



دانشگاه گیلان
سازمان آموزشی و تحصیلات تکمیلی

دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی
گروه آموزشی گیاه پزشکی

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد
رشته حشره‌شناسی کشاورزی

اثر حشره‌کشی و دورکنندگی پنج اسانس گیاهی و تلفیق آن‌ها با خاک دیاتومه در کنترل شپشه دنداندار غلات *Oryzaephilus surinamensis* (L.)

پژوهشگر:

هاوژین غفوری پور

استاد راهنما:

دکتر هوشنگ رفیعی دستجردی

دکتر بهرام ناصری

استاد مشاور:

دکتر مهدی حسن پور

دکتر وحید مهدوی

پاییز ۱۳۹۸

نام پدیدآور:	کنترل شپشه دندانه‌دار غلات (<i>Oryzaephilus surinamensis</i> L.) / هاوژین
استادان راهنما:	دکتر هوشنگ رفیعی دستجردی، دکتر بهرام ناصری
استادان مشاور:	دکتر مهدی حسن‌پور، دکتر وحید مهدوی
تاریخ دفاع:	
تعداد صفحات:	۹۳ ص.
شماره پایان‌نامه:	نام گروه / شماره پایان‌نامه
چکیده:	
<p>هدف: در این پژوهش خواص تنفسی و دورکنندگی پنج اسانس گیاهی دارچین (<i>Cinnamomum verum</i> L.)، درمنه (<i>Artemisia annua</i> L.)، سیر (<i>Allium sativum</i> L.)، پونه (<i>Mentha pulegium</i> L.) و پنج انگشت (<i>Vitex agnus</i> L.) و اثرات تلفیقی آن‌ها با فرمولاسیون[®] Sayan خاک دیاتومه روی حشرات کامل شپشه دندانه‌دار غلات، (<i>Oryzaephilus surinamensis</i> L.) در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد.</p> <p>روش‌شناسی پژوهش: آزمایش‌ها در انکوباتور در دمای 27 ± 2 درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد و تاریکی کامل در چهار تکرار انجام شد. اسانس‌های گیاهی با استفاده از دستگاه کلونجر به روش تقطیر با آب مقطر استخراج شد. برای تعیین اثرات حشره‌کشی و دورکنندگی اسانس‌ها، میزان مرگ و میر حشرات بعد از ۲۴ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. سپس اثر حشره‌کشی اسانس‌ها همراه با توده غذا و بدون غذا بررسی شد. برای بررسی اثر تلفیق اسانس‌های گیاهی با خاک دیاتومه، دزهای مختلف فرمولاسیون سایان خاک دیاتومه با خشکبار (گردو) و در چند تکرار در ظروف شیشه‌ای ریخته شد. غلظت‌های مختلف اسانس‌ها با سمپلر روی کاغذهای صافی با دزهای مختلف خاک دیاتومه (۰، ۰/۶۳، ۱/۰۰۴ و ۱/۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم) ریخته و سپس ۱۵ حشره کامل به محیط اضافه شد. پس از گذشت ۲۴ و ۷۲ ساعت از شروع آزمایش، نتایج حاصل از مرگ و میر ثبت شد. جهت شناسایی اجزاء اسانس از دستگاه GC-MS استفاده شد.</p> <p>یافته‌ها: براساس نتایج به دست آمده، سمیت اسانس گیاهان در حضور دانه‌های غذا کاهش یافت. نتایج بررسی سمیت تنفسی اسانس‌ها نشان داد که اسانس گیاه سیر و پونه خاصیت حشره‌کشی بالایی علیه حشره کامل شپشه دندانه‌دار غلات دارد. میزان LC₅₀ این اسانس‌ها به ترتیب ۱۲/۹ و ۳۲/۳۵ میکرولیتر بر لیتر هوا بود. در بررسی سمیت سایان روی حشره کامل مورد آزمایش، میزان LC₅₀ بدست آمده ۴۸۷/۰۹ میلی‌گرم بر کیلوگرم بود. بیشترین میزان دورکنندگی مربوط به اسانس درمنه و کمترین مربوط به اسانس پونه بود در بررسی اثر تلفیقی خاک دیاتومه با اسانس گیاهان پنج انگشت، سیر و پونه، افزایش غلظت موجب افزایش توانایی حشره‌کشی شد، ولی در تلفیق با اسانس گیاهان درمنه و دارچین افزایش غلظت موجب افزایش میزان تلفات نگردید.</p> <p>نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان اظهار داشت که در تلفیق اسانس‌های گیاهی با خاک دیاتومه می‌توان از اسانس‌های پنج انگشت، پونه و سیر برای کاهش جمعیت شپشه دندانه‌دار غلات استفاده نمود. همچنین این بررسی نشان داد که اسانس‌های گیاهی درمنه و دارچین دارای اثر دورکنندگی زیادی روی شپشه دندانه‌دار غلات می‌باشد.</p> <p>واژه‌های کلیدی: اسانس‌های گیاهی، اثر دورکنندگی، خاک دیاتومه، <i>Oryzaephilus surinamensis</i>.</p>	

