافحة يرقات فراشة الشمع الكبيرة *Galleria mellonella* L. في مخابر الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية عام 2012، جُمعت اليرقات المصابة من أقراص الشمع المخزنة، وعُزلت البكتريا من الجنس *Bacillus* من اليرقات الميتة، أو التي ظهر عليها أعراض مرضيّة، على شكل بقع بنية مسودة على جدار الجسم (الكيوتيكل). فُحصت البكتريا بعد تنميتها على الوسط الغذائي T3 وعُرفت اعتماداً على الاختبارات البيوكيميائية، واختُبرت فاعليتها على مستعمرة نقية من يرقات فراشة الشمع ضمن ظروف المخبر. بيّنت نتائج الاختبارات البيوكيميائية أنّ العزلات تتبع للنوع *Bacillus thuringiensis*. كانت القدرة الإمراضية متباينة ما بين العزلات، فقد كانت العزلة Bt5 الأكثر كفاءة في قتل يرقات فراشة الشمع الكبيرة بفاعلية قدرها 72.41%، متفوقةً معنويّاً على جميع العزلات المختبرة عند مستوى احتمالية 0.01، وتفوقت العزلة Bt1 معنويّاً على الشاهد، وظاهريّاً مع العزلات الأخرى وبفاعلية قدرها 27.59%، بينما كان الفارق ظاهرياً بين العزلات Bt2، Bt3، Bt4، Bt6 و Bt7 والشاهد عند مستوى الاحتمالية ذاته.

الكلمات المفتاحية: *Bacillus thuringiensis*، بكتيريا ممرضة للحشرات، دودة الشمع الكبيرة. عزلات محلية.

المقدمة:

تتعرّض طوائف نحل العسل الأوروبي *Apis mellifera* L. عالمياً للعديد من الآفات والأمراض التي سببت ضرراً اقتصادياً خطيراً على كلٍّ من النحالة والزراعة، وخفضت عدد الطوائف الصحية لدى النحالين بصورةٍ كبيرة، بالإضافة إلى الفقد في منتجات خلية النحل (Begna, 2015). تُعدّ فراشة الشمع الكبيرة *Galleria mellonella* L. من أهمّ آفات النحل التي تُحدث ضرراً كبيراً في تربية النحل (Ararso and Legesse, 2016)، والمتلف الرئيس لأقراص الشمع، بسبب عادات التغذية، والأنفاق التي تُحدثها داخل الأقراص (Mohamed *et al*, 2014). تطوّرت طرائق مكافحة فراشة الشمع الكيميائيّة، وغير الكيميائيّة، في المخازن على الأقراص المخزنة. حيث تُعدّ طريقة التجميد، والتسخين واستعمال ديوكسيد الكربون تدخيناً مثالاً عن المكافحة غير الكيميائيّة لحماية الأدوات المخزنة، كما استُخدم في مكافحة فراشة الشمع كيميائياً كلٌّ من الاسيتك أسيد، والإيثيلين والسيانيد، والإيثيلين ديبروميد، والميثيل بروميد، والفوسفين (الفوستوكسين) والتي أُستعملت تدخيناً بنجاح في مكافحة فراشة الشمع في المخازن (Hood *et al*., 2003). ونظراً للأثر المتبقي للمبيدات الكيميائية المستخدمة، وتأثيرها السمي في نحل العسل، تطلب ذلك إيجاد بدائل مناسبة لمكافحة الحشرة، وقد أكّد Bagdanove *et al*., (2004) بأنّ من الطرائق الآمنة في مكافحة فراشة الشمع الكبيرة هي استعمال البكتيريا Bt، كما ذكر Diegoh and Benintende, (2008) أيضاً أنّ البكتيريا لها تأثير واسع الطيف ضد حرشفيات الأجنحة. تنتمي البكتيريا *Bacillus thuringiensis* Berliner للعائلة *Bacillaece* وهي بكتيريا موجبة غرام، هوائية متبوغة، إضافةً إلى إنتاجها بلورات تشكّل توكسينات داخلية محتوية واحد أو أكثر من البروتينات (Schnepf *et al*, 1998; Öztürk *et al*, 2008). فالمنتجات الميكروبيّة المحتوية على البكتيريا Bt تزوّدنا بمكافحة ممتازة لفراشة الشمع على الشمع المخزن (Hood *et al*., 2003). إنّ إيجاد عزلات محلية من *B. thuringensis* قد تحقق مكافحة حيوية متميزة للآفات الحشرية ضمن الظروف البيئية المحليّة، بالإضافة إلى إمكانيّة إنتاجها الكمي، والعمل على إدخالها ضمن برامج المكافحة المتكاملة للحشرات الاقتصادية. لذلك تهدف هذه الدّراسة إلى توصيف عزلات بكتيرية محلية من الجنس *Bacillus* مأخوذة من يرقات فراشة الشمع الميتة، من البيئة المحلية، وتقييم قدرتها الإمراضيّة على يرقات فراشة الشمع.

