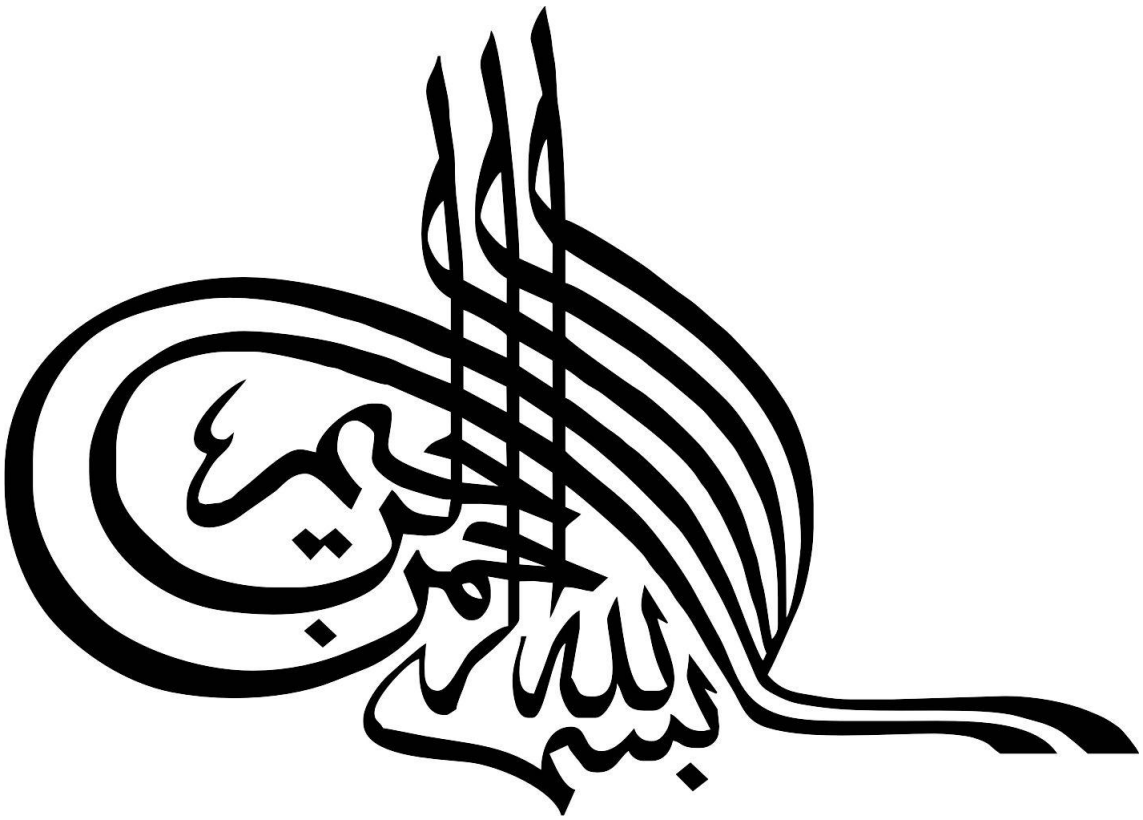

بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد حشره شناسی کشاورزی

بررسی اثر عصاره چند گونه گیاهی و قارچ بیمارگر *Beauveria bassiana* Balsamo جهت کنترل آفت انباری شب پره هندی *Plodia interpunctella* Hubner در شرایط آزمایشگاهی

نگارنده : جمیله کسلخه

استاد راهنما

دکتر علی درخشان شادمهری

استاد مشاور

دکتر مریم عجم حسنی

تیر ماه ۱۳۹۶

دانشگاه شاهرود

دانشکده کشاورزی

گروه : گیاهپزشکی

پایان نامه کارشناسی ارشد خانم ..... جمیله کسلخه..... به شماره دانشجویی: ..... ۹۲۱۱۷۶۴.....

تحت عنوان: بررسی اثر عصاره چند گونه گیاهی و قارچ بیمارگر *Beauveria bassiana* Balsamo جهت کنترل آفت انباری شب پره هندی *Plodia interpunctella* Hubner در شرایط آزمایشگاهی

در تاریخ ..... توسط کمیته تخصصی زیر جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد مورد ارزیابی و با درجه ..... مورد پذیرش قرار گرفت.

اساتید راهنما	امضاء	اساتید مشاور	امضاء
نام و نام خانوادگی : علی درخشان شادمهری		نام و نام خانوادگی : مریم عجم حسنی	
نام و نام خانوادگی :		نام و نام خانوادگی :	

اساتید داور	امضاء	نماینده تحصیلات تکمیلی	امضاء
نام و نام خانوادگی : مسعود حکیمی تبار		نام و نام خانوادگی : زهرا گنجی نوروزی	
نام و نام خانوادگی : شیده موجرلو			

تشکر و قدردانی

سپاس بی‌کران پروردگار یکتا را که هستی‌مان بخشید و به طریق علم و دانش رهنمونمان شد و به همنشینی رهروان علم و دانش مفتخرمان نمود و خوشه چینی از علم و معرفت را روزیمان ساخت.

بدون شک جایگاه و منزلت معلم، اجّل از آن است که در مقام قدردانی از زحمات بی شائبه او، با زبان قاصر و دست ناتوان، چیزی بنگاریم.

اما از آنجایی که تجلیل از معلم، سپاس از انسانی است که هدف و غایت آفرینش را تامین می‌کند و سلامت امانت‌هایی را که به دستش سپرده‌اند، تضمین؛ بر حسب وظیفه و از باب " من لم یشکر المنعم من المخلوقین لم یشکر اللّه عزّ و جلّ" :

از پدر و مادر عزیزم... این دو معلم بزرگوارم... که همواره بر کوتاهی و درشتی من، قلم عفو کشیده و کریمانه از کنار غفلت‌هایم گذشته‌اند و در تمام عرصه‌های زندگی یار و یاوری بی چشم‌داشت برای من بوده‌اند؛

از برادران عزیزم تکیه گاه من در مواجهه با مشکلات و مایه دلگرمی‌ام و خواهر نازنینم شادی بخش و مایه آرامشم؛

از استاد با کمالات و فرهیخته؛ جناب آقای دکتر علی درخشان شاد مهری که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی، از هیچ کمکی در این عرصه بر من دریغ ننمودند و زحمت راهنمایی این پایان نامه را بر عهده گرفتند؛

از استاد فرزانه و دلسوز، سرکار خانم دکتر مریم عجم حسنی، که زحمت مشاوره این پایان نامه را متقبل شدند که بدون مساعدت ایشان، این پروژه به نتیجه مطلوب نمی رسید؛

از اساتید ارجمند و شایسته؛ جناب آقای دکتر مسعود حکیمی تبار و سرکار خانم دکتر شیده موجرلو که زحمت داوری این پایان نامه را متقبل شدند؛

از نماینده محترم تحصیلات تکمیلی سرکار خانم دکتر زهرا گنجی نوروزی به پاس حضور ارزشمند شان؛

و تمامی کسانی که مرا در این دوره یاری نمودند؛

کمال تشکر و قدردانی را دارم.

تعهد نامه

اینجانب جمیله کسلخه دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته حشره شناسی کشاورزی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه بررسی اثر عصاره چند گونه گیاهی و قارچ بیمارگر *Beauveria bassiana* Balsamo جهت کنترل آفت انباری شب‌پره هندی *Plodia interpunctella* Hubner در شرایط آزمایشگاهی تحت راهنمائی علی درخشان شادمهری متعهد می شوم.

- تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است.
- در استفاده از نتایج پژوهشهای محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است.
- مطالب مندرج در پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است.
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه صنعتی شاهرود » و یا « Shahrood University of Technology » به چاپ خواهد رسید.
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان نامه رعایت می گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه ، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آنها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری ، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است .

تاریخ

امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

- کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، کتاب، برنامه های رایانه ای، نرم افزار ها و تجهیزات ساخته شده) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد. این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود.
- استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی باشد.

* متن این صفحه نیز باید در ابتدای نسخه های تکثیر شده پایان نامه وجود داشته باشد .

