

افزایش کارایی حشره‌کشی و رفع اثر تاخیری خاک دیاتومه‌ی سایان علیه حشرات کامل شپشه‌ی *Myrtus communis* L. برنج *Sitophilus oryzae* L.، در ترکیب با اسانس مورد

ملیحه ریحانی^۱، محسن یزدانیان^{۲*} و علی افشاری^۲

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده‌ی تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

۲- به ترتیب استادیار و دانشیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده‌ی تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

* نویسنده مسئول: mohsenyazdanian@gau.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۴/۷/۱۵

تاریخ دریافت: ۹۴/۳/۱۷

چکیده

در این پژوهش، اثر حشره‌کشی خاک دیاتومه‌ی سایان در ترکیب با فرمولاسیون ام‌جی حاوی اسانس گیاه مورد *Myrtus communis* L. روی حشرات کامل شپشه‌ی برنج *Sitophilus oryzae*، بررسی شد. پنج دز ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم سایان بر یک کیلوگرم غله در ترکیب با چهار غلظت صفر و مقادیر برآورد شده LC_{10} ، LC_{20} و LC_{50} ام‌جی (به ترتیب برابر با ۱۲۶۷، ۱۷۹۰ و ۳۴۵۱ میکرولیتر بر لیتر هوا) بررسی شدند. آزمایش‌ها در دمای $26 \pm 2^\circ C$ ، رطوبت نسبی $65 \pm 5\%$ و $L:D$ ۱۶:۸ انجام شدند. مرگ و میر حشرات کامل روی دانه‌های گندم پس از ۴۸ و ۷۲ ساعت در چهار تکرار محاسبه گردید. برای بررسی تولید نتاج، حشرات کامل زنده و مرده پس از ۷۲ ساعت از ظروف حذف و تعداد حشرات کامل ظاهر شده (به تفکیک زنده و مرده) پس از ۴۵ و ۹۰ روز شمارش شد. درصد مرگ و میر در ترکیب تیماری سایان به تنهایی پس از ۷۲ ساعت نیز در دز ۱/۵ گرم بر کیلوگرم برابر با ۱۶/۶۶ درصد بود. استفاده‌ی ترکیبی ظرف ۲۴ ساعت باعث افزایش معنی‌دار میزان مرگ و میر شد به طوری که طی ۴۸ و به ویژه ۷۲ ساعت بسیار قابل توجه بود و از حدود ۸۰ درصد در ترکیب تیماری LC_{10} -۰/۱۲۵ گرم بر کیلوگرم طی ۴۸ ساعت به حدود ۱۰۰ درصد در ترکیب تیماری LC_{50} -۱/۵ گرم بر کیلوگرم رسید. در هیچ یک از ترکیب‌های تیماری حاوی اسانس نتاجی تولید نشد و نتاج نسل‌های F_1 و F_2 تنها در اثر استفاده‌ی انفرادی از سایان ظاهر شدند. نتایج این تحقیق افزایش قابل توجه اثر حشره‌کشی خاک دیاتومه‌ی سایان و نیز رفع اثر تاخیری آن (کاهش زمان در معرض‌گذاری از حدود بیش از ۱۴ روز به حدود ۷۲ ساعت) را در ترکیب با اسانس مورد نشان دادند که می‌تواند در امر مبارزه با آفات انباری مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: اثر ترکیبی، ام‌جی، سایان، شپشه‌ی برنج، کارایی حشره‌کشی.

مقدمه

خسارت جهانی حشرات، عوامل میکروبی و سایر عوامل به فراورده‌های انباری سالانه حدود ۱۰ تا ۲۵ درصد تخمین زده شده است (موهان و فیلدز ۲۰۰۲). در بین حشرات، سخت‌بالپوشان بدون تردید بیشترین خسارت را به فراورده‌های انباری وارد می‌کنند. به بیان دیگر، خطرناک‌ترین دشمنان مواد انباری به این راسته از حشرات تعلق دارند. در این میان، سرخرطومی‌ها از لحاظ تعداد گونه و میزان زیان‌هایی که به محصولات کشاورزی وارد می‌کنند، یکی از مهم-

با افزایش رشد جمعیت در کشورهای در حال توسعه انتظار می‌رود که در سال ۲۰۳۰ میلادی میزان نیاز جهانی به غذا تا دو و در کشورهای جهان سوم نیز از دو و نیم تا سه برابر افزایش یابد (دیلی و داسیو پتا ۱۹۹۸). ذخیره‌سازی بهینه‌ی فراورده‌های انباری به ویژه مواد غذایی راهبردی (غلات، حبوبات، دانه‌های روغنی و غیره) برای هر کشوری از اهمیت خاص برخوردار می‌باشد (باقری زنوز ۱۳۸۶).

کاهش‌دهنده‌ی لایه‌ی ازون است از سال ۲۰۰۵ بر اساس عهدنامه‌ی مونترآل در کشورهای پیشرفته متوقف شده و از سال ۲۰۱۵ نیز باید در کشورهای در حال توسعه متوقف شود (هیکیو و همکاران ۲۰۰۰). فسفین نیز از جمله ترکیبات مهمی است که به دلیل کاربرد وسیع و مقاوم شدن آفات، استفاده از آن محدود شده است (لی و همکاران ۲۰۰۱).

با توجه به محدودیت‌هایی که همواره بر سر راه استفاده از سموم شیمیایی وجود داشته‌اند، نگاه‌ها به سمت استفاده از روش‌های کنترلی جایگزین شامل ترکیب‌های گیاهی، تنظیم‌کننده‌های رشد حشرات، کنترل زیستی، کنترل میکروبی و گردهای خنثی معطوف گردیده‌اند (آرتور ۱۹۹۶). از این میان، متابولیت‌های ثانویه‌ی گیاهی علیه آفات مختلف دارای اثرات زیستی می‌باشند (هوانگ و هو ۱۹۹۸، تاپوندجو و همکاران ۲۰۰۲). اسانس‌های گیاهی نیز که جزو متابولیت‌های ثانویه هستند (پارک و همکاران ۲۰۰۳) علاوه بر دارا بودن سمیت پایین برای پستانداران (تاپوندجو و همکاران ۲۰۰۵)، علیه حشرات دارای سمیت تنفسی شدید، فعالیت‌های دورکنندگی و ضدتغذیه‌ای و نیز اثرات زیان‌آور تولید مثلی می‌باشند (شایا و همکاران ۱۹۹۷، ایسمان ۲۰۰۶ و ۲۰۰۰، شاکرمی و همکاران ۲۰۰۳). اسانس گیاه مورد *Myrtus communis* L. نیز دارای اثرات زیستی گوناگونی مانند اثرات ضدباکتریایی، ضدقارچی، ضدویروسی، آنتی‌اکسیدانی، دارویی (از جمله ضدالتهابی، ضدیبابتی، ضدجهش‌زایی، قلبی-عروقی و غیره)، حشره‌کشی، حلزون‌کشی و تک‌یاخته‌کشی می‌باشد (آلکسیچ و کنزه‌ویچ ۲۰۱۴).

استفاده از گردهای خنثی، به ویژه خاک‌های دیاتومه، یکی دیگر از نویدبخش‌ترین روش‌های جایگزین مبارزه با آفات انباری می‌باشد (کورونچ ۱۹۹۸). خاک‌های دیاتومه به صورت ذرات بسیار ریزی هستند که توانایی جذب لیپیدهای روکوتیکول

ترین خانواده‌های سخت‌بالپوشان محسوب می‌شوند (باقری زنوز ۱۳۸۶).