۱- مقدمه و هدف

۱-۱ مقدمه

در طی سال‌های متمادی غلات به ویژه گندم، جو، برنج و ذرت غذای اصلی بشر را تشکیل داده‌اند. بنابراین تولید، ذخیره و انبارداری این محصولات و کنترل صحیح آفات در انبارها از مهم‌ترین عوامل برای جوامع بشری به شمار می‌رود (Singh and Pandey, 2001). با توجه به اهمیت غلات و حبوبات در رژیم غذایی انسان و تلاش‌های متخصصین برای حفظ محصولات از گزند آفات در طی دوره رشد و نمو در مزرعه و نیز در انبار، سالانه بیش از صدها میلیون تن غلات در اثر آفات انباری و عدم رعایت اصول علمی انبارداری از بین می‌رود که این میزان خسارت در کشورهای جهان سوم به دلیل نداشتن فناوری پیشرفته انبارداری بیش از کشورهای صنعتی (۱۰ تا ۴۰ درصد محصول) است (هاشم‌زاده، ۱۳۸۸). دانه‌های غلات و حبوبات مورد حمله انواع مختلفی از آفات و بیماری‌ها قرار می‌گیرند که از بارزترین آن‌ها می‌توان به آفات انباری اشاره کرد (Rajendran and Sirianjini, 2008). میزان خسارت وارده آفات محصولات انباری طبق گزارش سازمان خواروبار جهانی (FAO) در کشورهای گرمسیری به دلیل شرایط مناسب برای نشو و نمای آفات و کافی نبودن امکانات برای نگهداری محصولات انباری بسیار قابل توجه بوده و موجب کاهش وزن، کیفیت و ارزش تجاری بذور می‌گردند (باقری زنوز، ۱۳۷۵، Scholler et al., 1997). بر اساس گزارش‌های سازمان جهاد کشاورزی در ایران هر ساله به طور متوسط ۱۰-۲۰ درصد محصولات انباری به وسیله آفات از بین می‌روند (باقری زنوز، ۱۳۷۵). در بعضی از مناطق ایران و جهان به علت وجود انبارهای سنتی و همچنین قدرت تکثیر بالای آفات انباری، خسارت ناشی از آن‌ها تا ۸۰ درصد می‌رسد (شاکرمی، ۱۳۸۳؛ Dunkel and Sears, 1998).

محصولات انباری توسط گونه‌های سوسک‌های آفت، پروانه‌ها و کنه‌ها دچار خسارت‌های کیفی و کمی می‌شوند، که در میان این آفات انباری، راسته‌ی سخت‌بالپوشان بیشترین خسارت را به بذور انبار شده وارد می‌کنند. در میان سخت‌بالپوشان، شپشه دنداندار غلات (*Oryzaephilus surinamensis* (L.)) از آفات مهم محصولات انباری است که باعث خسارت اقتصادی در غلات شده و از بیش از ۱۰۰ نوع محصولات انباری تغذیه می‌کنند. حشرات کامل و لاروها از دانه‌های غلات، خشکبار و فرآورده‌های حاصل از آن‌ها

تغذیه می‌کنند. این آفت بیشتر در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری خسارت قابل توجهی داشته، و پوسته‌های لاروی و فضولات آن‌ها به داخل محصولات باعث کاهش شدید مرغوبیت آن‌ها می‌شود (Dal Bello et al., 2006).

از مهم‌ترین و موثرترین روش‌های کنترل آفات استفاده از سموم تدخینی است. این ترکیبات در گرما و فشار معین به گازی کشنده تبدیل شده و به دلیل انتشار و نفوذ آن‌ها به درون توده محصولات سبب مرگ جانداران می‌شوند. از جمله عمومی‌ترین آن‌ها که در سطح تجاری برای کنترل آفات انباری استفاده می‌شود، می‌توان به متیل بروماید و فسفین اشاره کرد (Rajendran and Sriranjini, 2008). با توجه به مقاومت آفات انباری به سم فسفین (در ۴۵ کشور جهان) و تخریب لایه استراتوسفری ازون توسط متیل بروماید، به کارگیری تعداد زیادی از سموم تدخینی در کشورهای توسعه یافته از سال ۲۰۰۵ کنار گذاشته شده است (EPA, 2006). گیاهان سازوکارهایی همانند تولید مواد حشره‌کش و دورکننده طی یک دوره تکاملی ۴۰۰ ساله پشت سر گذاشته‌اند تا بتوانند از خود در برابر حشرات آفت محافظت نمایند (طالبی جهرمی، ۱۳۹۰). به دلیل ایجاد آلودگی در محصولات کشاورزی، خسارت اقتصادی آفات انباری و مقاوم شدن آن‌ها به حشره‌کش‌های شیمیایی، یافتن یک روش کنترل مناسب از قبیل استفاده از ترکیبات گیاهی و اجزاء تشکیل دهنده آن‌ها جهت کنترل و کاهش خسارت این آفات از موضوعات اصلی جوامع علمی می‌باشد (Rajendran and Sriranjini, 2008). استفاده از ترکیبات گیاهی به عنوان حشره‌کش به زمان امپراطوری روم باستان برمی‌گردد که از پودر گل‌های خشک گیاه پیرتروم (*Chrysanthemum cinerariaefolium* L.) استفاده می‌شد. ترکیبات گیاهی اولین بار در سال ۱۸۵۰ با کاربرد روتنون از گیاهان (*Lonchocarpus* sp., Derris، *elliptica* Beth) و نیکوتین از گیاه تنباکو آغاز شد (Craker and simon, 2002). بعد از جنگ جهانی دوم، سموم آفت‌کش آلی مصنوعی نظیر فسفره، کاربامات و کلره جایگزین گیاهان شدند و استفاده از آن‌ها گسترش یافت. زمانی که موفقیت‌های اولیه حشره‌کش‌های سنتزی در سال ۱۹۴۰ ظاهر شدند مردم فکر می‌کردند که حشره‌کش‌های گیاهی برای همیشه فراموش شدند و انسان در مبارزه با آفات پیروز شده است. اما در کمتر از یک دهه، با آشکار شدن مشکلات زیست محیطی، شامل آلودگی باقی‌مانده سموم در غذا و مقاومت آفات نسبت به حشره‌کش‌های سنتزی باعث شد که حشره‌کش‌های گیاهی جایگاه خود را به دست آوردند (Oegando, 2003). خطرات زیست‌محیطی کمتر، طیف اثر محدود، قابلیت تجزیه به متابولیت‌های غیر سمی در طبیعت، مقرون به صرفه

بودن از لحاظ اقتصادی و تولید آسان از ویژگی‌های آفت‌کش‌های گیاهی در مقایسه با آفت‌کش‌های شیمیایی می‌باشد (افشهرکی، ۱۳۸۸).