چکیده

در این تحقیق اثرات حشره‌کشی عصاره‌های چهار گونه گیاهی شامل زیتون تلخ *Melia azedarach* L.، اکالیپتوس *Eucalyptus citriodora* Hook، خرزهره *Nerium oleander* L.، رزماری *Rosmarinus officinalis* L. و سه ایزوله قارچ بیماری‌زای حشرات *Beauveria bassiana* Balsamo بر روی لاروهای سن سوم شب‌پره هندی *Plodia interpunctella* Hubner مورد بررسی قرار گرفت. آزمایشات در شرایط دمایی ۱± ۲۶°C، رطوبت نسبی ۳±۷۰٪ و دوره نوری ۱۶:۸ساعت در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار انجام گرفت. مرگ و میر لاروها، تعداد لاروهای شفیره شده، تعداد حشرات کامل سالم و طول عمر حشرات کامل ثبت شد. نتایج آزمایش عصاره‌های گیاهی نشان داد که ۳۶ ساعت پس از تیمار، خرزهره با غلظت ۹۰٪ و رزماری با غلظت ۸۰ ٪ با میانگین مرگ و میر ۹۰٪ بیشترین و زیتون تلخ با غلظت ۱۵٪ با میانگین صفر کمترین تأثیر را بر میزان مرگ و میر لارو شب-پره هندی داشته‌اند. رزماری کمترین مقدار LC_{50} برابر با ۴۱/۲۲ درصد و زیتون تلخ بیشترین مقدار LC_{50} برابر با ۷۷/۴۰ درصد را داراست و ۴۸ ساعت پس از تیمار اکالیپتوس با غلظت ۸۵٪ با میانگین ۹۲/۵٪، خرزهره با غلظت ۹۰٪ و رزماری با غلظت ۸۰٪، با میانگین ۹۰٪ بیشترین و زیتون تلخ با غلظت ۱۵٪ با میانگین صفر کمترین تأثیر را بر میزان مرگ و میر لارو شب‌پره هندی داشته‌اند و رزماری کمترین مقدار LC_{50} برابر با ۳۳/۴۷ درصد و زیتون تلخ بیشترین مقدار LC_{50} برابر با ۶۹/۵۹ درصد را داراست. بیشترین تعداد لارو شفیره شده در تیمار اکالیپتوس با غلظت ۱۵٪ با میانگین ۹۲/۵٪ و کمترین تعداد آن نیز در تیمار اکالیپتوس با غلظت ۸۵٪ با میانگین صفر مشاهده شده است. بیشترین تعداد حشره کامل از تیمار زیتون تلخ با غلظت ۱۵٪ با میانگین ۸۵٪ و کمترین تعداد آن از تیمارهای اکالیپتوس با غلظت ۸۵٪ و رزماری با غلظت ۸۰٪ با میانگین صفر حاصل گردیده است. بیشترین طول عمر حشره کامل در تیمارهای خرزهره با غلظت ۳۰٪ و زیتون تلخ با غلظت ۱۵٪ با

میانگین ۶/۵ روز و رزماری با غلظت ۱۵٪ با میانگین ۶/۲۵ روز و کمترین آن در تیمارهای اکالیپتوس با غلظت ۸۵٪ و رزماری با غلظت ۸۰٪ با میانگین صفر مشاهده گردیده است.

نتایج آزمایش ایزوله‌های قارچ نشان داد بالاترین تأثیر بر میزان مرگ و میر لارو شب‌پره هندی را جدایه Bb_3 با میانگین ۸۲/۵٪ و کمترین تأثیر را نیز Bb_1 با میانگین ۴۵٪ داشته است. بیشترین تعداد لارو شفیره شده در تیمار Bb_2با میانگین ۴۲/۵٪ و کمترین تعداد آن در تیمار Bb_3 با میانگین ۱۷/۵٪ مشاهده گردید. بیشترین تعداد حشره کامل سالم در تیمار Bb_2با میانگین ۳۲/۵٪ و کمترین تعداد آن نیز در تیمار Bb_3 با میانگین ۱۲/۵٪ مشاهده گردید. بیشترین طول عمر حشره کامل در تیمار Bb_1، با میانگین ۴/۲۵ روز و کمترین آن در تیمار Bb_3 با میانگین ۳/۲۵ روز مشاهده شده است.کمترین میزان LT_{50} در تیمار Bb_3 برابر با ۳/۳ روز و بیشترین میزان آن در تیمار Bb_1 برابر با ۹/۴ روز مشاهده شده است.

کلمات کلیدی: ***B. bassiana***، **عصاره گیاهی، شب‌پره هندی، خرزهره، اکالیپتوس، رزماری، زیتون تلخ**

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه..... ۱

۱-۱ کلیات..... ۲

۱-۲ آفتکش‌های زیستی..... ۴

۱-۲-۱ ترکیبات گیاهی..... ۵

۱-۲-۲ قارچ‌های بیماریزای حشرات..... ۶

۱-۳ اهداف پژوهش..... ۸

فصل دوم: بررسی منابع..... ۹

۲-۱ اهمیت آفات انباری در جهان و ایران..... ۱۰

۲-۲ معرفی شب‌پره هندی..... ۱۲

۲-۲-۱ تخم..... ۱۳

۲-۲-۲ لارو..... ۱۳

۲-۲-۳ شفیره..... ۱۴

۲-۲-۴ حشره کامل..... ۱۴

۲-۲-۵ چرخه زندگی..... ۱۵

۲-۲-۶ خسارت..... ۱۶

۲-۲-۷ روش‌های مدیریت..... ۱۶

۲-۲-۷-۱ نظارت ۱۶
۲-۲-۷-۲ مدیریت بهداشت ۱۷
۲-۲-۷-۳ کنترل شیمیایی ۱۷
۲-۲-۷-۴ مهار زیستی ۱۷
۲-۳ اهمیت ترکیبات گیاهی ۱۷
۲-۴ معرفی گیاهان استفاده شده در این تحقیق ۲۰
۲-۴-۱ خرزهره ۲۰
۲-۴-۲ رزماری ۲۱
۲-۴-۳ زیتون تلخ ۲۴
۲-۴-۴ اکالیپتوس ۲۵
۲-۵ عصاره‌های گیاهی ۲۶
۲-۵-۱ فرایند تولید عصاره‌های گیاهی ۲۷
۲-۵-۲ مراحل عصاره‌گیری ۲۷
۲-۵-۳ انواع روش‌های استخراج و عصاره‌گیری ۲۷
۲-۵-۴ تحقیقات انجام شده در رابطه با اثرات حشره‌کشی عصاره‌های گیاهی ۳۱
۲-۶ قارچ‌های بیماریزای حشرات ۴۰
۲-۶-۱ مزایا و معایب استفاده از قارچ‌ها در کنترل آفات ۴۳
۲-۶-۲ جایگاه قارچ‌های بیماریزای حشرات ۴۵
۲-۶-۳ نحوه آلوده‌سازی حشرات توسط قارچ‌ها ۴۵
۲-۶-۴ انتقال افقی قارچ‌های بیماریزای حشرات ۴۶

۲-۶-۵ پایداری محصولات قارچی ۴۶
۲-۶-۶ اهمیت و قدمت قارچ *B. bassiana* ۴۶
۲-۶-۷ شکل شناسی قارچ *B. bassiana* ۴۸
۲-۶-۸ تحقیقات انجام شده در رابطه با اثرات حشره‌کشی قارچ *B. bassiana* ۵۰
فصل سوم: مواد و روش‌ها ۵۵
۳-۱ پرورش شب‌پره هندی ۵۶
۳-۲ تهیه عصاره‌های گیاهی ۵۷
۳-۳ تهیه و کشت جدایه‌های قارچ *B. bassiana* ۵۹
۳-۴ خالص کردن قارچ ۶۰
۳-۵ تهیه سوسپانسیون اسپور قارچ ۶۱
۳-۶ تعیین غلظت سوسپانسیون کنیدی ۶۱
۳-۷ تعیین درصد جوانه‌زنی کنیدیوم‌ها ۶۲
۳-۸ آزمایش زیست سنجی ۶۳
۳-۸-۱ روش زیست سنجی با عصاره‌های گیاهی ۶۳
۳-۸-۲ روش زیست سنجی با قارچ *B. bassiana* ۶۳
۳-۹ تجزیه و تحلیل داده‌ها ۶۴
فصل چهارم: نتایج و بحث ۶۵
۴-۱ بررسی اثر عصاره‌های گیاهی روی شب‌پره هندی ۶۶
۴-۲ اثر جدایه‌های قارچ *B. bassiana* ۷۲
۴-۳ بحث ۷۸