شپشه‌ی برنج (*Sitophilus oryzae* (L.) (Col.; Curculionidae)، از جمله آفات اولیه‌ی غلات انباری در مناطق گرمسیر سراسر جهان می‌باشد. این آفت می‌تواند به تمام غلات حمله کند، ولی گندم، برنج و سایر غلات دانه‌ریز را ترجیح می‌دهد (هیل ۲۰۰۳). هم لاروها و هم حشرات کامل از انواع مختلف غلات (گندم، جو، ذرت، چاودار، سورگوم و غیره) و نیز از فراورده‌های غلات به ویژه ماکارونی تغذیه می‌کنند. ماده‌ها در داخل دانه‌ها حفره‌ای را ایجاد و در آن تخمگذاری می‌کنند و سپس توسط ترشحات تخم‌ریز خود روی آن را می‌پوشانند. لاروها با تغذیه از آندوسپرم دانه‌ها نشو و نمای خود را تکمیل می‌کنند و حشرات کامل پس از اتمام دوره‌ی شفیرگی، با ایجاد سوراخی از داخل دانه‌ها خارج می‌شوند (که‌لر ۲۰۱۵). اهمیت آلودگی غلات بر حسب منطقه و شرایط فرق می‌کند. در جنوب شرق آسیا، آفریقا و چین، حضور شپشه‌ی برنج حتی در تراکم‌های جمعیتی بالا تحمل می‌شود در حالی که در فروشگاه‌های مناطق معتدل، آلوده بودن غلات به حشرات کامل و شفیره‌های موجود در داخل دانه‌ها می‌تواند ارزش اقتصادی آن‌ها را به شدت کاهش دهد (هیل ۲۰۰۳). خسارت عمده‌ی این حشره نیز مانند شپشه‌ی گندم در درجه‌ی اول به لاروها مربوط است، ولی حشرات کامل نیز در طول زندگی از دانه‌ها تغذیه می‌کنند. میزان خسارت آن روی گونه‌های مختلف غلات بسیار شدید است به طوری که در برخی کشورها به ۷۵ درصد نیز می‌رسد (باقری زنوز ۱۳۸۶).

برای کنترل آفات انباری از سموم شیمیایی (مانند حشره‌کش‌های آلی فسفره، پیریتروئیدها و سموم تدخینی مانند متیل بروماید و فسفین) که جزو معمول‌ترین روش‌های کنترل آفات به شمار می‌روند، استفاده می‌شود (پارک و همکاران ۲۰۰۳، کلجایچ و پریچ ۲۰۰۶). از این میان، مصرف متیل بروماید که از عوامل

مش مسدود گردید تا امکان تهویه‌ی مناسب وجود داشته باشد. سپس ظروف تا نیمه از دانه‌های گندم پر و با حشرات کامل آلوده‌سازی شدند. پس از پنج نسل پرورش، حشرات کامل نسل ششم برای انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی مورد استفاده قرار گرفتند. تمام آزمایش‌ها روی دانه‌های گندم (رقم گنبد) انجام شدند.

فرمولاسیون‌های مورد استفاده

اسانس گیاهی مورد نظر (قطره‌ی موضعی ام‌جی) از داروخانه‌های شهرستان گرگان تهیه شد. این فرمولاسیون دارویی از گیاه مورد تهیه می‌شود که طبق اطلاعات مندرج در بروشور آن حاوی آلفا-پینن، ۸،۱-سینئول (اکالیپتول)، لیمونن، آلفا-ترپینئول و لینالیل استات می‌باشد و بر اساس وجود ۳۰ میلی‌گرم ۸،۱-سینئول در هر میلی‌لیتر استاندارد شده است. خاک دیاتومه‌ی مورد استفاده نیز یک فرمولاسیون تجاری به نام سایان بود که از شرکت کیمیا سبزاور خریداری شد. سایان حاوی ۸۰ درصد سیلیکا و به صورت فرمولاسیون گرد می‌باشد. شکل ظاهری آن پودری نرم به رنگ کرم یا طوسی روشن، با دانه‌بندی ذرات کمتر از ۱۰ میکرون و وزن مخصوص ۶-۵ گرم بر سانتی‌متر مکعب است. میزان مورد نیاز سایان برای کنترل موثر آفات انباری به عواملی مانند گونه‌ی حشره، میزان رطوبت، نوع فراورده و نیز دمای محیط بستگی دارد و بین ۲۰۰ تا ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام (۲/۰ تا ۲ گرم به ازای هر کیلوگرم غله) می‌باشد.

آزمایش‌های زیست‌سنجی اسانس

برای به دست آوردن غلظت‌های مربوط به مرگ و میر حدود ۲۰ و ۸۰ درصدی (بر حسب میکرولیتر بر لیتر هوا)، آزمایش‌های مقدماتی در شرایط آزمایشگاهی ذکر شده روی حشرات کامل حداکثر یک-روزه انجام شدند. در این آزمایش‌ها از تشتک‌های پتری شیشه‌ای به قطر هفت سانتی‌متر و حجم ۵۰

حشرات را دارند و به همین دلیل، در هنگام تماس با جلد بدن، لایه‌ی لیپیدی کوتیکول را جذب می‌کنند و باعث ایجاد خراش بر روی سطح آن می‌گردند. در نهایت، با از دست رفتن آب بدن، به خشک شدن بدن و مرگ حشرات منجر می‌شوند (شاه و خان ۲۰۱۴).

با توجه به اهمیت اقتصادی شپشه‌ی برنج، اثرات سوء سموم شیمیایی مرسوم، و نیز محدودیت‌های موجود بر سر راه استفاده از اسانس‌های گیاهی - مانند نیاز به غلظت‌های بالا، بر جای گذاشتن بو (لیو و هو ۱۹۹۹، ایشیکبر ۲۰۱۰)، فرار بودن، پایداری کم و قدرت نفوذ اندک به داخل مواد غذایی (ایشیکبر ۲۰۱۰) - و خاک‌های دیاتومه - مانند بروز تغییرات فیزیکی و شیمیایی در دانه‌های غلات انباری در اثر استفاده از دزهای بالای این خاک‌ها (فرئو و همکاران ۲۰۱۴) و دارا بودن اثر تاخیری - در این پژوهش امکان افزایش کارایی حشره‌کشی یک فرمولاسیون ایرانی خاک دیاتومه به نام تجاری سایان در ترکیب با اسانس فرموله شده گیاه مورد به صورت یک داروی گیاهی ایرانی (به نام قطره‌ی موضعی ام‌جی) علیه حشرات کامل این آفت مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

پرورش حشرات

حشرات کامل شپشه‌ی برنج از برنج‌ها و گندم‌های آلوده در شهر گرگان جمع‌آوری شدند و در آزمایشگاه حشره‌شناسی گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به مدت پنج نسل روی دانه‌های گندم در شرایط دمایی 26 ± 2 درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی (آتاناسیو و همکاران ۲۰۰۸a) در دستگاه ژرمیناتور نگهداری و تکثیر شدند. برای پرورش حشرات کامل از ظروف پلاستیکی مستطیلی شکل به رنگ سفید شفاف به ابعاد $24 \times 18 \times 10$ سانتی‌متر استفاده شد. قسمت میانی درب ظروف نگهداری بریده و توسط توری ۱۲۰