اطلاعات جامعی توسط Rees et al. (1993) در رابطه با خاصیت حشره‌کشی ۱۱۰۰ گونه گیاه جهت کنترل آفات انباری گردآوری شده است. امروزه در دنیا پژوهش‌های گسترده‌ای روی استفاده از ترکیبات گیاهی به عنوان آفت‌کش‌های طبیعی صورت گرفته است و ثابت شده است که گیاهان آلی دارای متابولیت‌های ثانویه هستند. این متابولیت‌ها در فرآیندهای بیوشیمیایی گیاه نقش مهمی ندارد، ولی در روابط اکولوژیکی گیاه به خصوص برهمکنش‌های گیاه و حشره نقش حیاتی داشته و گاهی باعث بروز مقاومت گیاه در مقابل حشره می‌شود (Park et al., 2003). بخش مهمی از این ترکیبات ترپنوئیدها هستند که در اسانس گیاهان وجود داشته و جایگزین مناسبی برای سموم شیمیایی در کنترل آفات انباری می‌باشند (Rajendran and Sriranjini; 2008). گیاهان اسانس‌دار علاوه بر داشتن خواص دارویی و غذایی، برای انسان و سایر پستانداران کم‌خطر بوده و در طبیعت نیز به سرعت تجزیه می‌شوند (Isman, 2000). اسانس‌های گیاهی به طور کلی از گروه شیمیایی موسوم به ترپن‌ها هستند. اسانس‌ها شامل چهار دسته ترکیب ترپنوئیدها، آروماتیک‌ها، زنجیرهای ۷ تا ۳۷ کربنه و ترکیبات متفرقه مانند نیتروژن، گوگرد، سولفید و سیانیدها می‌باشند (Althausen, 1975). ترپنوئیدها دارای اثرات بازدارنده تغذیه و تخم‌گذاری و نیز خاصیت دورکنندگی در حشرات گیاهخوار هستند که شامل مونوترپن‌ها و سسکوئیترپن‌ها می‌باشند (Grainge and Ahmed, 1988).

علاوه بر این، یکی از روش‌های متداول برای جلوگیری از خسارت و تغذیه آفات انباری استفاده از حشره‌کش‌های فیزیکی مصنوعی از قبیل خاک دیاتومه‌ها می‌باشد که در چندین سال اخیر مورد توجه قرار گرفته است (Arthur, 1996). خاک‌های دیاتومه دارای خاصیت سایندگی و قدرت جذب بالا بوده و اولین بار در دهه ۱۹۶۰ در آمریکا جهت حفاظت از محصولات گندم و ذرت مورد استفاده قرار می‌گرفت (Golob, 1997). خاک‌های دیاتومه علاوه بر باقیمانده شیمیایی خطرناک روی مواد غذایی از خود به جا نمی‌گذارند به راحتی در جریان فرآوری توسط شستشوی محصولات انباری حذف می‌گردند (Athanasios et al., 2005). همچنین ضمن حفظ پایداری در دماهای بالا و پایین برای کنترل آفات مقاوم به سموم بسیار موثر است و در آمریکا و کانادا به عنوان افزودنی غذا ثبت شده است (Fields, 1998; Collins and Cook, 2006). خاک‌های دیاتومه حاوی سیلیکات‌های بی‌شکل است و با توجه به گزارش‌های آژانس بین‌المللی

تحقیقات سرطان^۱ مدارک کافی جهت سرطان‌زایی آن‌ها وجود ندارد (IARC, 1997). علی‌رغم مزایای بسیار خاک‌های دیاتومه، در غلظت‌های زیاد باعث کاهش جریان‌پذیری و وزن دانه‌ها می‌گردند، در نتیجه کاربرد آن در تلفیق با سایر روش‌های کنترلی مورد توجه قرار گرفته است (Korunic et al., 1996). خاک دیاتومه در تلفیق با پاتوزن‌های بیماری‌زای حشرات، گرما، هوادهی و ... استفاده شده است (Nickson et al., 1994; Dowdy and Fields, 2002; Chintzoglou et al., 2008; Wakil et al., 2011; Stephou et al., 2012).

با توجه به معایب کاربرد حشره‌کش‌های شیمیایی، نیاز روزافزون انسان به تامین مواد غذایی و جستجو برای پیدا کردن روشی کاربردی و برگرفته از مواد طبیعی برای کنترل آفات انباری، در این پژوهش اثرات حشره‌کشی فرمولاسیون سایان خاک دیاتومه، سمیت تنفسی و دورکنندگی اسانس پنج گونه گیاهی دارچین (*Cinnamomum verum L.*)، درمنه (*Artemisia annua L.*)، سیر (*Allium sativum L.*)، پونه (*Mentha pulegium L.*) و پنج انگشت (*Vitex agnus L.*) و تاثیر تلفیق آن‌ها روی مرحله‌ی حشره کامل آفت انباری شپشه دنداندار غلات *O. surinamensis* مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین در این تحقیق اجزاء ترکیبات شیمیایی اسانس‌ها شناسایی شدند.

۱-۲- اهداف تحقیق

- ۱- بررسی اثر سمیت تنفسی اسانس گیاهان دارچین، درمنه، پونه، پنج انگشت و سیر روی حشرات کامل شپشه دنداندار غلات *O. surinamensis*
- ۲- مطالعه اثر دورکنندگی اسانس گیاهان دارچین، درمنه، پونه، پنج انگشت و سیر روی حشرات کامل شپشه دنداندار غلات *O. surinamensis*
- ۳- شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس گیاهان دارچین، درمنه، پونه، پنج انگشت و سیر
- ۴- بررسی خواص حشره‌کشی خاک دیاتومه روی حشرات کامل شپشه دنداندار غلات *O. surinamensis*
- ۵- بررسی تلفیق اسانس گیاهان و خاک دیاتومه روی حشرات کامل شپشه دنداندار غلات *O. surinamensis*

¹ International Agency for the Research of Cancer (IARC)