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل۲-۱ تخم شب‌پره هندی..... ۱۳

شکل۲-۲ لارو شب‌پره هندی..... ۱۴

شکل۲-۳ شفیره شب‌پره هندی..... ۱۴

شکل۲-۴ حشره کامل شب‌پره هندی..... ۱۵

شکل۲-۵ تغذیه لارو شب پره‌هندی..... ۱۶

شکل۲-۶ خرزهره *Nerium oleander* L. ۲۰

شکل۲-۷ اکلیل کوهی (رزماری) *Rosmarinus officinalis* L. ۲۲

شکل۲-۸ زیتون تلخ *Melia azedarach* L. ۲۴

شکل ۲-۹ اکالیپتوس *Eucalyptus citriodora* Hook. ۲۵

شکل۲-۱۰ تیپ رشدی *Beauveria bassiana* در محیط کشت..... ۴۹

شکل۲-۱۱ اندام غیرجنسی و روش تکثیر غیرجنسی *B.bassiana*..... ۴۹

شکل۲-۱۲ کنیدی و کنیدیفور در گونه *B. bassiana*..... ۴۹

شکل۲-۱۳ لارو آلوده به *B.bassiana*..... ۵۰

شکل ۳-۱ کلونی لارو شب‌پره هندی (عکس اصلی)..... ۵۷

شکل۳-۲ شیشه تهیه عصاره گیاهی (عکس اصلی)..... ۵۸

شکل ۳-۳ کلونی‌های *B. bassiana* روی محیط کشت PDA (عکس اصلی)..... ۶۰

شکل ۳-۴ اسپورهای *B. bassiana* روی لام هموسیتومتر (عکس اصلی)..... ۶۲

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۴-۱ تجزیه واریانس تاثیر عصاره‌های گیاهی با غلظت های مختلف بر مرگ و میر لارو بعد از ۳۶ و ۴۸ ساعت، تعداد لارو شفیره شده، تعداد حشره کامل سالم و طول عمر حشره کامل..... ۶۶

جدول ۴-۲ مقایسه میانگین تاثیر عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های مختلف بر میزان مرگ ومیر لارو در ۳۶ ساعت اول..... ۶۷

جدول ۴-۳ مقایسه میانگین تاثیر عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های مختلف بر میزان مرگ و میر لارو در ۴۸ ساعت اول..... ۶۸

جدول ۴-۴ مقایسه میانگین تاثیر عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های مختلف بر تعداد لارو شفیره شده... ۶۹

جدول ۴-۵ مقایسه میانگین تاثیر عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های مختلف بر تعداد حشره کامل سالم ۷۰

جدول ۴-۶ مقایسه میانگین تاثیر عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های مختلف بر طول عمر حشره کامل... ۷۱

جدول ۴-۷ آنالیز پروبیت روابط مرگ و میر غلظت پس از ۳۶ و ۴۸ ساعت ناشی از سمیت عصاره‌های گیاهی روی لارو سن سوم شب‌پره هندی *P. interpunctella*..... ۷۲

جدول ۴-۸ تجزیه واریانس اثر سه ایزوله قارچ *B. bassiana* بر مرگ و میر، تعداد لارو شفیره شده، تعداد حشره کامل و طول عمر حشره کامل..... ۷۳

جدول ۴-۹ مقایسه‌ی میانگین اثر سه ایزوله قارچ *B. bassiana* بر مرگ و میر لارو..... ۷۳

جدول ۴-۱۰ مقایسه میانگین اثر سه ایزوله قارچ *B. bassiana* بر تعداد لارو شفیره شده..... ۷۴

جدول ۴-۱۱ مقایسه میانگین اثر سه ایزوله قارچ *B. bassiana* بر تعداد حشره کامل..... ۷۴

جدول ۴-۱۲ مقایسه میانگین اثر سه ایزوله قارچ *B. bassiana* بر طول عمر حشره بالغ..... ۷۵

فهرست نمودارها

عنوان **صفحه**

نمودار ۴-۱ تاثیر عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های مختلف بر میزان مرگ و میر لارو در ۳۶ ساعت..... ۶۷

نمودار ۴-۲ تاثیر عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های مختلف بر میزان مرگ و میر لارو در ۴۸ ساعت..... ۶۸

نمودار ۴-۳ تاثیر عصاره های گیاهی با غلظت های مختلف بر تعداد لارو شفیره شده..... ۶۹

نمودار ۴-۴ تاثیر عصاره های گیاهی با غلظت های مختلف بر تعداد حشره کامل سالم..... ۷۰

نمودار ۴-۵ تاثیر عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های مختلف بر طول عمر حشره کامل..... ۷۱

نمودار ۴-۶ اثر سه ایزوله قارچ *B. bassiana* برمیزان مرگ و میر لارو..... ۷۳

نمودار ۴-۷ اثر سه ایزوله قارچ *B. bassiana* بر تعداد لارو شفیره شده..... ۷۴

نمودار ۴-۸ اثر سه ایزوله قارچ *B. bassiana* بر تعداد حشره کامل سالم..... ۷۵

نمودار ۴-۹ اثر سه ایزوله قارچ *B. bassiana* بر طول عمر حشره کامل..... ۷۵

نمودار ۴-۱۰ مرگ و میر لارو شب‌پره هندی در برابر زمان تحت اثر قارچ Bb_1..... ۷۶

نمودار ۴-۱۱ مرگ و میر لارو شب‌پره هندی در برابر زمان تحت اثر قارچ Bb_2..... ۷۶

نمودار ۴-۱۲ مرگ و میر لارو شب‌پره هندی در برابر زمان تحت اثر قارچ Bb_3..... ۷۷

فصل اول

مقدمه

۱-۱ کلیات

حشرات زیان‌آور انباری هر سال مقدار قابل توجهی (۱۰ تا ۱۵ درصد کل تولید دانه‌های انباری) از محصولات غذایی را در جهان به ویژه در کشورهای در حال توسعه از بین می‌برند. قدرت تکثیر بالا، همه جازی و چند خوار بودن بسیاری از آفات انباری علت عمده خسارت بالای آنها بوده تا جایی که در انبارهایی با شرایط سنتی میزان خسارت ۱۰ تا ۸۰ درصد گزارش شده است. این آفات با زیان‌های کمی، کیفی و بهداشتی به محصولات انباری، منجر به خسارت‌های سنگینی می‌شوند. یکی از مهمترین آفات انباری شب‌پره هندی *Plodia interpunctella* Hubner است (رودکی و همکاران، ۱۳۹۱). شب‌پره هندی همه جازی است که از طریق سازش‌های رفتاری و فیزیولوژیکی به طیف وسیعی از فرآورده‌های کشاورزی در انبارها حمله می‌کند (بخشی و همکاران، ۱۳۹۱). لارو این شب‌پره همه چیز خوار می‌باشد و یک شبکه ابریشمی در داخل و روی سطح غذا می‌تند و داخل این شبکه توری تغذیه می‌کند. گاهی اوقات محصول آلوده با شبکه ابریشمی پر می‌شود. آلودگی‌های ایجاد شده می‌تواند سبب خسارت مستقیم و هزینه‌های اقتصادی غیرمستقیم مثل هزینه‌های کنترل آفت، کاهش کیفیت و شکایت مصرف کننده باشد (رفیعی کرهرودی و همکاران،۱۳۹۰).