برای آغشته‌سازی دانه‌های گندم از روش آتاناسیو و همکاران (۲۰۰۷) استفاده گردید. برای این منظور، یک کیلوگرم گندم در درون ظروف پلاستیکی دهان‌گشاد (به قطر ۱۰ و ارتفاع ۲۲ سانتی‌متر) ریخته شد. پس از توزین مقادیر مناسب سایان مطابق با دزهای بالا، ظروف پلاستیکی به مدت تقریباً پنج دقیقه با دست تکان داده شدند تا پودر به طور یکنواخت در تمامی دانه‌ها پخش شود. آزمایش‌ها در چهار تکرار به همراه تیمار شاهد انجام شدند. برای هر تکرار، ۵۰ گرم گندم از درون ظرف پلاستیکی دهان‌گشاد برداشته و در داخل یک ظرف پلاستیکی استوانه‌ای شکل (به قطر و ارتفاع ۵ سانتی‌متر) ریخته شد. سپس، ۵۰ عدد حشره کامل یک تا سه روزه به هر ظرف اضافه شدند. در ادامه‌ی آماده‌سازی تیمارها، غلظت‌های صفر، LC_{10} ، LC_{20} و LC_{50} ام‌جی به صورت ترکیب با هر یک از دزهای سایان مورد استفاده قرار گرفتند. مقدار مورد نیاز از غلظت‌های ام‌جی با استفاده از سمپلر بر روی کاغذهای صافی تعبیه شده در سطح داخلی درپوش‌های ظروف پلاستیکی تزریق شد. سپس، برای اطمینان از عدم خروج اسانس، اطراف درپوش‌ها توسط پارافیلیم مسدود گردید و ظرف‌ها در شرایط دمایی ذکر شده نگهداری شدند. مرگ و میر حشرات کامل پس از گذشت ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت شمارش گردید. پس از هر بار شمارش مرگ و میر، به دلیل خروج اسانس از درون ظروف تیمار، اسانس‌دهی تکرار شد و برای جلوگیری از خطای ناشی از وجود بقایای اسانس از ظروف تمیز دیگری استفاده شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل (غلظت اسانس × دز سایان) و در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد.

تولید نتاج

پس از ۷۲ ساعت شمارش مرگ و میر، تمامی حشرات کامل (زنده و مرده) حذف شدند و ظروف به مدت ۴۵ روز دیگر در ژرمیناتور در همان شرایط فوق نگه‌داری گردیدند. پس از طی این مدت، ظروف باز و

میلی‌لیتر استفاده شد. در سطح داخلی درب تشتک‌های پتری کاغذ صافی (واتمن شماره ۱) قرار داده شد تا اسانس با سمپلر روی آن ریخته شود. برای حذف اثر تماسی و تماس حشرات با کاغذ صافی، روی کاغذهای صافی با توری سفید ۱۲۰ مش پوشانده شد. در هر تشتک پتری از ۳۰ عدد حشره‌ی کامل حداکثر یک‌روزه استفاده گردید و برای جلوگیری از خروج اسانس، اطراف درب تشتک‌های پتری با پارافیلیم مسدود شد. آزمایش‌ها در چهار تکرار به همراه تیمار شاهد انجام شدند (آتاناسیو و همکاران ۲۰۰۳ و ۲۰۰۷). تشتک‌های پتری در شرایط آزمایشگاهی ذکر شده در داخل ژرمیناتور قرار داده شدند و پس از گذشت ۲۴ ساعت، تعداد حشرات کامل مرده شمارش شد. برای اطمینان از مرده بودن حشرات کامل، افرادی که مرده به نظر می‌رسیدند در داخل یک تشتک پتری شیشه‌ای گذاشته و مدتی بعد توسط استریومیکروسکوپ مشاهده می‌شدند. حشراتی که با تحریک سوزن قادر به حرکت دادن پنجه‌های پاها و شاخک‌های خود نبودند، مرده تلقی شدند. بر اساس نتایج آزمایش مقدماتی، با استفاده از فرمول فاصله‌ی لگاریتمی (حسینی نوه و قدمیاری ۱۳۹۲) چهار غلظت میانی تعیین گردیدند و آزمایش‌های اصلی همانند فوق در چهار تکرار به همراه شاهد انجام شدند. در نهایت و به روش تجزیه‌ی پروبیت، مقادیر LC_{10} ، LC_{20} و LC_{50} (به ترتیب برابر با ۱۲۶۷، ۱۷۹۰ و ۳۴۵۱ میکرولیتر بر لیتر هوا) برآورد شدند.

آزمایش‌های بررسی اثر ترکیبی

به دلیل نحوه‌ی اثر سایان که از نوع تماسی می‌باشد، و نیز تغذیه‌ی لاروهای سرخرطومی برنج از درون دانه‌های گندم، آزمایش‌های مربوط به این فرمولاسیون به روش تماس با سطوح سمی و روی حشرات کامل انجام شدند. دزهای سایان برابر با ۱/۲۵، ۰/۲۵، ۰/۱۰، ۱ و ۱/۵ گرم بر کیلوگرم گندم انتخاب شدند (آتاناسیو و همکاران ۲۰۰۳).

در هر سه دوره‌ی زمانی در معرض‌گذاری، درصد مرگ و میر حشرات کامل پس از ۲۴ ساعت با افزایش دز سایان و غلظت ام‌جی افزایش یافت. پس از ۲۴ ساعت، اثرات اصلی غلظت ام‌جی ($F_{3,60} = 106.66; P = 0.0000$) و دز سایان ($F_{4,60} = 18.99; P = 0.0000$) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند ولی اثر متقابل این دو فاکتور ($F_{12,60} = 0.3468; P = 0.0000$) غیرمعنی‌دار بود. کمترین میانگین‌های مرگ و میر (صفر تا ۴/۵ درصد) در ترکیب‌های تیماری غلظت صفر ام‌جی - دزهای مختلف سایان (در واقع استفاده‌ی انفرادی از خاک دیاتومه) مشاهده شدند. بیشترین درصد‌های مرگ و میر به ترکیب‌های تیماری غلظت LC_{50} ام‌جی با دزهای یک و ۱/۵ گرم بر کیلوگرم سایان تعلق داشتند که اختلاف آن دو با هم غیرمعنی‌دار ولی با میانگین‌های سایر تیمارها در سطح احتمال یک درصد دارای اختلاف معنی‌دار بود. میانگین مرگ و میر با استفاده از این دو ترکیب تیماری به ترتیب به ۳۹/۵ و ۴۵/۵ درصد رسید (جدول ۱).

پس از ۴۸ ساعت، اثرات اصلی غلظت ام‌جی ($F_{3,60} = 12.94; P = 0.0000$) و دز سایان ($F_{4,60} = 1665.58; P = 0.0000$) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بودند ولی اثر متقابل این دو فاکتور ($F_{12,60} = 1.18; P = 0.3179$) غیر معنی‌دار بود. همانند قبل، کمترین مرگ و میر در اثر استفاده‌ی انفرادی از سایان مشاهده شد و میانگین‌های آن در دزهای ۰/۱۲۵ تا ۱/۵ گرم بر کیلوگرم، ۰/۷۵ تا ۱۱/۰۲ درصد بودند. بیشترین میزان مرگ و میر نیز در ترکیب‌های تیماری LC_{50} با دزهای مختلف سایان مشاهده شد که با هم اختلاف معنی‌دار نداشتند. مرگ و میر در ترکیب اسانس با دزهای یک و ۱/۵ گرم بر کیلوگرم به ۱۰۰ درصد رسید (جدول ۲).

حشرات کامل نسل F1 بر حسب زنده و مرده شمارش و از ظروف حذف شدند. این آزمایش برای نسل F2 نیز پس از گذشت ۴۵ روز دیگر تکرار شد. آزمایش‌ها برای هر دز سایان به صورت یک طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار (چهار غلظت اسانس) و چهار تکرار انجام شدند (آتاناسیو و همکاران ۲۰۰۵).