۲- مبانی و پیشینه تحقیق

۲-۱- خصوصیات شپشه دنداندار غلات

شپشه دنداندار غلات با نام علمی *Oryzaephilus surinamensis* L. (Col.: Silvanidae) از آفات مهم محصولات انباری مانند گندم و جو می‌باشد. سطح بدن حشره بالغ از کرک‌های قهوه‌ای رنگ پوشیده شده، سر دوزنقه‌ای شکل و در جلو باریک، پشم‌ها سیاه رنگ و کوچک می‌باشند. شاخک‌ها ۱۱ بندی و چماقی، پیش‌گرده بیضی شکل و در دو طرف دارای شش دندان‌ه می‌باشد. بالپوش آن‌ها کشیده و در انتها گرد هستند. لاروها به طول ۳/۵-۴ میلی‌متر و به رنگ زرد مایل به سفید هستند و داخل پیله‌هایی که با مواد غذایی می‌سازند به شفیره تبدیل می‌شوند. حشرات بالغ ماده در طول زندگی به طور متوسط ۱۵۰ تخم به صورت انفرادی و یا دسته‌های کوچک در میان مواد غذایی می‌گذارد. طول مدت لاروی بسته به دمای محیط متغیر بوده و در شرایط نامساعد ۳ یا ۴ بار پوست اندازی می‌کنند. این آفت در مناطق معتدله ۳-۴ نسل در سال داشته ولی در مناطق گرمسیری بدون توقف به زندگی ادامه می‌دهد و به ۶-۸ نسل در سال می‌رسد (باقری زنون، ۱۳۶۵).

حشرات کامل این آفت از مواد مختلف گوشتی و فرآورده‌های گیاهی تغذیه می‌کند، ولی خسارت چندانی ندارد. لاروها برعکس حشره کامل برای تغذیه بسیار حریص هستند و خسارت سنگینی وارد می‌کنند. آفت در اغلب محصولات انباری از جمله برنج، گندم، ذرت، جو، آرد، سبوس، ماکارونی و میوه‌های خشک دیده می‌شود و علاوه بر تغذیه با مدفوع خود نیز محیط را آلوده و از مرغوبیت محصول می‌کاهد (ثمره فکری و صالحی، ۱۳۸۸).

۲-۲- تاریخچه استفاده از سموم گیاهی

استفاده از گیاهان و مشتقات آن مانند حشره‌کش‌های گیاهی در کشاورزی به چند صد سال پیش در کشورهای چین، هند، مصر و ... برمی‌گردد (Thacker, 2002). حشره‌کش‌های گیاهی، دهه‌های قبل از تولید حشره‌کش‌های شیمیایی مثل ارگانوفسفره‌ها، کاربامات‌ها و پیرتروئیدها استفاده می‌شده است، ولی به مرور با افزایش کاربرد حشره‌کش‌های شیمیایی نقش آن‌ها در کشاورزی کم رنگ شد (Isman, 2006). اگرچه به دلیل مشکلاتی از جمله مسمومیت حاد و مزمن سموم برای مصرف‌کنندگان محصولات کشاورزی، اختلال در کنترل بیولوژیکی، گسترش مقاومت در جمعیت آفات و ... تمایل به استفاده از ترکیبات شیمیایی کاهش یافته است (Forget et al., 1993). با این حال تمایل سازمان‌های جهانی به محدود کردن استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی، جایگزین کردن آن‌ها با سموم کم خطر و تلاش جهت شناسایی گیاهان جدید که دارای اثر سمی روی حشرات آفت هستند، افزایش یافته است (Papachristos and Stamopoulos, 2002).

۲-۳- بهداشت گیاهان و فرآورده‌های گیاهی

اکثر آفات انباری آفات پل‌فاژ هستند که با آب و هوای گوناگون سازگار شده و به دلیل توسعه و گسترش وسایل حمل و نقل محصولات کشاورزی به سرعت از قاره‌ای به قاره دیگر انتقال می‌یابند. در مزارع عموماً خسارت آفات قابل رویت و تشخیص است، در حالی که زیان وارده در انبارها آشکار نیست. آلودگی محصولات کشاورزی در انبارها ممکن است هنگام برداشت محصول به وسیله دانه‌های آلوده از مزرعه به انبار منتقل و یا در داخل انبار ایجاد شود. خسارتی که آفات در انبارها به محصولات کشاورزی وارد می‌کنند، ممکن است از نوع کمی، کیفی و یا هر دو باشند (زمردی، ۱۳۷۰).

۲-۴- روش‌های کنترل آفات انباری

۲-۴-۱- آفت‌کش‌های شیمیایی

آفات انباری بطور معمول توسط حشره‌کش‌های تدخینی کنترل می‌شوند. حشره‌کش‌های تدخینی (Fumigant) شامل مواد شیمیایی، با وزن مولکولی بسیار کم و با خاصیت تدخینی و سمیت بالا می‌باشند که در سطح وسیع در انبارها استفاده می‌شود. از

متیل بروماید و فسفین بطور عمده برای کنترل آفات انباری استفاده می‌کنند، ولی به علت سمیت فوق‌العاده‌ای که برای انسان ایجاد می‌کنند مصرف این دو سم محدود شده است (Daglish and Collin, 1999).

۲-۴-۲- ترکیبات گیاهی

گیاهان با ایجاد تغییراتی در مورفولوژی و فیزیولوژی خود، ترکیبات شیمیایی سمی، دورکننده و ضد تغذیه تولید می‌کنند تا در برابر حشرات گیاهخوار از خود دفاع کنند. به خاطر سمیت تنفسی، تماسی، خاصیت دورکنندگی و ضد تغذیه‌ای ترکیبات گیاهی و با توجه به تاثیر این ترکیبات روی پارامترهای زیستی حشره و خطرات کم آن‌ها برای انسان و محیط زیست، استفاده از ترکیبات گیاهی جایگاه ویژه‌ای در کنترل آفات پیدا کرده است (Isman, 2006).

۲-۵- حشره‌کش‌های گیاهی رایج

به طور کلی از چهار گروه مهم از ترکیبات گیاهی از قبیل پیرتروم، روتنون، نیم و اسانس‌های گیاهی برای کنترل آفات استفاده می‌نمایند. از ترکیباتی مانند ریانی، سبادیلا و نیکوتین نیز به مقدار اندک استفاده می‌شود (Isman, 2006).