مواد البحث وطرائقه:

جمع العينات:
جُمعت أقراص شمع نحل العسل المخزنة والمصابة بفراشة الشمع من عدة مناحل من محافظة درعا جنوبي سورية عامي 2011–2012، تمّت تربية فراشة الشمع في مختبر بحوث الحشرات التابع للهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، جُمعت اليرقات الميتة التي ظهرت عليها أعراض الاصابة، وعُزل المسبب المرضي منها في مخبر بحوث الأمراض.

عزل البكتيريا:
تمّ تعقيم سطح اليرقات بالإيتانول 70%، ثم وضعت في طبق بتري معقم، وغسلت بالماء المقطر والمعقم لمرتين، ثم وضعت في أنابيب معقمة ،وأضيف لها 0.5 مل من الماء المقطر والمعقم، وتم سحقها بواسطة قضيب من البورسلين المعقم، وترك المعلق الناتج لمدة 10 دقائق، وضع المعلق في حمام مائي على درجة حرارة 80 °م لمدة 15 دقيقة بعد أن أضيف له أسيتات الصوديوم (Travers *et al*., 1987)، ونشر 100 ميكروليتر من المعلق الناتج على أطباق بتري تحوي الوسط المغذي NA، ثم حضّنت الأطباق على درجة حرارة 30 °م لحين ظهور المستعمرات البكتيريّة على سطح الوسط المغذي، ثم نُقيت المستعمرات بإعادة زراعتها على الوسط NA (Priyadharshini *et al*., 2008).

الاختبارات البيوكيميائية:
تمّ تمييز البكتيرية باستخدام عدّة اختبارات كصبغة غرام، واختبار التنفس، واختبار الأوكسيداز، وإنتاج الحمض من سكر الغلوكوز، واللاكتوز، والسكروز، والمانيتول، والانتفاع من السيترات (Martin and Traversm, 1989).

الفحص المجهري:
تمّ تنمية البكتيريا تبعاً لطريقة Travers *et al*., (1987)، وذلك على الوسط المغذي LB (Luria-Bertani) لمدة 48 ساعة، ثم أخذ المعلق 100 ميكروليتر، أضيف إلى دورق يحوي 100 مل من الوسط المغذي T3 (لكل ليتر: 3غ tryptone، 2غ tryptose، 1.5غ yeast extract، 0.05 M sodium phosphate PH 6.8، و0.005 غ من MnCl)، وحضّنت على درجة حرارة 30 °م لمدة 24 ساعة. فُحصت الخلايا البكتيرية *Bacillus* تحت المجهر الضوئي المتباين الطور (phasecontrast) وذلك باستخدام العدسة تكبير x 1000 (Öztürk *et al*., 2008; Keshavarzi, 2008).