تجزیه و تحلیل‌های آماری

آزمایش‌ها به صورت فاکتوریل (دز سایان × غلظت ام‌جی) در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا شدند. داده‌های مربوط به زیست‌سنجی اسانس با نرم‌افزار PoloPlus ver. 2.0 تجزیه‌ی پروبیت شدند. برای اصلاح مرگ و میر تیمارها نسبت به شاهد از فرمول آبوت (آبوت ۱۹۲۵) استفاده شد. داده‌های مربوط به مرگ و میر و تولید نتاج با استفاده از نرم‌افزار آماری MSTAT-C تجزیه‌ی واریانس شدند. داده‌های مربوط به ۲۴ ساعت در معرض‌گذاری، غیرنرمال بودند که با استفاده از تبدیل جذری نرمال شدند. مقایسه میانگین‌ها به روش LSD در سطح احتمال یک درصد انجام شد.

نتایج

مرگ و میر حشرات کامل

طبق نتایج، اثرات اصلی غلظت ام‌جی ($F_{3,180} = 2278.30; P = 0.0000$)، دز سایان ($F_{4,180} = 25.59; P = 0.0000$) و زمان در معرض‌گذاری ($F_{2,180} = 2991.01; P = 0.0000$) و نیز اثرهای متقابل غلظت ام‌جی × زمان در معرض‌گذاری ($F_{6,180} = 293.75; P = 0.0000$) و غلظت ام‌جی × دز × زمان در معرض‌گذاری ($F_{24,180} = 2.78; P = 0.0001$) در سطح احتمال یک درصد ولی اثرهای متقابل غلظت ام‌جی × دز ($F_{12,180} = 1.85; P = 0.0428$) و دز × زمان در معرض‌گذاری ($F_{8,180} = 2.064; P = 0.0415$) در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بودند.

جدول ۱- میانگین ($\pm SE$) درصد مرگ و میر حشرات کامل شپشه‌ی برنج در تیمارهای ترکیبی خاک دیاتومه- اسانس گیاهی پس از ۲۴ ساعت در معرض گذاری بر روی گندم.

دز سایان (گرم بر کیلوگرم غله)					
۱/۵	۱	۰/۵	۰/۲۵	۰/۱۲۵	صفر
۴/۵±۰/۵ efg	۳/۵±۰/۵ fg	۱±۰/۵۷ gh	۱/۵±۰/۵ gh	۰±۰ h	غلظت اسانس
۲۲/۵±۲/۲۱ b	۱۹±۲/۶۴ bcd	۱۴/۵±۲/۵ bcd	۱۱/۵±۲/۲۱ cde	۱۲±۴/۶۹ de	۱۲۶۷ (میکرولیتر بر لیتر هوا)
۲۲/۵±۴/۶ b	۱۸/۵±۴/۸ bcd	۱۲/۵±۲/۱۹ bcd	۹/۵±۰/۹۳ def	۱۳/۵±۱/۷۸ bcd	۱۷۹۰
۴۵/۵±۳/۷۷ a	۳۹/۵±۲/۸۷ a	۲۲±۳/۵۶ bc	۱۸±۳/۳۶ bcd	۱۸±۲/۸۳ bcd	۳۴۵۱

کلیدی میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه با هم اختلاف معنی دار دارند (آزمون LSD، سطح احتمال یک درصد).

جدول ۲- میانگین ($\pm SE$) درصد مرگ و میر حشرات کامل شپشه‌ی برنج در تیمارهای ترکیبی خاک دیاتومه- اسانس گیاهی پس از ۴۸ ساعت در معرض گذاری بر روی گندم.

دز سایان (گرم بر کیلوگرم غله)					
۱/۵	۱	۰/۵	۰/۲۵	۰/۱۲۵	صفر
۱۱/۰۲±۳/۶۸ g	۹/۵±۱/۰۱ g	۲/۵±۰/۵۲ g	۱/۲±۰/۴۸ g	۰/۷±۰/۴۸ g	غلظت اسانس
۹۱±۴/۷۹ bcd	۹۰/۵±۲/۶۳ bcd	۸۵±۱/۷۳ def	۸۴±۱/۴۱ def	۷۹±۳/۳۱ f	۱۲۶۷ (میکرولیتر بر لیتر هوا)
۹۷/۴±۱/۸۹ ab	۹۲/۴±۱/۲۶ abcd	۸۸/۴±۱/۴ cde	۸۰/۴±۳/۳۱ ef	۸۸/۴±۲/۹۷ cde	۱۷۹۰
۱۰۰±۰/۰ a	۱۰۰±۰/۰ a	۹۶/۹±۱/۹۲ abc	۹۵±۲/۳۸ abc	۹۶/۹±۰/۹۹ abc	۳۴۵۱

کلیدی میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه با هم اختلاف معنی دار دارند (آزمون LSD، سطح احتمال یک درصد).

جدول ۳- میانگین ($\pm SE$) درصد مرگ و میر حشرات کامل شپشه‌ی برنج در تیمارهای ترکیبی خاک دیاتومه- اسانس گیاهی پس از ۷۲ ساعت در معرض گذاری بر روی گندم.

دز سایان (گرم بر کیلوگرم غله)					
۱/۵	۱	۰/۵	۰/۲۵	۰/۱۲۵	صفر
۱۶/۶±۳/۳۱ b	۱۱/۶±۱/۷۶ b	۳/۷±۱/۳۳ c	۱/۵±۰/۲۸ c	۱/۵±۰/۵ c	غلظت اسانس
۹۷±۲/۳۸ a	۹۹±۰/۷ a	۹۷/۵±۰/۹۵ a	۹۸/۵±۱/۵ a	۹۶±۱/۸۲ a	۱۲۶۷ (میکرولیتر بر لیتر هوا)
۹۹±۱ a	۹۹/۵±۰/۵ a	۹۸/۵±۰/۹۵ a	۹۷±۱/۲۹ a	۹۸±۱/۴۱ a	۱۷۹۰
۱۰۰±۰/۰ a	۱۰۰±۰/۰ a	۱۰۰±۰/۰ a	۹۹±۱ a	۹۹/۴±۰/۵۲ a	۳۴۵۱

کلیدی میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه با هم اختلاف معنی دار دارند (آزمون LSD، سطح احتمال یک درصد).

میر در اثر استفاده انفرادی از سایان مشاهده شد و از ۱۶/۶۶ درصد تجاوز نکرد. بیشترین میزان مرگ و میر در ترکیب LC_{10} ، LC_{20} و LC_{50} با دزهای مختلف سایان مشاهده شد که از ۹۶ تا ۱۰۰ درصد متغیر و با هم فاقد اختلاف معنی دار بود (جدول ۳).

پس از ۷۲ ساعت، اثرات اصلی غلظت ام‌جی ($F_{3,60}$) و دز سایان ($F_{4,60} = 9.32$; $P = 0.0000$) و نیز اثر متقابل این دو ($F_{12,60} = 5.99$; $P = 0.0000$) در سطح احتمال یک درصد معنی دار بودند. همانند دو دوره‌ی زمانی قبلی، کمترین مرگ و

جدول ۴- تولید نتاج (\pm میانگین تعداد حشرات کامل) و درصد مرگ و میر نتاج (\pm SE) شپشه‌ی برنج در اثر استفاده از دزهای مختلف سایان در ترکیب با غلظت‌های مختلف اسانس مورد در نسل‌های اول و دوم.