۲-۶- متابولیت‌های ثانویه گیاهان

متابولیت‌های ثانویه ترکیباتی هستند که در برخی از تیره‌های گیاهی وجود دارند و این ترکیبات برای زنده ماندن سلول ضروری نیستند. اما این ترکیبات بقای موجود در اکوسیستم را تامین کرده و موجود زنده برای اعمال واکنش در برابر محیط به آن‌ها نیاز دارد (Vepoorte, 2000). متابولیت‌های ثانویه در دفاع گیاهان در مقابل حشرات گیاه‌خوار به عنوان دورکننده، بازدارنده تخم‌ریزی و یا دارای خاصیت حشره‌کشی هستند و از گیاهان در مقابل حشرات محافظت می‌نمایند (Bourgand et al., 2001). آن‌ها از واحدهای ۵ کربنه به نام ایزوپرن^۲ ($\text{CH}_2=\text{CH}=\text{C}-\text{CH}_3=\text{CH}_2$) ساخته شده‌اند، که گاهی این ترکیبات را ایزوترپنوئید می‌نامند. پژوهش‌های متعددی که روی ترپنوئیدها صورت گرفته نشان داده است که این ترکیبات به عنوان مواد سمی، بازدارنده تغذیه و یا بازدارنده تخم‌ریزی در حشرات عمل می‌کنند. اسانس‌های گیاهی نیز دارای مواد

² Isoper

ترپنوئیدی می‌باشند (Tewary et al., 2005).

۱-۶-۲- آلکالوئیدها

آلکالوئیدها بزرگ‌ترین گروه ترکیب‌های ثانویه در گیاهان می‌باشند. اولین بار آلکالوئیدها به عنوان مواد ازته‌ای که خاصیت قلبیایی دارند و در محیط‌های اسیدی تولید نمک می‌کنند شناخته شدند (صمصام شریعت و معطر، ۱۳۶۸). از ۳۰۰ تیره گیاهی تعداد ۱۲ هزار آلکالوئید جداسازی و شناسایی شده است (Raffauf, 1996). آلکالوئیدها معمولاً بی‌بو، بی‌رنگ، کریستالین، غیر قابل تبخیر و تلخ مزه هستند و فقط تعداد اندکی از آن‌ها رنگی می‌باشند. نظر برخی از دانشمندان این است که مزه تلخ این ترکیبات سبب دفع حشرات از گیاهان می‌شود (امید بیگی، ۱۳۷۹).

۲-۶-۲- اسانس‌ها

اسانس‌ها از زمان قدیم به عنوان عطر و طعم‌دهنده در صنایع مختلف به کار می‌رود و از تقطیر گیاهان معطر به وسیله بخار آب به دست می‌آیند (Rajendran and Sriranjini, 2008). اسانس‌ها از نظر ترکیب شیمیایی همگن نیستند و ترکیبات مختلفی دارند، ولی عموماً جزء گروه شیمیایی ترپن‌ها هستند (امید بیگی، ۱۳۷۹). اسانس‌ها دارای بو، مزه و وزن مخصوص کمتر از آب بوده و شامل ۴ دسته: ۱- ترپن‌ها: شامل مونوترپن‌ها و سسکوئی‌ترپن‌ها، ۲- ترکیبات آروماتیک، ۳- زنجیره‌های ۳۷-۷۷ کربنی و ۴- ترکیبات متفرقه: که این ترکیبات دارای نیتروژن و گوگرد هستند و مانع رشد باکتری‌ها می‌شوند، می‌باشند (Althausen, 1975). اسانس‌ها در قسمت‌های سطحی و درونی اندام‌های مختلف نظیر برگ‌ها، گل‌ها، میوه‌ها، جوانه‌ها، و شاخه‌های گیاهان وجود دارند (Enan, 2001). در نتیجه کمیت و کیفیت اسانس‌های حاصله از نظر اجزای عناصر تشکیل دهنده، در فصل‌ها و مناطق مختلف متفاوت می‌باشند (Andronikashvili and Reichmuth, 2003). شکارگرها و پارازیتوئیدها در مزرعه یک تا دو روز پس از تیمار محصولات با اسانس‌ها، به دلیل خاصیت فراریت بالا و دوام کم این ترکیبات مسموم نمی‌شوند (Isman, 2006). چندین پژوهش مختلف روی سمیت تنفسی، خاصیت دورکنندگی، تخم‌کشی و بازدارنده تخم‌ریزی اسانس‌ها روی آفات انباری صورت گرفته است (Tunç et al., 2000; Arunk et al., 2001; Anqing et al., 2003; Park et al., 2003; Hori, 2003; Mohhramipour and Sahaf, 2006). محل ساخت و ذخیره اسانس‌ها بسته به

گونه گیاه ممکن است بخش‌های مختلف گیاه از قبیل برگ، ریشه، ساقه، گل و ... باشند. عموماً مهم‌ترین ترکیبات اسانس‌های گیاهی شامل هیدروکربن‌ها، ترپن‌ها، استرها، آلدئیدها، کتون‌ها و ... هستند، که بین آن‌ها ترکیبات اکسیژن‌دار منبع اصلی تولیدکننده بو می‌باشند (Handa et al., 2008).

۱-۲-۶-۲- مکانیسم اثر اسانس‌ها

مکانیسم اثر اسانس‌ها ممکن است به صورت ضربه‌ای، بیش‌فعالی، تشنج، فلج و مرگ حشرات باشد. برخی اسانس‌ها روی انتقال دهنده‌های عصبی اکتوپامین و برخی دیگر در کانال کلر تداخل ایجاد می‌کنند (Isman, 2006). برخی منوترپن‌های موجود در اسانس‌ها به صورت مهارکننده آنزیم استیل کولین استراز عمل می‌کنند (Isman and Machial, 2006). برخی ترکیبات دیگر موجود در اسانس‌ها از قبیل eugenol و cinnamic alcohol سبب افزایش ضربان قلب و افزایش تولید cAMP در سیستم عصبی می‌شوند (Enan, 2001).