طبق نتیجه یک برآورد، محصولات کشاورزی بوسیله چندین گونه با خسارت بالقوه ۱۶/۹٪ مورد خسارت قرار می‌گیرند (Oerke, 2006). در عصر امنیت غذایی جهانی این میزان خسارت مجاز نمی‌باشد (David and Shankar, 2012). بعنوان مقرون به صرفه‌ترین و راحت‌ترین ابزار برای مدیریت آفات انباری سموم تدخینی فسفین و متیل بروماید به دلیل توانایی آنها برای کشتن طیف وسیعی از آفات و نفوذ آسان آنها به داخل محصول و حداقل باقیمانده به طور گسترده استفاده می‌شوند. احتمالا نقش آنها در آینده محدودتر شود. در حال حاضر، کنترل آفات انباری در سراسر جهان عمدتا وابسته به کاربرد فسفین می‌باشد. هر چند کاربرد مکرر و غیر منطقی آن برای بلند مدت به مشکلات جدی از جمله مقاومت به حشره‌کش، مسمومیت کارگران، افزایش هزینه‌های تولید، اثرات نامطلوب آن بر

موجودات غیرهدف، کاهش دشمنان طبیعی در اکوسیستم دانه ذخیره شده و غیره منجر شده است (Jian-Hua and Ya-Qiang, 2010). متیل بروماید یک فومیگانت[1] مهم در مدیریت حشرات انباری یک ماده خالی کننده اوزون است که تحت ممنوعیت بین المللی پروتکل مونترال است. علاوه بر مسایل زیست محیطی پیرامون حشره‌کش‌های شیمیایی، بسیاری از جمعیت‌های حشرات انباری به مواد شیمیایی متداول مقاوم هستند و مصرف کنندگان همچنان به تقاضا برای مواد غذایی با کیفیت بالا که عاری از آفت و باقیمانده سموم هستند، ادامه می‌دهند (Mbata and Shapiro-Ilan, 2010). سازمان بهداشت جهانی گزارش داده است که سالانه حدود سه میلیون مسمومیت با آفت‌کش، در نتیجه ۲۲۰/۰۰۰ مرگ و میر در سراسر جهان، رخ می‌دهد. در برخی موارد اظهار شده است که بیماری‌هایی مانند سرطان، آلرژی‌ها، اختلالات عصبی و اختلالات تناسلی ممکن است به قرار گرفتن در معرض آفت‌کش‌ها مربوط باشد (Wang *et al*., 2013). در اغلب انبارها، کنترل موثر آفات تا حد زیادی وابسته به حشره‌کش‌های مصنوعی وارداتی است که در حال گران شدن نسبت به درآمد کشاورزان هستند، در نتیجه بسیاری از کشاورزان نمی‌توانند از آنها استفاده کنند (Chimbe and Galley, 1996). در چندین کشور از جمله هند مخلوط کردن هیچ حشره‌کش مصنوعی با دانه ذخیره شده مجاز نیست (Rajashekar *et al*., 2013).

با توجه به اهمیت اقتصادی آفات انباری و مقاوم شدن آنها نسبت به حشره‌کش‌های متداول شیمیایی، یافتن یک روش ایمن، مناسب، اقتصادی و بادوام جهت کنترل و کاهش خسارت این آفات ضروری به نظر می‌رسد (رودکی و همکاران، ۱۳۹۱). توسعه بخش کشاورزی جزو الزامات توسعه عمومی کشور می‌باشد و گسترش و پیشرفت این بخش مستلزم اتخاذ راهبردهای اصولی و درست است. از طرف دیگر ضمن تلاش در جهت دستیابی به عملکرد بالا و کیفیت مطلوب باید توسعه پایدار نیز مورد توجه قرار گیرد. در این راستا توجه هر چه بیشتر برای استفاده از عوامل مهار زیستی در مهار آفات که هزینه و خطر کمتری نسبت به روش شیمیایی دارد، لازم است (مستقیمی و همکاران، ۱۳۹۱).

[1] Fumigant

۱-۲ آفت‌کش‌های زیستی

اصطلاح آفت‌کش زیستی، به ترکیباتی اطلاق می‌شود که برای مدیریت آفات کشاورزی به وسیله اثرات بیولوژیکی خاص، به جای آفت‌کش‌های شیمیایی استفاده می‌شوند و به فرآورده‌های حاوی عوامل کنترل زیستی مانند موجودات زنده طبیعی یا مواد مشتق شده از مواد طبیعی (مانند حیوانات، گیاهان، باکتری‌ها یا مواد معدنی خاص)، شامل ژن‌ها یا متابولیت‌های آنها، برای کنترل آفات اشاره می‌کند. بنابراین آفت‌کش‌های زیستی طیف گسترده‌ای از محصولات بالقوه را شامل می‌شود که می‌توان به شرح زیر طبقه‌بندی کرد:

۱- آفت‌کش‌های میکروبی: آفت‌کش‌های حاوی میکروارگانیسم‌ها مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها یا ویروس‌ها که به گونه‌های خاص آفات حمله می‌کنند.

۲- حفاظت کننده‌های ترکیب شده با گیاه: اینها شامل مواد آفت‌کشی هستند که در گیاهان اصلاح شده ژنتیکی تولید می شوند، بعنوان مثال از طریق ماده ژنتیکی که با گیاه ترکیب شده است.

۳- آفت‌کش‌های بیوشیمیایی: آفت‌کش‌های ساخته شده بر اساس مواد طبیعی که آفات را با مکانیسم‌های غیرسمی کنترل می‌کنند، در مقایسه با آفت‌کش‌های شیمیایی که حاوی مولکول‌های مصنوعی هستند که آفت را مستقیما می‌کشد. آفت‌کش‌های بیوشیمیایی به طبقات مختلف بیولوژیکی کاربردی شامل فرمون‌ها و دیگر سمیوکمیکال‌ها، عصاره‌های گیاهی و تنظیم کننده‌های طبیعی رشد حشره تقسیم می‌شود.

به طور کلی آفت‌کش‌های زیستی نسبت به آفت‌کش‌های متداول چندین مزیت دارند: ۱- آفت‌کش‌های شیمیایی بعلت وجود باقیمانده آنها در غذا، ایجاد مقاومت در جمعیت آفات هدف، کاهش تنوع زیستی و طغیان آفات ثانویه که معمولا به وسیله دشمنان طبیعی کنترل می شوند، باعث آلودگی گسترده محیط زیست و خطری جدی برای سلامتی هستند در مقابل آفت‌کش‌های زیستی، برای انسان و محیط زیست سمیت کمتری دارند، بقایای مضر باقی نمی‌گذارند و معمولا برای آفات

هدف اختصاصی‌تر هستند. اغلب آنها فقط روی آفت هدف تاثیر می‌گذارند. ۲- یک مزیت دیگر اغلب آفت‌کش‌های میکروبی این است که بعلت انتقال عمودی و افقی در میزبان‌های هدف تکرار می‌شوند و در محیط باقی می‌مانند که ممکن است باعث کنترل طولانی مدت جمعیت آفت حتی بدون تکرار کاربرد شود.

از آنجا که استفاده از آفت‌کش‌های زیستی به طور قابل توجهی برای محیط زیست و کاربران امن‌تر و پایدارتر از کاربرد مواد شیمیایی است، استفاده از آنها به عنوان جایگزینی برای آفت‌کش‌های شیمیایی، به خصوص بعنوان اجزای سازنده استراتژی‌های مدیریت تلفیقی آفات (IPM)، مورد علاقه روز افزون است. استفاده از آفت‌کش‌های زیستی به طور کارآمد دانش کاربری ویژه روی عامل و آفت هدف برای بهینه‌سازی زمان استفاده، دوزهای مناسب و فواصل استفاده نیاز دارد (Sporleder and Lacey, 2013).