درصد حشرات کامل مرده ^b		تعداد نتاج ^a		غلظت اسانس	دز
نسل دوم	نسل اول	نسل دوم	نسل اول	(میکرولیتر بر لیتر هوا)	(گرم بر کیلوگرم غله)
۰/۳۶ ± ۰/۲۱	۰/۹۴ ± ۰/۸۵	۱۱۲/۸۱ ± ۱۲/۴۶	۴۶/۹۴ ± ۱۲/۳۵	-	شاهد
۰ ± ۰	۲/۰۸ ± ۲/۰۸	۲۰۴/۲۵ ± ۲۹/۱۱ a	۳۵ ± ۳/۰۳ a ^c	صفر	۰/۱۲۵ ^d
-	-	۰ ± ۰ b	۰ ± ۰ b	۱۲۶۷	
-	-	۰ ± ۰ b	۰ ± ۰ b	۱۷۹۰	
-	-	۰ ± ۰ b	۰ ± ۰ b	۳۴۵۱	
۰ ± ۰	۰ ± ۰	۱۸۸/۵ ± ۲۳/۴۳ a	۴۲/۵ ± ۴/۲۹ a	صفر	۰/۲۵
-	-	۰ ± ۰ b	۰ ± ۰ b	۱۲۶۷	
-	-	۰ ± ۰ b	۰ ± ۰ b	۱۷۹۰	
-	-	۰ ± ۰ b	۰ ± ۰ b	۳۴۵۱	
۰ ± ۰	۲/۵ ± ۲/۵	۱۴۷/۵ ± ۳۶/۴۳ a	۲۴/۲۵ ± ۲/۵۶ a	صفر	۰/۵
-	-	۰ ± ۰ b	۰ ± ۰ b	۱۲۶۷	
-	-	۰ ± ۰ b	۰ ± ۰ b	۱۷۹۰	
-	-	۰ ± ۰ b	۰ ± ۰ b	۳۴۵۱	
۰ ± ۰	۱/۱۳ ± ۱/۱۳	۱۰۷/۷۵ ± ۳۶/۰۴ a	۲۳/۲۵ ± ۱/۳۱ a	صفر	۱
-	-	۰ ± ۰ b	۰ ± ۰ b	۱۲۶۷	
-	-	۰ ± ۰ b	۰ ± ۰ b	۱۷۹۰	
-	-	۰ ± ۰ b	۰ ± ۰ b	۳۴۵۱	
۰ ± ۰	۵ ± ۳/۳۳	۴۴/۷۵ ± ۲۳/۸۹ a	۷ ± ۲/۱۲ a	صفر	۱/۵
-	-	۰ ± ۰ b	۰ ± ۰ b	۱۲۶۷	
-	-	۰ ± ۰ b	۰ ± ۰ b	۱۷۹۰	
-	-	۰ ± ۰ b	۰ ± ۰ b	۳۴۵۱	

^a تعداد حشرات کامل (زنده + مرده) در هر ظرف که ۴۵ روز پس از حذف حشرات کامل تیمار شده از ظروف تیمار، ظاهر شدند.

^b درصد حشرات مرده‌ی محاسبه شده از نتاج تولید شده.

^c در هر یک از دزها، میانگین‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

^d برای هر دز، تجزیه‌ی واریانس‌های مربوط به تعداد نتاج، با چهار غلظت ام‌جی به عنوان تیمار انجام شدند.

این، درصد مرگ و میر نتاج نسل اول قابل توجه نبود و در نتاج نسل دوم نیز مرگ و میری مشاهده نگردید.

بحث

بررسی‌های انجام شده در زمینه‌ی کارایی حشره‌کشی خاک‌های دیاتومه در ترکیب با اسانس‌های گیاهی در مقایسه با تحقیقات انجام شده روی اثرات

تولید نتاج

در ترکیب‌های تیماری دزهای سایان با غلظت‌های LC₁₀، LC₂₀ و LC₅₀ ام‌جی تولید نتاج نسل‌های F1 و F2 دیده نشد. تنها در اثر استفاده‌ی انفرادی از سایان تولید نتاج صورت گرفت به طوری که با افزایش دز، تعداد نتاج تولیدی نیز کاهش یافت (جدول ۴). با وجود

کامل گونه‌ی دوم (عیوض و همکاران ۲۰۱۰، کارابورکلو و همکاران ۲۰۱۱) اشاره نمود. محققان متعددی نشان داده‌اند که کارایی حشره-کشی فرمولاسیون‌های مختلف خاک‌های دیاتومه به صورت تاخیری است و به زمان وابسته می‌باشد به طوری که در بیشتر بررسی‌ها، زمان‌های در معرض‌گذاری تا هفت و ۱۴ روز هم در نظر گرفته شده‌اند و در بسیاری مواقع، حتی پس از این مدت نیز مرگ و میر به ۱۰۰ درصد نرسیده است (مانند آتاناسیو و همکاران ۲۰۰۳، آتاناسیو و همکاران ۲۰۰۹، کلیجیچ و همکاران ۲۰۱۰). به ویژه یزدی (۱۳۹۱) گزارش کرد که اثر کشندگی سایان روی حشرات کامل شپشه‌ی برنج بر روی دانه‌های گندم، جو و برنج در دز دو گرم بر کیلوگرم پس از ۱۴ روز تنها بر روی گندم (حدود ۹۵ درصد) قابل توجه بود. این نتایج اثر تاخیری خاک‌های دیاتومه را نشان می‌دهند. بدیهی است که با توجه به سازوکار اثر خاک‌های دیاتومه، هر چه مدت زمان قرار گرفتن حشرات در مجاورت خاک دیاتومه بیشتر باشد، ذرات بیشتری به سطح بدن آن‌ها خواهند چسبید. لذا، افزایش خراش‌های ایجاد شده و افزایش اتلاف آب بدن، دلیل افزایش تلفات مناسب با گذشت زمان می‌باشد (کورونیچ ۱۹۹۸). با وجود این، ما نشان دادیم که با استفاده همزمان از خاک دیاتومه و اسانس گیاهی، اثر تاخیری خاک دیاتومه‌ی سایان رفع شد و پس از ۴۸ ساعت، در بالاترین دزها و غلظت‌های مورد بررسی مرگ و میر حدود ۱۰۰ درصدی مشاهده گردید.

یکی از مشکلات اساسی مرتبط با خاک‌های دیاتومه، استفاده از آن‌ها در دزهای بالاست که روی وزن مخصوص ظاهری (کورونیچ ۱۹۹۸) و نیز ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی دانه‌های غلات انباری (فرثو و همکاران ۲۰۱۴) اثر منفی دارد. بنابراین، ترکیب خاک دیاتومه- اسانس گیاهی و استفاده از دزهای پایین ممکن است یکی از راه‌حل‌های بالقوه برای حل