۳-۲-۶-۲- مونوترپنوئیدها

ساختمان مونوترپن‌ها ۱۰ کربنه بوده و ترکیبات فرار و چربی دوست هستند. این مواد به سرعت از طریق جلد کوتیکولی حشرات نفوذ و باعث اختلالات فیزیولوژیک در آن‌ها می‌شوند (Lee et al., 2002). همچنین این ترکیبات به دلیل فراریت بالا، به صورت تدخینی برای کنترل آفات انباری به کار می‌روند (Rajendran and Sriranjini, 2008). پیرتروئیدها مهم‌ترین مشتق مونوترپنوئیدی هستند که در برگ و گل‌های برخی از گونه‌های *Chrysanthemum sp* وجود دارد که سبب عدم تعادل و فلج‌کنندگی در حشرات می‌شوند (Coat et al., 1991).

۴-۲-۶-۲- دی‌ترپنوئیدها

ساختمان دی‌ترپن‌ها ۲۰ کربنه و از ۴ واحد ایزوپرن تشکیل شده‌اند. این ترکیبات غیر فرار بوده و در بعضی از گیاهان (تیره‌های Asteraceae, Lamiaceae و Verbenaceae) بازدارنده تغذیه و در برخی گیاهان دیگر (Euophorbiaceae) در عمل پوست‌اندازی حشرات گیاه‌خوار اختلال ایجاد می‌کنند (Panda and Kush, 1995).

۵-۶-۲- تری ترپنوئیدها

ساختمان این ترکیبات ۵ کربنه و از ۶ واحد ایزوپرن تشکیل شده‌اند. این ترکیبات از بزرگ‌ترین و مهم‌ترین ترکیبات ثانویه‌ی موجود در گیاهان دارویی، معطر و ادویه‌ای (مانند کوربیتاسین از تیره کدوئیان و آزادیراختین از درخت نیم) می‌باشند.

۶-۶-۲- سسکوئی ترپنوئیدها

سسکوئی ترپنوئیدها ترکیبات حلقوی یا خطی ۱۵ کربنه هستند و نقش عمده آن‌ها در دفاع گیاهان مقابل حشرات گیاه‌خوار به عنوان بازدارنده‌های تغذیه‌ای حشرات هستند (Schoohoven et al., 2005). به عنوان مثال گروه دریمان اسکلتال^۳ از گیاه *Polygonum hydropiper L.* از سسکوئی‌ترین‌ها بوده و از قوی‌ترین دورکننده‌های تغذیه‌ای حشرات به شمار می‌روند.

۷-۲- دورکننده‌ها و ترکیبات ضد تغذیه‌ای حشرات

۱-۷-۲- ترکیبات بازدارنده تغذیه

در دهه‌های ۱۹۷۰-۱۹۸۰ با مشاهده اثر بازدارندگی تغذیه تعداد زیادی از حشرات روی عصاره بذر نیم و آزادیراختین، فرضیه استفاده از عوامل بازدارنده تغذیه تقویت شد (Lale and Abdulraman, 1999). بازدارنده‌های تغذیه در کشاورزی ممکن است مشکلاتی ایجاد کنند (Isman, 2000). ابتدا اینکه ممکن است افراد مختلف به یک بازدارنده تغذیه پاسخ‌های متفاوتی بدهند، یعنی این ترکیب برای یک آفت بازدارنده تغذیه باشد، ولی برای سایر آفات جلب کننده باشد (Isman, 1993). مشکل دیگر انعطاف‌پذیر بودن حشرات آفت می‌باشد، به طوری که حساسیت حشرات به مرور به این ترکیب کم‌تر می‌شود. این موضوع برای برخی ترکیبات مانند آزادیراختین گزارش شده است (Akhtar and Isman, 2004).

۲-۷-۲- دورکننده‌ها

در قدیم اسانس گیاهان معطر به عنوان دورکننده در ارتش استفاده می‌شد، به طوری که سربازان یک کرم حاوی ترکیب *Citronella camphor* و پارافین را که فقط ۲ ساعت

³ Drimansklal

مؤثر بود، استفاده می‌کردند (Covell, 1943). امروزه از برخی از دورکننده‌ها به عنوان ماده مؤثره استفاده می‌شود. ماده ۲- فن اتیل پروپیونات^۴، ترکیبی از اسانس بادام زمینی و p-menthan-3,8-diol است که از نعنای به دست آمده و دارای اثر دورکنندگی می‌باشد، ولی اثر آن‌ها ممکن است کمتر از یک ساعت باشد (Fradin and Day, 2002). در نواحی حاره‌ای از DEET به عنوان دورکننده پشه‌ها برای جلوگیری از تب زرد و مالاریا استفاده می‌شود. همچنین از اسانس‌های گیاهی (تیمول مشتق شده از آویشن و منتول مشتق شده از نعنا) برای تدخین کندوهای زنبور عسل برای دور کردن کنه Varroa Oudemans و jacobsoni و Acarapis woodi Rennie استفاده می‌شود (Floris et al., 2004).

۸-۲- میزان استفاده از حشره‌کش‌های گیاهی در دنیای امروز

بیشترین استفاده از حشره‌کش‌های گیاهی را آمریکای شمالی داشته است. همچنین در دیگر کشورها از قبیل کانادا و مکزیک (حشره‌کش‌های بر پایه نیم و اسانس‌های گیاهی)، لهستان (پیرتروم و نیکوتین)، دانمارک (پیرتروم و روتنون)، آلمان (پیرتروم و نیم)، هلند (فقط پیرتروم)، انگلستان (پیرتروم، روتنون و نیکوتین)، آمریکای لاتین (پیرتروم، روتنون، نیم و اسانس سیر و مشتقات گیاهان بومی) و آفریقای جنوبی (فقط پیرتروم) استفاده می‌شده است (Isman, 2006).

۹-۲- محدودیت‌ها و موانع تولید تجاری حشره‌کش‌های گیاهی

برای تولید تجاری حشره‌کش‌های گیاهی چندین مانع وجود دارد: ابتدا تامین منابع گیاهی مورد نیاز و استاندارد کردن ترکیبات شیمیایی استخراج شده از آن‌ها و اخذ مجوز استفاده از حشره‌کش‌های گیاهی می‌باشد. از دیگر مشکلات استفاده از حشره‌کش‌های گیاهی می‌توان به تاثیر تدریجی برخی از آن‌ها روی آفات هدف و پایداری کم این حشره‌کش‌ها در محیط اشاره کرد (Isman, 1997).