الاختبار الحيوي:

تحضير المزرعة الحشرية:
تمّت تربية دودة الشمع الكبيرة *G. mellnella* في علب بلاستيكية ذات غطاء بأبعاد 55×65×120 مم على بيئة صناعية (250غ عسل، 220غ غليسرين، 340غ دقيق قمح، 100غ خميرة جافة، 50غ شمع نحل العسل، 21.75غ من مادة النيباجين Methyl paradoxy benczoate)، تمّ خلط كل من الدقيق، والخميرة، ومادة النيباجين خلطاً جيداً، ثم أُضيف إلى المخلوط الغليسرين، ثم العسل، والشمع، ثم عُقِّمت البيئة في الأوتوكلاف لمدة نصف ساعة (توفيق، 1993)، وتمّ تحضين العُلب على درجة حرارة 28.5 °م ورطوبة نسبية 57% (العلان وآخرون، 2001).

تقدير كفاءة العزلات البكتيرية المدروسة:
دُرست كفاءة العزلات البكتيرية Bt المتحصّل عليها من خلال تحضير معلق بكتيري لكلّ عزلة من العزلات المدروسة بتركيز 10^8 cfu/ml (Carozzi *et al*., 1991; Meadows *et al*., 1992)، أُضيف إلى بيئة التغذية الصناعية المعدة لتربية يرقات دودة الشمع 1 مل معلق/10غ بيئة، ومزجت معها بشكلٍ جيد، وبعد تجفيفها على درجة حرارة الغرفة ،تمّ تقديمها إلى يرقات دودة الشمع الكبيرة المستخدمة في الاختبار. نُفذت التجربة بثلاثة مكررات لكلّ عزلة و10 يرقات/مكرر، حيث وضعت كل وحدة تجريبية في طبق بتري، وحضّنت على درجة حرارة 25 °م وأخذت القراءات بعد 24– 48– 72– 96– 120 ساعة من التغذية، وتمّ إضافة الكمية نفسها من الماء المقطر إلى البيئة التي غُذيت عليها يرقات الشاهد، من أجل تصحيح نسبة القتل باستخدام معادلة Abbott، 1925 (Obeidat, 2008; Öztürk *et al*., 2008).

$$\text{تصحيح نسبة القتل \%} = \frac{\text{عدد الأفراد الحية في المعاملة بعد نهاية التجربة}}{\text{عدد الأفراد الحية في الشاهد بعد نهاية التجربة}} \times 100$$

حللت النتائج الاختبار الحيوي للبكتيريا Bt إحصائياً باستخدام LSD عند مستوى احتمالية 0.01 باستخدام برنامج التحليل الاحصائي CoStat 6.8 (CoStat, 2008).

النتائج والمناقشة:

كانت المستعمرات البكتيرية ذات شكل دائري مسطحة، منتظمة الحواف، وكريمية اللون غير شفافة، وأثبتت الاختبارات البيوكيميائية أنّ جميع العزلات موجبة غرام، هوائية إجبارياً، لا تنتج الحمض من الغلوكوز، واللاكتوز، والمانيتول، عدا السكروز، وتقوم بتحليل الجيلاتين، والأرجنين، ولا تحلل النشاء (الجدول 1).

الجدول 1. الاختبارات البيوكيميائية للبكتيريا المختبرة.

الاختبار		العزلة المختبرة						
		Bt1	Bt2	Bt3	Bt4	Bt5	Bt6	Bt7
صبغة غرام		+	+	+	+	+	+	+
شكل الخلية		عصوي	عصوي	عصوي	عصوي	عصوي	عصوي	عصوي
اختبار التنفس		-	-	-	-	-	-	-
إنتاج الأبواغ		+	+	+	+	+	+	+
اختبار الأوكسيداز		+	+	+	+	+	+	+
إنتاج الحمض	الغلوكوز	-	-	-	-	-	-	-
	اللاكتوز	-	-	-	-	-	-	-
	السكروز	+	+	+	+	+	+	+
	المانيتول	-	-	-	-	-	-	-
تحلل النشاء		-	-	-	-	-	-	-
تحلل الأرجنين		+	+	+	+	+	+	+
إنتاج البلورات		+	+	+	+	+	+	+

أظهر الفحص المجهري الشكل العصوي للخلايا البكتيريّة، بالإضافة إلى ظهور الأكياس البوغية المحتوية على الأبواغ، وتبعاً للاختبارات البيوكيميائيّة والفحص المجهري تبيّن أنّ العزلات المختبرة تنتمي للبكتيريا Berliner *B. thuringiensis*.