۱-۲- ۱ ترکیبات گیاهی

در سال‌های اخیر استفاده از حشره‌کش‌های شیمیایی تا حدی اما نه کاملا، کاهش یافته است (David and Shankar, 2012) و امکان محدودترکردن استفاده از آفت‌کش با جستجو برای ابزار جایگزین وجود دارد. در میان گزینه‌های در دسترس بعضی از گیاهان و فرآورده‌های مشتق شده از آنها اخیرا اهمیت پیدا کرده‌اند زیرا تنوع زیستی گیاهی منبع عالی از ترکیبات فعال بیولوژیکی یا آللوکمیکال[1]ها را برای استفاده در حفاظت محصول فراهم کرده است (Gahukar, 2014). آللوکمیکال‌ها متابولیت‌های ثانویه گیاهی محلول در آب یا محصولات حاصل از مسیر سوخت و ساز اصلی در گیاهان هستند. آنها غیرتغذیه‌ای هستند و می‌توانند در هر قسمت گیاه سنتز شوند اما به دلیل نیمه عمر کوتاه تر به راحتی و به سرعت زیست تخریب‌پذیرند و در نتیجه اثرات باقی مانده آنها بر محیط زیست قابل اغماض است. محتوای آللوکمیکال‌ها به طور قابل توجهی در هر گونه گیاهی، قسمت گیاهی، توده زیستی، شرایط آب و هوایی و تنوع ژنتیکی متفاوت است (Gupta *et al*., 2010; Kaur *et al*., 2005;).

[1] Allelochemical

(Sidhu *et al*., 2004; Vir 2007 دوام اثر فرآورده‌های گیاهی به دوره ذخیره‌سازی مواد اولیه یا محصولات نهایی، شرایط آب و هوایی، نوع آماده‌سازی یا فرمولاسیون و تثبیت کننده استفاده شده هنگام پاشش بستگی دارد. مدت زمان بعد از تیمار و مرحله رشدی حشره‌ای که علیه آن به کار برده می‌شود نیز برای دوام اثر مهم است (Gahukar, 2014). نیاز به حفظ ذخایر کافی دانه به تحقیقات در مورد استراتژی‌های کنترل جایگزین نیاز دارد که بتواند به برخی از مشکلات موجود غلبه کند و بررسی اشکالی از کنترل آفات که ارزان، امن و قابل استفاده به وسیله اکثریت کشاورزان کوچک باشد، ضروری می‌باشد. هنگام جستجو برای چنین روش‌های جایگزین، منابع محلی موجود سزاوار توجه اولیه هستند و مواد گیاهی انتخاب شده به عنوان حفاظت کننده‌های دانه می تواند تحت شرایط خاص پاسخ دهد (Chimbe and Galley, 1996).

۱-۲-۲ قارچ‌های بیماری‌زای حشرات

چندین عامل میکروبی از جمله قارچ‌ها، باکتری‌ها و ویروس‌ها نیز برای مدیریت حشرات آفت توسعه یافته‌اند. برخی مانند *Bacillus thuringiensis* (Bt) موفقیت چشمگیر نشان داده‌اند و اجزای جدایی‌ناپذیر مدیریت تلفیقی آفات هستند. در میان عوامل مهار زیستی میکروبی، قارچ‌های بیماری‌زای حشرات به دلیل کنترل موثر آفات زننده مکنده مورد توجه خاصی واقع شده‌اند (Skinner *et al*., 2014). قارچ‌های بیماری‌زای حشرات شامل گروه متنوعی از میکروارگانیسم‌ها هستند که در مجموع در دامنه وسیعی از شرایط محیط زیست یافت می‌شوند و طیف وسیعی از حشرات را آلوده می‌کنند (Goettel *et al*., 2000; Meyling *et al*., 2012; Scholte *et al*., 2004; Tanada and Kaya, 1993). به طور کلی این گروه از میکروارگانیسم‌ها اختصاصا حشرات را آلوده می‌کنند، نه گیاهان یا حیوانات دیگر. بیش از ۷۰۰ گونه متفاوت قارچی از حداقل ۹۰ جنس به عنوان عوامل بیماری‌زای حشرات شناخته می‌شوند (Khachatourians and Sohail, 2008). با این حال چند جنس قارچی از جمله *Beauveria, Metarhizium, Isaria, Lecanicillium, Hirsutella,*

Entomophthora به عنوان بیمارگر حشرات مورد توجه بیشتری قرار گرفته‌اند. ترکیبات مختلف مبتنی بر قارچ حاوی *Beauveria bassiana* Balsamo , *Metarhizium anisopliae* Metsch , *Isaria spp., Lecanicillium spp.* برای استفاده علیه طیف گسترده‌ای از آفات جنگلی، زراعی، گلخانه‌ای، خانگی و انباری توسعه یافته‌اند. در حال حاضر فرمولاسیون‌های تجاری طیف گسترده‌ای از قارچ‌های بیماری‌زای حشرات برای کشاورزان اکثر نقاط جهان در دسترس هستند. با اینکه در طبیعت پیدا کردن حشرات آلوده به قارچ معمول است و تاثیر قابل توجه بیماری‌ها روی جمعیت آفات مشاهده می‌شوند، مرگ و میر ناشی از آلودگی قارچی به ندرت به طور طبیعی در سطوح بالا و یا به اندازه کافی در اوایل شیوع آفات برای جلوگیری از خسارت اقتصادی رخ می‌دهد. از این‌رو، با وجود پتانسیل و مزایای زیاد آنها و تحقیقات گسترده، معمولا فقط چند قارچ بیماری‌زای حشرات توسط تولیدکنندگان تولید می‌شوند. هر چند در سال‌های اخیر به دلیل تجاری‌سازی بیشتر، استفاده از آنها گسترش یافته است (Skinner *et al*., 2014). قارچ‌های بیماری‌زای حشرات به دو دسته کلی تقسیم می‌شوند. بسیاری ساپروفیت‌های گوناگون مانند *Beauveria, Metarhizium spp.* هستند که میکروب‌های انگلی هستند که حمله می‌کنند و روی یا در یک موجود زنده رشد می‌کنند، اما ظرفیت زنده ماندن و تکثیر در مواد غیرزنده را دارند. این گروه از قارچ‌ها را می‌توان به راحتی روی محیط کشت مصنوعی یا یک بستر جامد تولید انبوه نمود که آنها را برای تجاری‌سازی بسیار مطلوب می‌کند. انواع دیگر، انگل‌های اجباری هستند مانند *Entomophthra* spp. که برای زنده ماندن به میزبان زنده مناسب نیاز دارند و اغلب بسیار اختصاصی هستند که آنها را برای مدیریت تلفیقی آفات ایده‌آل می‌سازد چون بعید است روی موجودات غیرهدف تاثیر منفی بگذارند. هر چند تولید انبوه این گروه از قارچ‌ها همراه با این واقعیت است که آنها به یک میزبان زنده نیاز دارند (Skinner *et al*., 2014). تولید کنندگان وابسته به در دسترس بودن تجاری محصولات مبتنی بر قارچ هستند و آنهایی که تولید آنها نسبتا آسان است به احتمال زیاد به بازار عرضه می‌شوند. تولید انبوه قارچ یک موضوع پیچیده شامل اثرات بستر، مواد افزودنی و عوامل دیگر در زهراگینی، بقا و تحمل اسپور قارچ به حرارت است (Feng

et al., 1994; Kassa *et al*., 2008; Machado *et al*., 2010; Sahayaraj and Namasivayam, 2008) برخی قارچ‌ها فقط یک آفت خاص را می‌کشند، انواع دیگر عمومی هستند. بسیاری از قارچ‌های *Entomophagous* تنها یک یا چند گونه را آلوده می‌کنند. در مقابل قارچ *B. bassiana* طیف گسترده‌ای از بندپایان را در دامنه وسیعی از محیط زیست از جمله مزارع، جنگل‌ها و گلخانه‌ها آلوده می‌کند. به طور کلی قارچ‌های بیماری‌زای حشرات با اکثر پارازیتوئیدها و شکارگران سازگارند (Skinner *et al*., 2014). همانند ترکیبات گیاهی، سازگاری قارچ‌های بیماری‌زای حشرات و مواد شیمیایی کشاورزی به ترکیب شیمیایی و قارچ بستگی دارد. به طور منطقی، قارچکش‌ها به طور کلی نسبت به حشره کش‌ها سازگاری کمتری با قارچ‌های بیماری‌زای حشرات دارند ولی حتی این همواره درست نیست (Asi *et al*., 2010; Islam *et al*., 2011; Malekan *et al*., 2012; Neves *et al*., 2001; Sharififard *et al*., 2011; Sterk *et al*., 2003). تنظیم زمان بندی کاربرد هر یک از قارچ یا آفت‌کش می تواند تاثیر منفی مواد شیمیایی کشاورزی را کاهش دهد (Copping, 2001; Jaros-Su *et al*., 1999; Trissi *et al*., 2012). استفاده از قارچ‌های بیماری‌زای حشرات و عوامل کنترل میکروبی دیگر به عنوان یک استراتژی امید بخش با پتانسیل خوب برای به حداقل رساندن عوارض جانبی حشره کش‌ها، شناخته می شود (Kaur *et al*., 2014).