۱-۹-۲- تامین منابع گیاهی مورد نیاز

برای تولید و تجاری کردن حشره‌کش‌های گیاهی، ابتدا گیاه مورد نظر باید در مقیاس وسیع کشت شود و قابل دسترس باشد. همچنین بایستی رشد گیاه محدود به فصل خاصی نبوده و یا اینکه گیاه مورد نظر در طبیعت به صورت فراوان وجود داشته باشد و یا

⁴ 2-phenethyl propionate

به منظور هدف دیگری پرورش یابد. به عنوان مثال گیاه رزماری (Rosmarinus officinalis L.) به عنوان طعم‌دهنده مواد غذایی کشت می‌شود.

۲-۹-۲- تصویب و ثبت حشره‌کش‌های گیاهی

سازمان‌های جهانی بهداشت و افزایش آلودگی محیطی برای استفاده از یک حشره‌کش جدید بدون در نظر گرفتن سمیت آن سخت‌گیری‌های بسیاری انجام می‌دهند. مهم‌ترین مانع تجاری شدن حشره‌کش‌های گیاهی ثبت آن‌ها می‌باشد. هیچ تفاوتی بین مراحل ثبت حشره‌کش‌های سنتزی و حشره‌کش‌های گیاهی وجود ندارد. کشورها از پس تامین هزینه‌های ثبت چند میلیون دلاری حشره‌کش‌ها بر نمی‌آیند و میزان استفاده از حشره‌کش‌های گیاهی بسیار کم و محدود به محصولات گلخانه‌ای و کشاورزی ارگانیک می‌شود. این مسائل باعث می‌شود که یک حشره‌کش را بدون در نظر گرفتن اثرات سمی آن و انجام آزمایش‌های مراحل ثبت آن استفاده کنند، در صورتی که محصولات گیاهی نیز ممکن است خطراتی داشته باشند (Trumble, 2002). به طور کلی امروزه حشره‌کش‌های گیاهی تنها یک درصد از بازار مصرف حشره‌کش‌ها را در جهان تشکیل می‌دهند (Rozman et al., 2007).

۲-۱۰- خاک دیاتومه

جلبک‌های تک سلولی که متعلق به دوره‌های ائوسن و میوسن زمین‌شناسی هستند و در آب‌های شیرین و دریا وجود دارند. دیواره سلولی آن‌ها به نام فراستول بوده و از جنس دی اکسید سیلیکان است. دیاتوم‌ها بر اساس شکل و تزئینات دیواره سلولی رده‌بندی می‌شوند. دیواره سلولی آن‌ها بعد از مرگ دیاتوم‌ها در کف آب‌ها به شکل سنگی به نام دیاتومیت در می‌آید. اندازه ذرات دیاتوم‌ها پس از استخراج و آسیاب به ۰/۵ تا ۱۰۰ میکرومتر می‌رسد. سپس دیاتومیت طی حرارت دادن خشک شده و رطوبت آن به ۳ تا ۶ درصد کاهش می‌یابد. خاک به دست آمده را خاک دیاتومه می‌نامند (Korunic, 1998)

ذرات خاک دیاتومه در هنگام حرکت حشرات به سطح بدن آفات چسبیده و به دلیل تخلخل بسیاری که دارند سبب جذب لایه مومی کوتیکول و آب بدن حشرات می‌شوند. همچنین روی سطح کوتیکولی بدن حشرات به دلیل وجود دی اکسید سیلیکان ایجاد خراش نموده و سبب مرگ حشره می‌شود (Ebeling, 1971). توانایی خاصیت حشره‌کشی خاک دیاتومه‌ها به عوامل مختلف از قبیل گونه حشره، خصوصیات خاک دیاتومه، شرایط

محیطی و ... بستگی دارد (Korunic, 1997). به عنوان مثال، شیشه آرد Tribolium spp. را مقاوم‌ترین گونه سخت‌بالپوش انباری به خاک دیاتومه گزارش کرده‌اند (Fields and Korunic, 2000). اندازه ذرات نیز در توانایی حشره‌کشی آن‌ها نقش موثری دارند. به طوری که ذرات کمتر از ۱۰ میکرومتر، از ذرات با اندازه بزرگ‌تر بهتر عمل می‌کنند. همچنین شکل و منشا جغرافیایی دیاتوم‌ها، چگالی، قدرت چسبندگی، مقدار pH، مقدار SiO₂ خاک دیاتومه روی توانایی آن تاثیر می‌گذارد (Korunic, 1997). خاک دیاتومه آفت‌کشی ایمن برای محافظت محصولات انباری شناخته شده است. از خصوصیات آن می‌توان به ایمن بودن، سمیت کم روی پستانداران، هزینه کم و تاثیر اندک روی کیفیت محصولات نام برد. با این حال، کاهش وزن هکتولتری و کاهش تاثیر خاک دیاتومه در رطوبت بالا استفاده از آن‌ها را محدود کرده است (Fields, 1998). در نتیجه برای حل این مشکل می‌توان آن‌ها را در غلظت‌های پایین و در تلفیق با دیگر ترکیبات مانند تلفیق با هوادهی، سموم تدخینی، گرما و ... مورد استفاده قرار داد (Winks and Russell, 1997; Golob, 1997; Fields et al., 1994a, 1994b). در مورد انواع ایرانی خاک دیاتومه نیز مطالعات مختلفی صورت گرفته است (سادات گلستان هاشمی، ۱۳۸۹؛ ضیائی و همکاران، ۱۳۹۵).

۱۱-۲- برخی از ترکیبات موثر در اسانس‌ها با خاصیت حشره‌کشی

۱۱-۲-۱- تیمول^۵

اسید تیمیک فنلی به فرمول C₁₀H₁₄O در آب و گلیسرین غیر محلول بوده در محیط‌های بسته برای کنترل باکتری، قارچ، ویروس‌های پاتوژن به کار می‌رود. این ترکیب در طبیعت به سرعت تجزیه شده و توسط فرایندهای شیمیایی و فیزیکی به مواد غیر سمی برای انسان و دیگر موجودات تبدیل می‌شود. در یک تحقیق Sedy and Koschier (۲۰۰۳) گزارش کرد این مونوترپن روی *Thrips tabaci* و *Frankliella occidentalis* Pergande اثر بازدارندگی تخم‌ریزی و تغذیه ای دارد.