بالنسبة للاختبار الحيوي، لوحظ انخفاض شهية واستهلاك اليرقات للغذاء نتيجة الإصابة بالبكتيريا، بالإضافة لظهور بقع أو مناطق سوداء على جسم اليرقات المصابة، وهذه الأعراض متشابهة عند معظم يرقات حرشفيات الأجنحة عندما تصاب بالبكتيريا *B. thuringiensis* وهذا يتفق مع ما ذكره Tanada, 1953، وبعد موتها يتغيّر لونها من اللون الفاتح إلى البني الداكن ثم الأسود. بدأت اليرقات بالموت بعد 24 ساعة من بدء التغذية، وتراوحت نسبة القتل بعد 72 ساعة 6.67 و36.67% للعزلتين Bt4 و Bt5، وانخفض موت اليرقات في جميع العزلات بعد 96 ساعة باستثناء العزلة Bt5 والتي استمر تأثيرها حتى 20 يوما (الجدول 2).

الجدول 2. عدد يرقات فراشة الشمع الميتة بعد تغذيتها على بيئة معداة بمعلق بكتيري للعزلات المختبرة.

	القراءة بعد التغذية/ ساعة	رقم العزلة							الشاهد	المجموع
		1	2	3	4	5	6	7		
عدد اليرقات الميتة	24	0	3	0	2	5	3	4	0	17
	48	5	1	0	0	4	0	3	0	13
	72	0	0	5	0	2	0	0	0	7
	96	3	0	0	1	3	0	0	0	7
	120	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	384	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	480	1	0	3	3	8	1	0	0	16
	المجموع	9	4	8	6	22	4	7	1	61

تراوح متوسط يرقات فراشة الشمع الميتة ما بين 13.3 و73.3% وبفاعلية قدرها 10.34 و72.41% للعزلات Bt2 وBt5 على التوالي، وكان الفارق معنوياً بين العزلة Bt5 وبقية العزلات عند مستوى احتمالية 0.01، كذلك كان الفارق ظاهرياً بين العزلة Bt1 والعزلات Bt2 وBt3 وBt4 وBt6 وBt7 (الجدول 3).

الجدول 3. القدرة الإمراضية لعزلات محلية من البكتيريا الممرضة للحشرات (Bt) *B. thuringiensis* على يرقات فراشة الشمع الكبيرة مخبرياً

	رقم العزلة							الشاهد
	1	2	3	4	5	6	7	
متوسط نسبة اليرقات الميتة بعد 20 يوم من المعاملة %	30 **b**	13.3 **bc**	26.7 **bc**	20 **bc**	73.3 **a**	13.3 **bc**	23.3 **bc**	0.33 **c**
تصحيح نسبة الموت %	27.59	10.34	24.14	17.24	72.41	10.34	20.69	
LSD 0.01 = 2.529								

القيم المتبوعة بأحرف متشابهة لا يوجد بينها فروق معنوية عند مستوى احتمالية 0.01

يُعود التباين في نسبة القتل ليرقات فراشة الشمع بين العزلات Bt المختبرة إلى اختلاف طرزها الوراثية، حيث يمتاز كلّ طرز وراثي Bt بإنتاجه لشكل مختلف من البلورات السامة، متخصص لنوع محدد من الآفات الحشرية (Schnepf *et al.*, 1998; Öztürk *et al.*, 2008)، وبالتالي قد تكون العزلات الأخرى ذات فاعلية لأنواع حشرية أخرى. تبين مما سبق أنّ العزلة Bt5 قد تكون متخصصة ليرقات حرشفيات الأجنحة، مع ضرورة تجريبها على أنواع أخرى، وقد أكدّت النتائج أنّ فاعليّة العزلة وفاعليّتها تقارب ما توصل له الكثير من الباحثين، فقد وجد Öztürk *et al.*, (2008) أنّ عزلات *B. thuringiensis* (F19 ،F21) ذات فاعليّة وسميّة عالية ضد فراشة الطحين *Ephestia kuehniella* Zeller. بنسبة موت قدرها 83% و80% على التوالي. بينما أكد عزيز وآخرون، (2012) أنّ البكتريا *Bacillus thuringiensis* أدّت إلى موت الأعمار اليرقية المختلفة لعثة البندورة، إذ أدّت إلى زيادة نسبة الموت إلى 65.92، 66.55، 64.98، و70.78% لكلٍّ من العمر اليرقي الأول والثاني والثالث والرابع على التوالي، مقارنةً بالشاهد الذي لم يظهر فيه أي نسبة موت على الأعمار اليرقية.