۱-۳ اهداف پژوهش

با توجه به خسارت بالای آفات انباری، اثرات نامطلوب آفت‌کش‌های شیمیایی روی سلامتی انسان و محیط زیست و پتانسیل بالای ترکیبات گیاهی و قارچ *B. bassiana* Balsamo در کنترل حشرات همچنان نیازمند مطالعات بیشتر در این زمینه هستیم. بنابراین، این تحقیق با هدف ارزیابی سمیت چهار گونه گیاهی و تعیین دوز مناسب حشره‌کشی عصاره این گیاهان و همچنین تاثیر سه جدایه از قارچ *B. bassiana* به منظور انتخاب ایزوله‌های توانا در امر مبارزه با آفت و تعیین اثرات زیستی این عوامل روی مراحل زیستی آفت، بررسی گردید.

فصل دوم

بررسی منابع

۲-۱ اهمیت آفات انباری در جهان و ایران

محصولات انباری خواه غذایی، صنعتی و علمی ـ فرهنگی (موزه‌های تاریخ طبیعی) عموما یکی از مهمترین و پرارزش‌ترین اندوخته‌های کشورند که حفظ و حراست آنها نیازمند تلاش فراوانی است (باقری زنوز، ۱۳۱۱). خسارت آفات انباری در کشورهایی که تکنولوژی پیشرفته انبارداری ندارند بین ۱۰ تا ۴۰ درصد محصول می باشد (Shaaya *et al.*, 1997). در کشور ما به طور متوسط سالیانه ۱۰ تا ۲۰ درصد محصولات کشاورزی در انبارها به وسیله آفات از بین می روند (Latifian, 2004). در بعضی از مناطق روستایی ایران، به علت وجود انبارهای سنتی، خسارت ناشی از آفات انباری گاهی تا ۸۰ درصد برآورد شده است (مدرس نجف آبادی،۱۳۸۱). اکثر کشورهای در حال توسعه با یک مشکل ناراحت کننده روبرو هستند که تامین منابع غذایی کافی است. هنوز، غلات و حبوبات و فرآورده‌های غلات همچنان بعنوان منبع اصلی غذایی در این کشورها هستند. در طول ذخیره‌سازی، محصولات غالبا بوسیله بیش از ۶۰۰ گونه از سوسک‌ها، ۷۰ گونه از شب پره‌ها و حدود ۳۵۵ گونه از کنه‌ها مورد حمله قرار می‌گیرند که باعث خسارت کمی و کیفی بالغ بر حدود ۲۰-۳۰ درصد در مناطق گرمسیری و معتدل می‌شوند (Nenaah, 2013). بسیاری از عوامل زنده و غیر زنده در طول حمل و نقل، پردازش، تولید، ذخیره‌سازی و توزیع باعث خسارت می‌شوند. در کشورهای توسعه نیافته امنیت غذایی همواره مسئله مهمی است بنابراین حفاظت از مواد غذایی برای بهره وری بهتر اهمیت زیادی دارد. با توجه به ارزیابی‌های کنونی انتظار می‌رود جمعیت جهان در ۵۰ سال آینده از شش میلیارد به بیش از ۱۲ میلیارد برسد، این رشد غیرقابل‌اجتناب جمعیت باعث افزایش تقاضای غلات و دیگر تولیدات غذایی خواهد شد (Khaliq *et al.*, 2014). ضایعات فرآورده‌های غذایی غلات در شرایط انبار می تواند حدود ۱۰-۲۰ درصد کل تولید باشد و عامل اصلی آن آفات انباری هستند (Edde, 2012). خسارت بسیار زیاد پس از برداشت در کشورهای در حال توسعه با توجه به تخریب فیزیکی، تغذیه‌ای و کیفی مواد غذایی توسط حشرات و تاثیر مضر این تلفات بر امنیت غذایی به خوبی شناخته شده است. در

کشورهای در حال توسعه، بیشترین خسارت در طول انبارداری به غلات و سایر کالاهای خوراکی مثل حبوبات و دانه‌های روغنی توسط حشرات آفت ایجاد می‌شود (عباسی پور شوشتری، ۱۳۳۶). بالاترین میزان خسارت مستقیم آفات انباری در مناطق گرمسیری می‌باشد، چون شرایط برای افزایش سریع جمعیت، بهینه است. اما حتی در نواحی سردتر کشورهای توسعه یافته غربی حضور بندپایان منجر به تلفات بالا در طول تجارت کالاهای غذایی می‌شود (Hagstrum and Subramanyam, 2000). ارتباط حشرات با تلاش‌های بشر برای ذخیره مواد غذایی به تاریخ باستان برمی‌گردد. شواهدی از چندین گونه متداول همراه با دانه‌ها و خوراکی‌ها در بقایای هدایای گذاشته شده در مقبره‌های مصر باستان برای همراهی کردن مرده در سفرش، پیدا شده است و بقایای سوسک انباری به دوران روم باستان در بریتانیا برمی‌گردد. اغلب گونه‌هایی که به صورت آفت ویژه افزایش یافته‌اند از زیستگاه‌های طبیعی مانند لانه حیوانات و پرندگان، بستر جنگل، مواد گیاهی خشک و لاشه‌های حیوانات خشک شده ردیابی شده‌اند. در طول این سالها بیش از ۱۰۰ گونه ارتباط قوی با مواد غذایی ذخیره شده داشته‌اند. با افزایش ذخیره‌سازی مواد غذایی برای مدت طولانی‌تر و استقرار تجارت بین المللی، بسیاری از گونه‌های با منشا گرمسیری در مکان‌های حمل و نقل مواد غذایی در مناطق معتدل ظاهر شده‌اند. بسیاری از گونه‌ها بخوبی توزیع جهانی یافته‌اند. بسیاری گونه‌ها یک مرحله متحمل به سرما، معمولا حشره کامل یا لارو بالغ، دارند، این یک عامل مهم برای بقا در محیط معتدل است. وجود تحمل به سرما در گونه‌های مناطق گرمسیری ممکن است در ابتدا تعجب آور به نظر برسد اما در واقع تحمل به سرما اغلب با تحمل به دماهای بالا نیز مرتبط می شود. توانایی برای زنده ماندن در دماهای بالا در دوره‌های کوتاه مدت یک مکانیسم بقای ضروری برای سوسک‌هایی است که در نواحی گرمسیری زندگی می‌کنند. در مقابل اغلب در مراحل متحمل به سرما مانند لاروهای زمستانگذران شب‌پره‌های انباری تحمل به قرارگرفتن در معرض گرمای کوتاه مدت یافت می‌شود. حشرات در هر نقطه در طول زنجیره تولید مواد غذایی از مزرعه یا محیط گلخانه تا گنجه خوراک و آشپزخانه‌ها وجود دارند. حضور آنها باعث نگرانی می‌شود نه فقط به خاطر ظهور آنها و ضایعات مستقیم محصولات غذایی بوسیله آنها

بلکه همچنین بخاطر آلاینده‌های میکروبی یا عوامل بیماری‌زایی که ممکن است با خود حمل کنند و نیز بدلیل واکنش‌های حساسیت‌زایی که بقایای پوست‌اندازی و فضولات آنها ممکن است ایجاد کند. وجود حشرات و کنه‌ها در صنعت مواد غذایی همچنان یک مشکل بزرگ است. در بسیاری از کشورها تهیه‌کنندگان و توزیع‌کنندگان مواد غذایی تحت الزام قانونی برای مبارزه با آلودگی تا مرحله‌ای که در آن هیچ حشره‌ای تا انتهای زنجیره غذایی یافت نشود، هستند (Bell, 2014).