۱۱-۲-۲- سینئول^۶

مایعی بی‌رنگ با طعم تند و خنک کننده است که از اسانس کاج و اوکالیپتوس به

⁵ Thymol

⁶ Cineole

دست می‌آید. در آب غیر قابل حل بوده و از ۱ و ۸-سینئول روی شیشه آرد و شیشه برنج استفاده می‌شود (Lee et al., 2003).

۳-۱۱-۲- لیمونن^۷

یک ترپن که باعث افزایش تحریک پذیری عصبها شده و موجب تشنج و فلج می‌گردد. به صورت آئروسول روی مگس خانگی، سیرسیرک، کک، کنه‌های دامی و... کاربرد دارد. این ترکیب علیه سوسک چینی حبوبات، شیشه برنج، شیشه آرد و شیشه دنداندار اثر سمیت تنفسی داشته است (Park et al., 2003; Lee et al., 2003).

۴-۱۱-۲- لینالول^۸

یک ترپن الکلی و جزء سموم تنفسی است که فعالیت اعصاب حسی را افزایش می‌دهد. این ماده منجر به مرگ مورچه و ککها می‌شود. همچنین روی سوسک ریز غلات دارای اثر سمیت تنفسی است (Rozman et al., 2007).

۵-۱۱-۲- کامفور^۹

ترکیبی با فرمول $C_{10}H_{16}O$ دارای خاصیت دورکنندگی روی حشرات همراه با بو و طعمی تند است. این ماده منجر به تحریکات عصبی می‌شود و علیه شیشه برنج و سوسک ریز غلات کاربرد دارد (Lee et al., 2002; Rozmen et al., 2007).

۶-۱۱-۲- آلفا پینن^{۱۰}

این ماده دارای بوی کافور بوده و فعالیت ضد باکتری دارد. این مونوترپن به عنوان ترکیب اصلی اسانس درمنه روی شیشه آرد، شیشه برنج و .. سمیت تنفسی دارد (Negahban et al., 2007).

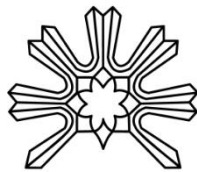
⁷ Limonene

⁸ Linalool

⁹ Camphor

¹⁰ α -Pinene

Title and Author:	Insecticidal and repellency effect of five essential oils and their integration with diatomaceous earth in control of saw toothed grain beetle, <i>Oryzaephilus surinamensis</i> (L.) Hawzhin Ghafouripour
Supervisor:	Dr. Hooshang Rafiee Dastjerdi- Dr. Bahram Naseri
Graduation date:	9 November 2019
Number of pages:	93
<p>Abstract</p> <p>Research Aim: In this research, toxicity and repellent properties of five essential oils of <i>Cinnamomum verum</i> L., <i>Artemisia annua</i> L., <i>Allium sativum</i> L., <i>Mentha pulegium</i> L. and <i>Vitex agnus</i> L. and their combined effects with Sayan® DE formulation were studied on saw toothed grain beetle, <i>Oryzaephilus surinamensis</i> (L.) in labrotatory condition.</p> <p>Research method: Experiments were performed in the incubator at 27 ± 2 °C, $65 \pm 5\%$ RH and continous darkness with four replications. The essential oils were extracted by distillation method using Clevenger apparatus. Mortality was evaluated to determine the insecticidal and repellency effects of essential oils after 24 h. Then, the insecticidal effect of essential oils was investigated with food and without food commodity.</p> <p>To study the effect of essential oils combined with diatomaceous earth (DE), different concentrations of DE (formulation of sayan) were mixed with nuts and infused in glass containers. Different concentrations of essential oils were sampled on filter paper with different doses of DE and then 15 adult insects were added. Mortality of <i>O. surinamensis</i> was recorded 24 and 72 h after treatment. GC-mass technique was used to identify essential oil components.</p> <p>Findings: Results indicated that the toxicity of the essential oils was reduced in the presence of food grains. Result of respiratory toxicity showed that the essential oil of <i>A. sativum</i> and <i>M. pulegium</i> had high insecticidal activity against <i>O. surinamensis</i>. The LC₅₀ of these essential oils was 10.32 and 25.88 ml/L, respectively. In the study of DE toxicity on the tested adult insect, the LC₅₀ value was 86.76 mg/kg. The highest repellency was observed for <i>A. annua</i> and the lowest for <i>M. pulegium</i>. The combination of DE with essential oils of <i>V. agnus</i>, <i>A. sativum</i> and <i>M. pulegium</i> increased insecticidal effect and essential oils of <i>C. verum</i> and <i>A. annua</i> reduced insecticidal effect.</p> <p>Conclusion: According to the results, it can be stated that the combination of essential oils of <i>M. pulegium</i>, <i>V. agnus</i> and <i>A. sativum</i> with DE can be used to reduce the populations of <i>O. surinamensis</i>. This study also showed that the essential oils of <i>A. annua</i> and <i>C. verum</i> have a great repellent effect on <i>O. surinamensis</i>.</p> <p>Keywords: Essential oils, Repellency effect, Diatomaceous earth, <i>Oryzaephilus surinamensis</i>, Combination effect</p>	



University of Mohagheh Ardabili
Faculty of Agriculture and Natural Resources
Department of Plant Protection

Thesis submitted in partial fulfillment for the degree of
M.Sc. in Agricultural Entomology

Insecticidal and repellency effect of five essential oils and their
integration with diatomaceous earth in control of saw toothed grain
beetle, *Oryzaephilus surinamensis* (L.)

By:

Hawzhin Ghafouripoor

Supervisor:

Dr. Hooshang Rafiee Dastjerdi
Dr. Bahram Naseri

Advisor:

Dr. Mahdi Hassanpour
Dr. Vahid Mahdavi

November -2019