استفاده‌ی انفرادی از آن‌ها یا ترکیب خاک‌های دیاتومه با سایر عوامل حشره‌کش مانند پرتوهای گاما (شخصی زارع و همکاران ۱۳۹۱)، تنظیم‌کننده‌های رشد حشرات (آرتور ۲۰۰۴)، سموم حشره‌کش (آتاناسیو ۲۰۰۶، چینتزاغلو و همکاران ۲۰۰۸)، قارچ‌های بیمارگر (مانند اکبر و همکاران ۲۰۰۴، واسیلاکوس و همکاران ۲۰۰۶، مایچالاکی و همکاران ۲۰۰۶، آتاناسیو و اشتین‌برگ ۲۰۰۷، آتاناسیو و همکاران ۲۰۰۸b، شفیقی و همکاران ۲۰۱۴) یا ترکیباتی مثل بیتربارکومایسین (مانند آتاناسیو و کورونیچ ۲۰۰۷، آتاناسیو و همکاران ۲۰۰۹، وکیل و همکاران ۲۰۱۰) و ترپنوئیدها (سیف‌الاسلام و همکاران ۲۰۱۰) بسیار اندک می‌باشند. از جمله این تحقیقات می‌توان به افزایش کارایی حشره‌کشی خاک دیاتومه در ترکیب با اسانس سیر *Allium sativum* L. (یانگ و همکاران ۲۰۱۰)، بررسی اثرات کشندگی ترکیب پودر و اسانس زنیان *Carum copticum* (L.) در ترکیب با خاک دیاتومه روی حشرات کامل شپشه‌ی آرد *Tribolium confusum* du Val و شپشه‌ی گندم *Sitophilus granarius* (L.) (ضیایی و همکاران ۲۰۱۴) و نیز اثر سینرژیستی استفاده‌ی ترکیبی از خاک دیاتومه و اسانس زیره‌ی سبز *Cuminum cyminum* L. علیه حشرات کامل شپشه‌ی گندم (ضیایی و محرمی‌پور ۱۳۹۱) اشاره نمود. در این تحقیقات، افزایش کارایی خاک‌های دیاتومه در اثر ترکیب با اسانس‌های گیاهی گزارش و بر پتانسیل آن‌ها برای کنترل آفات انباری تاکید شده است. تحقیقات انجام شده در زمینه‌ی بررسی کارایی حشره‌کشی اسانس مورد روی بالپولکداران نیز در مقایسه با سایر اسانس‌های گیاهی بسیار کم می‌باشند که از آن جمله می‌توان به بررسی سمیت تنفسی این اسانس روی تخم‌های شب‌پره‌ی هندی *Plodia interpunctella* (Hüb.) و شب‌پره‌ی مدیترانه‌ای آرد *Anagasta kuehniella* (Zell.) (عیوض و همکاران ۲۰۰۹، کارابورکلو و همکاران ۲۰۱۱) و علیه حشرات

نتایج به دست آمده از میزان تولید نتاج نشان دادند که تولید نتاج تنها در اثر استفاده‌ی انفرادی از سایان مشاهده شد. بر اثر استفاده‌ی ترکیبی از خاک دیاتومه و اسانس مورد، پس از گذشت ۴۵ و ۹۰ روز از حذف حشرات کامل از ظروف تیمار، تولید نتاج (به ترتیب نسل‌های F1 و F2) مشاهده نشد (جدول ۴). دلیل این امر، مرگ و میر نزدیک به ۱۰۰ درصد و عدم فرصت تخم‌گذاری طی ۷۲ ساعت بود. این نتایج نشان می‌دهند که عدم کنترل موثر شپشه‌ی برنج و دادن فرصت تولید مثل به حشرات کامل (مثلاً به دلیل اثر تاخیری خاک دیاتومه) باعث خواهد گردید تا جمعیت‌های نسل‌های بعدی به سرعت تشکیل شوند و خسارت فراوانی را به فراورده‌ی انباری وارد نمایند. ترکیب سایان-اسانس مورد علاوه بر کنترل موثر آفت، با جلوگیری از تولید نتاج آن، احتمال تشکیل جمعیت‌های بعدی و در نتیجه وارد آمدن خسارت آن‌ها را از بین برده است. همچنین، نتایج مربوط به میزان ظهور حشرات کامل شپشه‌ی برنج نشان دادند که با افزایش دز، میزان تولید نتاج نسل F1 نیز کاهش یافت که با نتایج بسیاری از محققان از جمله آتاناسیو و همکاران (۲۰۰۹) مطابقت دارد. در این مورد، کمترین میزان تولید نتاج در دز ۱/۵ گرم بر کیلوگرم مشاهده شد. بدیهی است که زنده‌مانی حشرات کامل شپشه‌ی برنج در نسل F1 می‌تواند در نسل‌های بعدی به تولید نتاج بیشتر و در نتیجه بروز خسارت بیشتر و قابل توجه‌تری منتهی گردد. با جمع‌بندی نتایج مربوط به مرگ و میر و تولید نتاج، برای اطمینان از مرگ و میر ۱۰۰ درصدی، حشرات کامل شپشه‌ی برنج بایستی حداقل ۴۸ ساعت در معرض تیمار ترکیبی غلظت ۲۴۵۱ میکرولیتر بر لیتر هوای اسانس مورد با دزهای یک یا ۱/۵ گرم بر کیلوگرم سایان قرار داشته باشند.

به طور کلی، اثر حشره‌کشی فرمولاسیون ایرانی سایان در ترکیب با اسانس گیاه مورد بسیار قابل توجه بود و باعث رفع اثر تاخیری این خاک دیاتومه

این مشکل باشد. نتایج به دست آمده در این پژوهش با یافته‌های پژوهش‌گرانی از جمله آتاناسیو و اشتین‌برگ (۲۰۰۷)، آتاناسیو و همکاران (۲۰۰۷)، مایچالاکی و همکاران (۲۰۰۶)، موراس و همکاران (۲۰۰۶) مطابقت دارند به طوری که تمامی این محققان نیز گزارش کردند که ترکیب خاک دیاتومه با سایر مواد حشره‌کش از استفاده‌ی انفرادی آن‌ها موثرتر است. با وجود این، واسیلاکوس و همکاران (۲۰۰۶) در ارزیابی اثر حشره-کشی فرمولاسیون قارچ - *Beauveria bassiana* (Bals.- Criv.) Vuill. و خاک دیاتومه سیلیکوسک به تنهایی و به صورت ترکیبی علیه حشرات کامل سوسک کشیش *Rhyzopertha dominica* (F.) و شپشه‌ی برنج گزارش دادند که بر اثر استفاده از ترکیب قارچ- خاک دیاتومه، اثر معنی‌داری روی مرگ و میر مشاهده نشد. همچنین، چینترانلو و همکاران (۲۰۰۸) نیز با بررسی اثر ترکیبی اسپینوسد و خاک دیاتومه علیه دو گونه آفت انباری گزارش نمودند که در اثر استفاده از ترکیب آن دو در مقایسه با استفاده‌ی انفرادی از آن‌ها، بر خلاف شپشه‌ی آرد، مرگ و میر حشرات کامل شپشه‌ی برنج افزایش نیافت. این نتایج نشان می‌دهند که نوع عامل ترکیبی با خاک دیاتومه و نیز اثرات وابسته به گونه می‌توانند روی افزایش یا عدم افزایش کارایی حشره‌کشی ترکیب آن دو موثر باشند. در این پژوهش نشان داده شد که ترکیب سایان با اسانس گیاه مورد روی مرگ و میر حشرات کامل شپشه‌ی برنج اثر سینرژیستی داشت و مرگ و میر حشرات کامل حتی پس از ۴۸ ساعت به حدود صد درصد رسید. این نتایج با نتایج ضیائی و محرمی پور (۱۳۹۱) مطابقت دارند به طوری که این محققان نیز اظهار داشته‌اند که اثر ترکیبی خاک دیاتومه به دست آمده از معادن ممقان با اسانس گیاهی زیره‌ی سبز، روی مرگ و میر حشرات کامل شپشه‌ی گندم اثر هم‌افزایی داشت و پس از دو روز تلفات به ۸۸ درصد رسید.

مثل حفاظت از بذرها مورد توجه قرار گیرد. برای این منظور، رفع محدودیت‌های استفاده از اسانس‌ها و خاک‌های دیاتومه و توسعه‌ی روش‌های فرموله کردن این مواد آفت‌کش به صورت ترکیبی پیشنهاد می‌شود.

سپاس‌گزاری

این مقاله بخشی از پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد نویسنده‌ی اول می‌باشد و با استفاده از اعتبارات پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شده است که بدین وسیله سپاس‌گزاری می‌گردد.