۲-۲ معرفی شب پره هندی *Plodia interpunctella* Hubner (Lepidoptera: Pyralidae)

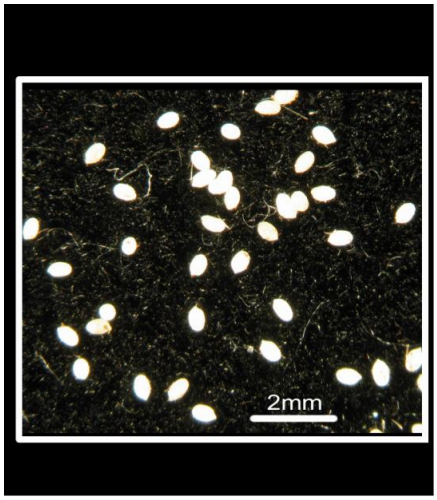
شب پره هندی، *P. interpunctella*، از مهمترین آفات انباری در مناطق مختلف جهان است (پوربهی و همکاران، ۱۳۸۸). یکی از آفات انباری روی خشکبار، غلات، بذور، حشرات خشک شده و کندوی عسل می‌باشد و تاکنون حدود ۸۳ نوع ماده غذایی، نام برده شده که مورد تغذیه لارو این حشره قرار می‌گیرد (Brower, 1990). لاروهای شب پره هندی در درون یا بالای سطح مواد غذایی به طور مداوم تار ابریشمی تنیده و در داخل آن تغذیه می‌کنند. تارها حاوی فضولات و پوسته لاروی بوده و بوی نامطبوعی به محصولات مورد حمله می‌دهند (Phillips *et al*., 2000). تغذیه لاروها همچنین ممکن است یک محیط مساعد برای رشد کپک بدلیل افزایش رطوبت و دما فراهم کند که کیفیت و کمیت محصولات انباری را کاهش می‌دهد (Ghimire and Phillips, 2010). تغذیه لاروها با کاهش وزن خشک، جوانه زنی، ارزش غذایی و درجه کیفیت محصولات برداشت شده باعث خسارت گسترده می‌شوند (Masoumzadeh *et al*., 2014). خسارت‌های ناشی از این حشره در کالاهای انباری به ویژه بادام زمینی انباری، غلات انباری و مواد غذایی فرآوری شده دیده می‌شود (Mbata and Shapiro-Ilan, 2010). شب‌پره هندی یکی از آفت‌های بسیار شایع است که تقریبا در تمام دنیا و نیز در ایران، بویژه در مناطق جنوبی، درون انبارهای خرما، خشکبار، غلات و دیگر مواد غذایی دیده می‌شود. این

حشره در طیف گسترده‌ای از آب و هوا در محصولات ذخیره شده و تجهیزات ذخیره‌سازی مواد غذایی در سراسر جهان یافت می‌شود.

مراحل زیستی شب‌پره هندی به شرح ذیل می‌باشد:

۲-۲-۱ تخم

تخم‌های شب‌پره هندی سفید مایل به خاکستری بنظر می‌رسد و به طول حدود ۰/۳- ۰/۵ میلی‌متر می‌باشد (شکل ۲-۱).



شکل۲-۱ تخم شب پره هندی (Baxter, 2008)

۲-۲-۲ لارو

این حشره دارای ۵-۷ سن لاروی می‌باشد، رنگ لاروها معمولا زرد کم‌رنگ است اما صورتی، قهوه‌ای یا تقریبا متمایل به سبز، وابسته به منبع غذایی مشاهده شده است. طول لاروهای کامل حدود ۱۲ میلی‌متر است (شکل ۲-۲).

شکل۲-۲ لارو شب‌پره هندی (www.bugguide.net)

۲-۲-۳ شفیره

لاروها در یک پیله ابریشمی یا بدون پیله تبدیل به شفیره می‌شوند. رنگ شفیره‌ها قهوه‌ای روشن است. شفیره شدن به دور از مواد آلوده اتفاق می‌افتد و لاروهای قبل از شفیره شدن اغلب به سمت بالا می‌روند که این مردم را در پیدا کردن منبع آلودگی گمراه می‌کند (شکل ۲-۳).

شکل۲-۳ شفیره شب‌پره هندی (Koudekerke, 2012)

۲-۲-۴ حشره کامل

حشرات کامل نشانه متداول آلودگی هستند. در هنگام پرواز حشرات کامل اغلب آنها به نور جلب می‌شوند و ممکن است به مکانی دور از آلودگی منتقل شوند. در نتیجه آنها معمولا با آفات لباس اشتباه می‌شوند. حشره کامل شب پره‌ای به طول حدود ۸ میلی‌متر با طول بال حدود ۱۶-۲۰ میلی‌متر است (شکل ۲-۴).

شکل۲-۴ حشره کامل شب‌پره هندی (Baxter, 2008)

۲-۲-۵ چرخه زندگی

چرخه زندگی در ۲۷-۳۰۵ روز کامل می‌شود. حشره کامل هنگام غروب و شب‌ها فعالیت می‌کند و روزها به حالت استراحت در پناهگاه‌های مختلف، روی دیوار، سقف و مواد غذایی به سر می‌برد. حشرات کامل تغذیه نمی‌کنند. هر چند، حتی اگر برای تولید تخم لازم نیست، گزارش شده است حشرات کامل به بودن در آبمیوه و طعمه شکر علاقه مند هستند. جفتگیری و تخمریزی حدود سه روز بعد از ظهور حشره کامل اتفاق می‌افتد. هر حشره ماده در طول زندگی به نسبت کوتاه خود ۴۰-۳۵۰ و به طور میانگین ۱۵۰ تخم می‌گذارد. تخم‌ها بصورت تک تک و یا توده‌های ۱۲-۳۰ عددی روی مواد خوراکی گذاشته می‌شوند. تخم‌ها در ظرف ۷-۸ روز در ۲۰ $^{\circ}$C و ۳-۴ روز در ۳۰ $^{\circ}$C و در شرایط نامناسب پس از ۱۵ روز تفریخ می‌شوند. به محض تفریخ شدن لاروها شروع به پراکنده شدن می‌کنند و در عرض چند ساعت می‌توانند خود را در منبع غذایی جای دهند. لاروها در ۶-۸ هفته در دمای $^{\circ}$C ۱۸-۳۵ رشد خود را کامل می‌کنند. طول دوره لاروی بر حسب میزان گرما و نوع ماده غذایی متغیر است و در شرایط مناسب این مدت ۲۵-۳۰ روز طول می‌کشد. در حقیقت طول دوره لاروی بسیار متغیر بوده و از ۱۵ روز تا ۱۰ ماه و با میانگین یک ماه به درازا می‌کشد. دوره شفیرگی بر حسب شرایط محیط، از چهار روز تا چهار هفته طول می‌کشد. مرحله شفیرگی می‌تواند از ۱۵-۲۰ روز در $^{\circ}$C ۲۰ و ۷-۸ روز در ۳۰ $^{\circ}$C طول بکشد. دوره زندگی این حشره از تخم تا ظهور حشره کامل، در شرایط مناسب حدود ۴۰ روز است و در سال ۲-۵ نسل و یا بیشتر می‌تواند داشته باشد.

۲-۲-۶ خسارت

لاروها تغذیه کننده‌های سطحی هستند. رژیم غذایی لاروها بسیار متغیر است اما همواره از موادی که دارای منشا گیاهی‌اند تغذیه می‌کنند. محصولاتی که مورد هجوم قرار می‌گیرند عبارتند از: گندم، برنج، آرد، بیسکویت، شکلات، شیرینی‌های گوناگون، خشکبار، سبزی‌های خشک، قارچ خشک، ادویه‌جات و سوسیس. اغلب خسارت به محصولات ذخیره شده هنگامی است که لاروها حجم انبوهی از تارهای ابریشمی می‌تنند که فضولات، بقایای پوست‌اندازی و پوسته تخم‌ها را در محصولات غذایی انباشته می‌کنند. خسارت ناشی از این آلودگی‌ها بیش از مقدار غذای خورده شده توسط حشرات است (شکل ۲-۵).