بينما أظهرت العزلات البكتيريا Bt المختبرة من قبل Lonc *et al.*, (1997) كفاءةً منخفضة (أقل من 50%) ضد يرقات ذبابة الفاكهة fruitfly (*Drosophila melanogaster*)، وحوريات الصرصور cockroaches (*Blattella* Spp.)، وتأثير سمي مرتفع أعلى من 90% ضد يرقات الذبابة المنزلية *Musca domestica* L. بناءً على الجرعة المستخدمة لكلّ آفة.

الاستنتاجات:

يجب اختبار العزلات المتحصّل عليها من هذه الدّراسة على آفاتٍ حشرية أخرى تتبع رتب متنوعة، واختبارها ضمن ظروف حقلية وشبه حقلية وانتقاء الأفضل، مع ضرورة الاستمرار في البحث عن عزلات بكتيرية جديدة من التربة أو من الحشرات الميتة ولا سيما من فراشة الشمع وفراشة الطحين، والتعمق في دراستها لتحديد شكل البللورات (البروتين السام)، وتحديد الحشرات المستهدفة لكلّ عزلة، وبالتالي إكثارها وتوزيعها بصورة تجارية.

المراجع:

العلان، محمد (2001). حصر الأعداء الحيوية لدودة الشمع *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae) المنتشرة في سوريا و تقييم كفاءتـه. رسالة ماجستير. قسم وقاية النبات، كلية الزراعة، جامعة دمشق، سورية. 94 صفحة.

توفيق، محمد فؤاد (1993). المكافحة البيولوجية للآفات الحشرية. كلية الزراعة، جامعة القاهرة، مصر. مطابع وحدة، الخدمات البستانية، وزارة الزراعة 381 صفحة.

عزيز، عباس خضير وعلوان لطيف صباح وهلال محمد سعدي وكريم عبد الحسين علي (2012). المكافحة الحيوية لعثة الطماطم الامريكية الجنوبية *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) مختبرياً. مجلة الكوفة للعلوم الزراعية. 4 (1): 195-209.

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

Ararso, Z.; and G. Legesse (2016). Insecticidal action of honeybees propolis extract against larvae of lesser wax moth. Agriculture and Biology Journal of North. America. 7(6): 302-306.

Bagdanov, S.; V. Kilchenmann; K. Seiler; H. Pfefferli; T. Frey; B. Roux; P. Wenk; and J. Noser (2004). Residues of paradichorobenzene in honey and bees wax. Journal of Apicultural Research. 43: 14-16.

Begna, D. (2015). Honeybee diseases and Pests research progress in Ethiopia: A Review. African Journal of Insect. 3(1): 093-096.

Carozzi, N.; V. Kramer; G. Warren; S. Evola; M. Koziela (1991). Prediction of insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* strains. Applied and Environmental of Microbiology. 57: 3057-3061.

CoStat, (2008). CoStat program, version 6.4. CoHort Software, Monterey, CA., USA.

Diegoh, S.; and B.G. Benintende (2008). *Bacillus thuringiensis*, genevalidades, un acercamiento a (suempleo enel biocontrol de insectos lepidopteros que son plagas revista. Argentina De Microbiologia. 40: 124-140.

Hood, W.M.; P.M. Horton; and J.W. McCreadie (2003). Field evaluation of the red imported fire ant (*Hymenoptera*: *Formicidae*) for the control of wax moths (*Lepidoptera*: *Pyralidae*) in stored honey bee comb. J. Agric. Urban Entomol., 20 (2):93-103.