شد. این یافته، نتایج تحقیقات قبلی انجام شده در زمینه‌ی اثرات سینرژیستی ترکیب خاک دیاتومه-اسانس گیاهی (یانگ و همکاران ۲۰۱۰، ضیایی و محرمی‌پور ۱۳۹۱، ضیایی و همکاران ۲۰۱۴) را کاملاً تایید می‌کند. نکته‌ی جالب توجه در این بررسی، استفاده از یک اسانس گیاهی فرموله شده به صورت داروی گیاهی انسانی است. فرموله کردن اسانس‌های گیاهی به صورت حشره‌کش، احتمالاً کارایی حشره‌کشی آن‌ها را افزایش خواهد داد. این ایده می‌تواند به عنوان یک روش جایگزین مناسب برای سموم شیمیایی در کنترل آفات انباری و در موارد ویژه‌ای

منابع

- باقری زنوزا، ۱۳۸۶. آفات و عوامل زیان‌آور انباری و مدیریت کنترل آن‌ها، بیواکولوژی حشرات، کنه‌ها و میکروارگانیزم‌ها. انتشارات دانشگاه تهران.
- حسینی نوه و و قدمیاری م، ۱۳۹۲. مبانی و مفاهیم روش‌های آزمایشگاهی در بیوشیمی، فیزیولوژی و سم‌شناسی حشرات. انتشارات دانشگاه تهران.
- شخصی زارع ف، قاسم‌زاده م، ثابت‌قدم آ و بقایی ن، ۱۳۹۱. بررسی اثرات تلفیقی خاک دیاتومه‌ی *Insecto* و اشعه‌ی گاما بر روی حشرات کامل شپشه‌ی قرمز آرد (*Tribolium castaneum* (Col.; Tenebrionidae) در شرایط آزمایشگاهی. صفحه‌ی ۳۲۸ خلاصه مقالات بیستمین کنگره‌ی گیاه‌پزشکی ایران، ۴ تا ۷ شهریور ماه ۱۳۹۱. دانشگاه شیراز.
- ضیائی م و محرمی‌پور س، ۱۳۹۱. اثر ترکیبی خاک دیاتومه و اسانس زیره‌ی سبز *Cuminum cyminum* روی *Sitophilus granarius*. صفحه‌ی ۳۷۰ خلاصه مقالات بیستمین کنگره‌ی گیاه‌پزشکی ایران، ۴ تا ۷ شهریور ماه ۱۳۹۱. دانشگاه شیراز.
- یزدی غ، ۱۳۹۱. ارزیابی حساسیت حشرات کامل شپشه‌ی برنج (*Sitophilus oryzae* (L.) (Col.; Curculionidae) به سه فرمولاسیون پودری، به صورت مجزا یا مخلوط، بر روی گندم، جو و برنج در شرایط آزمایشگاهی. پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد حشره‌شناسی کشاورزی، دانشکده‌ی تولید گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

Abbott WS, 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18(2): 265-267.

Akbar W, Lord JC, Nechols JR and Howard RW, 2004. Diatomaceous earth increases the efficacy of *Beauveria bassiana* against *Tribolium castaneum* larvae and increases conidia attachment. *Journal of Economic Entomology* 97(2): 273-280.

Aleksic V, and Knezevic P, 2014. Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential

- oils of *Myrtus communis* L. Microbiological Research 169: 240-254.
- Arthur FH, 1996. Grain protectants: current status and prospects for the future. Journal of Stored Products Research 32: 293-302.
- Arthur FH, 2004. Evaluation of methoprene alone and in combination with diatomaceous earth to control *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) on stored wheat. Journal of Stored Products Research 40: 485-498.
- Athanassiou CG, 2006. Toxicity of beta-cyfluthrin applied alone or in combination with diatomaceous earth against adults of *Sitophilus oryzae* (L) (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium confusum* Duval (Coleoptera: Tenebrionidae) on stored wheat. Crop Protection 25: 788-794.
- Athanassiou CG, Kavallieratos NG and Meletis CM, 2007. Insecticidal effect of three diatomaceous earth formulations applied alone or in combination, against three stored-product beetle species on wheat and maize. Journal of Stored Products Research 43: 330-334.
- Athanassiou CG, Kavallieratos NG, Tsaganou FC, Vayias BJ, Dimizas CB and Buchelos CTh, 2003. Effect of grain type on the insecticidal efficacy of SilicoSec against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera., Curculionidae). Crop Protection 22: 1141-1147.
- Athanassiou CG, Kavallieratos NG, Vayias BJ and Panoussakis EC, 2008a. Influence of grain type on the susceptibility of different *Sitophilus oryzae* (L.) populations, obtained from different rearing media, to three diatomaceous earth formulations. Journal of Stored Products Research 44: 279-284.
- Athanassiou, CG, Kavallieratos NG, Vayias BJ, Tsakiri JB, Mikeli NH, Meletsis CM and Tomanovic Z, 2008b. Persistence and efficacy of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (Deuteromycotina, Hyphomycetes) and diatomaceous earth against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera., Curculionidae) and *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae) on wheat and maize. Crop Protection 27: 1303-1311.
- Athanassiou CG and Korunic Z, 2007. Evaluation of two new diatomaceous earth formulations, enhanced with abamectin and bitterbarkomycin, against four stored-grain beetle species. Journal of Stored Products Research 43:468-473.
- Athanassiou CG, Korunic Z and Vayias BJ, 2009. Diatomaceous earth enhances the insecticidal effect of bitterbarkomycin against stored-grain insects. Crop Protection 28: 123-127.
- Athanassiou CG and Steenberg T, 2007. Insecticidal effect of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Villemin (Ascomycota: Hypocreales) in combination with three diatomaceous earth formulations against *Sitophilus granarius* (L) (Coleoptera: Curculionidae). Biological Control 40: 411-416.
- Athanassiou CG, Vayias BJ, Dimizas CB, Kavalieratos NG, Papagregoriou AS and Buchelos CTh, 2005. Insecticidal efficacy of diatomaceous earth against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium confusum* Du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) on stored wheat: influence of dose rate, temperature and exposure interval. Journal of Stored Products Research 41: 47-55.
- Ayvaz A, Karaborklu S and Sagdic O, 2009. Fumigant toxicity of five essential oils against the eggs of *Ephestia kuehniella* and *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). Asian Journal of Chemistry 21(1): 596-604.
- Ayvaz A, Sagdic O, Karaborklu S and Ozturk I, 2010. Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored-product insects. Journal of Insect Science 10:21 available online: insectscience.org/10.21.
- Chintzoglou G, Athanassiou CG and Arthur FH, 2008. Insecticidal effect of spinosad dust, in combination with diatomaceous earth, against two stored-grain beetle species. Journal of Stored Products Research 44: 347-353.
- Daily CP and Dasyupta BB, 1998. Food production, population growth and environment. Science,

- 281: 1291-1292.
- Freo JD, Dias de Moraes LB, Santetti GS, Gottmannshausen TL, Elias MC and Gutkoski LC, 2014. Physiochemical characteristics of wheat treated with diatomaceous earth and conventionally stored. *Ciência e Agrotecnologia* 38(6): 546-553.
- Haque MA, Nakakita H, Ikenaga H and Sota N, 2000. Development-inhibiting activity of some tropical plants against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Stored Products Research* 36: 281-287.
- Hill DS, 2003. *Pests of Stored Foodstuffs and Their Control*. Kluwer Academic Publishers. 476 pp.
- Huang Y and Ho SH, 1998. Toxicity and antifeedant activities of cinnamaldehyde against the grain storage insects, *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Motsch. *Journal of Stored Products Research* 34: 11-17.
- Işikber AA, 2010. Fumigant toxicity of garlic essential oil in combination with carbon dioxide (CO₂) against stored-product insects. pp. 371-376. *Proceedings of the 10th International Working Conference on Stored-Product Protection*. Julius Kühn Institut, Berlin, Germany, Estoril, Portugal.
- Isman MB, 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection* 19: 603-608.
- Isman MB, 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology* 51: 45-66.
- Karaborklu S, Abdurrahman A, Yilmaz S and Akbulut M, 2011. Chemical composition and fumigant toxicity of essential oils against *Ephestia kuehniella*. *Journal of Economic Entomology* 104(4): 1212-1290.
- Kljajic P and Peric I, 2006. Susceptibility to contact insecticides of granary weevil *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) originating from different locations in the former Yugoslavia. *Journal of Stored Products Research* 42: 149-161.
- Kljajic P, Andric G, Adamovic M, Bodroza-Solarov M, Markovic M and Peric I, 2010. Laboratory assessment of insecticidal effectiveness of natural zeolite and diatomaceous earth formulations against three stored-product beetle pests. *Journal of Stored Products Research* 46: 1-6.
- Koehler PG, 2015. Rice weevil, *Sitophilus oryzae* (Col.; Curculionidae). Available online: <http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/IG/IG12000.pdf>. [Accessed on 14 May 2015].
- Korunic Z, 1998. Diatomaceous earths, a group of natural insecticides. *Journal of Stored Products Research* 34: 87-97.
- Lee BH, Choi WS, Lee SE and Park BS, 2001. Fumigation toxicity of essential oils and their constituents compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* L. *Crop Protection* 20: 317-320.
- Liu ZL and Ho SH, 1999. Bioactivity of the essential oil extracted from *Evodia rutaecarpa* Hook f. et Thomas against the grain storage insects, *Sitophilus zeamais* Motsch. and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Stored Products Research* 35:317-328.
- Michalaki MP, Athanassiou CG, Kavallieratos NG, Batta YA and Balotis GN, 2006. Effectiveness of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin applied alone or in combination with diatomaceous earth against *Tribolium confusum* Du Val larvae: Influence of temperature, relative humidity and type of commodity. *Crop Protection* 25: 418-425.
- Mohan S and Fields PG, 2002. A simple technique to assess compounds that are repellents or attractive to stored product insects. *Journal of Stored Products Research* 38: 23-31.
- Moras A, Pereira FM, Oliveira M, Lorini I, Schirmer MA and Elias MC, 2006. Diatomaceous earth and propionic acid to control *Sitophilus oryzae* and *Oryzaephilus surinamensis* rice stored grain pests. pp. 823-828. *Proceedings of the 9th International Working Conference on Stored Product*

- Protection, 15-18 October 2006, Sao Paulo, Brazil.
- Saiful Islam MD, Mahbub Hasan MD, Lei C, Mucha-Pelzer T, Mewis I and Ulrichs C, 2010. Direct and admixture toxicity of diatomaceous earth and monoterpenoids against the storage pests *Callosobruchus maculatus* (F.) and *Sitophilus oryzae* (L.). *Journal of Pest Science* 83: 105-112.
- Shaaya E, Kostjukovski M, Eilberg J and Sukprakarn C, 1997. Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insect. *Journal of Stored Products Research* 33(1): 7-15.
- Shafighi Y, Ziaee M and Ghosta Y, 2014. Diatomaceous earth used against insect pests, applied alone or in combination with *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. *Journal of Plant Protection Research* 54(1): 62-66.
- Shah MA and Khan AA, 2014. Use of diatomaceous earth for the management of stored-product pests. *International Journal of Pest Management* 60(2): 100-113.
- Shakarami J, Kamali K, Moharramipour S and Meshkatsadat M, 2003. Fumigant toxicity and repellency of essential oil of *Artemisia aucheri* on four species of stored pest. *Applied Entomology and Phytopathology* 71: 61-75.
- Tapondjou AL, Adler C, Bouda H and Fontem DA, 2002. Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* leaves as post-harvest grain protectants against six-stored product beetles. *Journal of Stored Products Research* 38: 395-402.
- Tapondjou AL, Adler C, Fontem DA, Bouda H and Reichmuth C, 2005. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. *Journal of Stored Products Research* 41: 91-102.
- Vassilakos TN, Athanassiou CG, Kavallieratos NG and Vayias BJ, 2006. Influence of temperature on the insecticidal effect of *Beauveria bassiana* in combination with diatomaceous earth against *Rhyzopertha dominica* and *Sitophilus oryzae* on stored wheat. *Biological Control* 38: 270-281.
- Wakil W, Ashfag M, Ghazanfar MU and Riasat T, 2010. Susceptibility of stored-product insects to enhanced diatomaceous earth. *Journal of Stored Products Research* 46(4): 248-249.
- Yang F-L, Liang G-W, Xu Y-J, Lu Y-Y and Zeng L, 2010. Diatomaceous earth enhances the toxicity of garlic, *Allium sativum*, essential oil against stored-product pests. *Journal of Stored Products Research* 46: 118-123.
- Ziaee M, Moharramipour S and Francikowski J, 2014. The synergistic effects of *Carum copticum* essential oil on diatomaceous earth against *Sitophilus granarius* and *Tribolium confusum*. *Journal of Asia-Pacific Entomology* 17: 817-822.

Enhancing Insecticidal Efficacy and Remedying Dilatory Effect of Diatomaceous Earth Sayan[®] against Adults of the Rice Weevil, *Sitophilus oryzae* (L.), in Combination with Myrtle Essential Oil, *Myrtus communis* L.

M Reihani¹, M Yazdani^{2*} and A Afshari²

¹Former MSc Student, Department of Plant Protection, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

²Assistant and Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

*Corresponding author: E-mail: mohsenyazdani@gau.ac.ir

Received: 7 Jun 2015

Accepted: 15 Oct 2015

Abstract

In this research, insecticidal efficacy of the diatomaceous earth Sayan[®] in combination with a plant pharmaceutical formulation MG[®] containing myrtle (*Myrtus communis* L.) essential oil was evaluated on adult Rice weevils *Sitophilus oryzae*. Five doses of 0.125, 0.25, 0.5, 1.0 and 1.5 g Sayan[®]/kg grain in combination with MG[®] at four concentrations of 0 and estimated LC₁₀, LC₂₀ and LC₅₀ (equal to 1267.0, 1790.0 and 3451.0 µl/L air, respectively) were assessed. All experiments carried out at 26±2°C, 65±5% R.H. and L:D 16:8. Adults' mortality was recorded after 24, 48 and 72 hrs of exposure. To determine progeny production at F1 and F2 generations, dead and alive adults were removed from treatment containers after the 72 hrs counts and containers were left at the same conditions for 45 and 90 days more. After these periods, emerged adults were counted (as dead or alive). Using Sayan[®] alone did not result in notable mortality even after 72 hrs so that at the highest dose of 1.5 g/kg it was 16.66%. Different doses and concentrations applied in combination increased the mortality significantly even after 24 hrs so that after 48 and especially 72 hrs it was highly notable and increased from about 80% by using LC₁₀-0.125 g/kg after 48 hrs up to 100% by using the LC₅₀-1.5 g/kg. No offspring produced by using treatments containing MG[®] essential oil but Sayan[®] applied alone resulted to progeny production in F1 and F2 generations. Results of this study indicated that applying the diatomaceous earth Sayan[®] in combination with the myrtle essential oil significantly increased the insecticidal efficacy of Sayan[®] and remedied dilatory effect of it (decreased the exposure interval from about more than 14 days down to about 72 hrs). This could be considered in the case of stored-products pest control.

Keywords: Combined effect, Insecticidal efficacy, MG, Rice weevil, Sayan[®].