Lonc, E.; M.M. Lecadet; T.M.L. achowicz; and E. Panek (1997). Description of *bacillus thuringiensis* wratislaviensis (h-47) a new serotype originating from wroctaw (poland), and other Bt soil isolates from the same area. Letters in Applied Microbiology. 24: 467-473.

Martin, Ph.A.W.; and R.S. Travers (1989). Worldwide abundance and distribution of *Bacillus thuringiensis* isolates. Applied and Environmental Microbiology. 55(10):2437-2442.

Meadows, M.; D. Ellis; J. Butt; P. Jarrett; and H. Burges (1992). Distribution frequency and diversity of *Bacillus thuringiensis* in animal feed mill. Applied and Environmental Microbiology. 58: 1344- 1350.

Mohamed, E.A.; M.J. Ansari; A. Al-Ghamdi; M.O. Mohamed; and M. Kaur (2014). Effect of larval nutrition on the development and mortality of *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). Revista Colombiana de Entomología. 40(1): 49-54.

Obeidat, M. (2008). Toxicity of local *Bacillus thuringiensis* isolates against *Drosophila melanogaster*. World Journal of Agricultural Sciences. 4(2).: 161- 167.

Priyadharshini, P.; C. Mahalingam; and K. Shashidhar (2008). Identification and characterization of bacterial pathogens in silkworm, *Bombyx mori* L. Current Biotica. 2: 181- 192.

Öztürk, F.; L. Açık; A. Ayvaz; B. Bozdoğan; and Z. Suludere (2008). Isolation and characterization of native *Bacillus thuringiensis* strains from soil and testing the bioactivity of isolates against *Ephestia Kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. Turkish Journal of Biochemistry. Turk J. Biochem., 33(4): 202–208.

Schnepf, E.; N. Crickmore; J. Van Rie; D. Lereclus; J. Baum; J. Feitelson; D.R. Zeigler; and D. Dean (1998). *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. Microbiol. Mol. Biol. Rev., 62:775-806.

Tanada, Y. (1953). Susceptibility of the imported cabbageworm to *Bacillus thuringiensis* Berliner. Proceedings of Howoiion Entomologicol Society. 15(1): 159-166.

Isolation of local *Bacillus* spp. Strains and Testing its Efficiency Against Wax Worm *Galleria mellonella* L. Larvae in Laboratory

Mohammad AL-Allan*(1) Nouraldin Daher-hjij(1) Nabeel Beig(1) Mahabba Ghannam(2) and Adel Almanoufi(2)

(1). Department of Entomology, Administration of Plant Protection Research, General Commission for Scientific Agricultural Research (GCSAR). Damascus, Syria.
(2). Department of Plant Diseases, Administration of Plant Protection Research, GCSAR., Damascus, Syria.
(*Corresponding author: Dr. Mohammad AL-Allan. Email: allanmhd@gmail.com).

Received: 05/06/2018 Accepted: 05/08/2018

Abstract

This study was carried out to determine the efficiency of local *Bacillus* isolates to control large wax moth larvae (*Galleria mellonella* L.) at GCSAR laboratory in 2012. Infected larvae were collected from stored wax combs, and the bacteria *Bacillus* genus were isolated from dead larvae, or that showing disease symptoms of black brown spots on larvae cuticle. Bacterium was grown on T3 medium and identified according to biochemical tests, and the efficacy of isolates was determined on pure colonies of larvae. The results of biochemical tests showed that the isolates belong to *Bacillus thuringiensis*. Isolates were different in pathogenicity. Bt5 isolate was the most efficient to kill the larvae of large wax moth (72.4 %), and significantly superior all other isolates ($p \leq 0.01$). Bt1 isolate showed a significant difference with control but non-significant difference with Bt2, Bt3, Bt4, Bt6 and Bt7 isolates.
Keywords: *Bacillus thuringiens*is, Entomopathogenic Bacteria, Wax worm, Local isolates.