شکل۲-۵ تغذیه لارو شب‌پره هندی (Baxter, 2008)

۲-۲-۷ روش‌های مدیریت

۲-۲-۷-۱ نظارت

نظارت و نمونه‌برداری را می‌توان با تله‌های چسبان فرمونی انجام داد، در بعضی موارد که سطح آلودگی پایین است می‌توان از تله‌ها برای کنترل نیز استفاده کرد. تله‌ها در برنامه ریزی زمانی و ارزیابی روش‌های کنترل نیز مفید هستند.

۲-۲-۷-۲ مدیریت بهداشت

حذف و ممانعت، اصول کلیدی در کنترل جمعیت این شب‌پره هستند. اگر جمعیت آن یافت شود همه مواد غذایی آلوده شده یا باید دور انداخته شود یا درمان شود.

هر منبع غذایی حساس باید در ظروف دربسته قرار داده شود.

۲-۲-۷-۳ کنترل شیمیایی

حشره‌کش‌های متعدد برای این آفت استفاده شده‌اند اما کارایی آنها محدود است.

۲-۲-۷-۴ مهار زیستی

کنترل جمعیت در آزمایشگاه با استفاده از پارازیتوئیدهای تخم و لارو مشاهده شده است. پارازیت لارو *Bracon hebetor* (Say) (Hym., Braconidae) و پارازیت تخم *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae)، هر دو کنترل جمعیت شب‌پره را نشان داده‌اند (باقری زنوز، ۱۳۱۱ , Thomas *et al*., 2012).

۲-۳ اهمیت ترکیبات گیاهی

استفاده از مشتقات گیاهی برای کنترل آفات به حدود چند صد سال پیش در چین، مصر، یونان و هند قدیم برمی‌گردد. در اروپا و آمریکای شمالی نیز حدود ۱۵۰ سال است که از ترکیبات گیاهی استفاده می‌شود. به عبارتی قبل از ساخت و تولید حشره‌کش‌های شیمیایی مانند ارگانوکلره ها، ارگانوفسفات ها، کاربامات‌ها و پیرتروئیدها در دهه‌های ۱۹۳۰ تا ۱۹۵۰ از حشره‌کش‌های گیاهی استفاده می‌شد، اما کاربرد حشره‌کش‌های شیمیایی نقش سموم گیاهی را در کشاورزی کمرنگ کرده است. در حال حاضر سازمان‌های جهانی به محدود کردن استفاده از سموم شیمیایی و جایگزین کردن آنها با سموم کم‌خطر پرداخته‌اند. این مسائل باعث شده محققین در صدد کشف و تولید سموم کم‌خطر از جمله سموم گیاهی باشند. گیاهان یک منبع غنی از مواد شیمیایی آلی فعال زیستی هستند، بسیاری از آنها ممکن است برای حفاظت گیاه از گیاهخواران تکامل یافته باشند و تقریبا ۲۰۰۰ گونه گیاهی دارای

خاصیت کنترل آفات گزارش شده‌اند. موثرترین ترکیبات نیکوتین، روتنون و پیرترین‌ها تا ظهور ترکیبات مصنوعی بطور گسترده استفاده شدند و هنوز هم در بازارهای کوچک جایگاه خود را دارند. عصاره تعدادی از گیاهان در آفریقا، آمریکای مرکزی و جنوبی و آسیا بعنوان حشره‌کش و نیز سموم ماهی استفاده شده‌اند (Chimbe & Galley, 1996). بیش از ۱۰۸ حشره‌کش گیاهی تجاری در مزارع چین از ۱۹۸۰ تا ۲۰۰۹ استفاده شده است. حتی امروزه، کشاورزان هنوز از ساقه‌های خشک توتون، برگ‌های سنجد تلخ و گل‌های خشک شده گل صد تومانی برای کنترل آفات برنج در چین استفاده می‌کنند (عباسی پور شوشتری، ۱۳۳۶). در حال حاضر چهار گروه مهم از حشره‌کش‌های گیاهی برای کنترل حشرات به کارمی‌روند (پیرتروم، روتنون، نیم و اسانس‌های گیاهی). از ریانیا، سابادیلا و نیکوتین به مقدار کم استفاده می‌شود. بعلاوه عصاره‌های گیاهی از جمله عصاره سیر نیز در برخی از کشورها برای حفاظت محصولات به صورت سنتی به کار می‌رود (Isman, 2006). مواد گیاهی با سمیت کم برای انسان و در حال حاضر در دسترس، عبارتند از روتنون و پیرتروم. مواد جدید در دسترس دیگر عبارتند از چریش، مورد استفاده بعنوان دافع حشره، بازدارنده تغذیه و تنظیم‌کننده رشد، اوژنول که علیه سوسک‌ها، مورچه‌ها، کنه‌های گرد و غبار، مگس‌ها، زنبورها، عنکبوت‌ها، جیرجیرک‌ها و کک‌ها به کار می رود و D- limonene جدا شده از روغن مرکبات و پوست میوه مرکبات به عنوان یک حشره‌کش تماسی علیه مورچه‌ها، سوسک‌ها، کک‌ها، ماهی‌نقره‌ایها و سن‌های باد بزنی استفاده می‌شود (Rozman *et al.*, 2007). بیشترین تعداد مواد دورکننده حشرات الکلها، آلکالوئیدها و ترپن‌ها هستند (عباسی پور شوشتری، ۱۳۳۶). متابولیت‌های ثانویه گیاهی نقش مهمی در حفاظت گیاهان از خسارت آفات، بازی می‌کنند. برخی متابولیت‌های ثانویه گیاهی دارای فعالیت‌های حشره کشی، هورمونی یا ضد تغذیه‌ای علیه آفات هستند که توجه زیاد محققان را به خود جلب می‌کنند. یکی از موفق‌ترین آنها آزادیراختین است که از دانه‌های درخت چریش *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) جدا می‌شود (Huang *et al.*, 2010). چندین لیمونوئید از انواع مختلف Meliaceae جدا شده‌اند. لیمونوئیدها از دانه‌های *M. azedarach* L. به دست می‌آید که

اثراتی شبیه به چریش ایجاد می‌کند و بنابراین یک منبع امیدبخش برای آفت‌کش‌های طبیعی در نظر گرفته می‌شود (Defag *et al*., 2011). متابولیت‌های ثانویه گیاهی، مانند آلکالوئیدها، پلی فنول‌ها، ترپنوئیدها و اسانس‌ها ترکیبات فعالی دارند که بر بقای حشرات، تغذیه، نمو و تولید مثل تاثیر می‌گذارند. بعلاوه آنها برای پستانداران بندرت سمی هستند و چون مکانیسم‌های مختلف با جایگاه‌های اثر متفاوت دارند، توسعه مقاومت در حشرات محدود می‌شود (Nenaah, 2013). اثرات آفت‌کش‌های گیاهی روی آفات وسیع است شامل طیف گسترده‌ای از فرآیندهای بیولوژیکی، مانند کاهش تغذیه، تاخیر در پوست اندازی، مرگ لاروها و شفیره‌ها و عقیم‌سازی حشرات کامل می‌باشد (Huang *et al*., 2010). اثر عصاره‌های گیاهی و ترکیبات فعال آنها، از جمله فلاونوئیدها علیه حشرات آفات انباری در همه جا گزارش شده است (Nenaah, 2013). در دراز مدت، می‌توان مواد گیاهی را به عنوان راه حل بهتر از آفت‌کش‌های مصنوعی برای کاهش خسارت آفات پیشنهاد کرد (Huang *et al*., 2010). برخی آفت‌کش‌های گیاهی بسیار اختصاصی هستند و برای سایر موجودات زنده کم‌خطر یا بی‌خطر می‌باشند (Rozman *et al*., 2007). حشره‌کش‌های گیاهی یک منبع غنی طبیعی از مواد شیمیایی زیست فعال که به آسانی زیست‌تخریب‌پذیر، مناسب برای استفاده توسط کشاورز در مقیاس کوچک و در عین حال قادر به حفاظت از محصولات زراعی از حمله طیف وسیعی از آفات، هستند (Jian-Hua and Ya-Qiang, 2010). مواد مشتق شده از گیاهان مزایایی دارند که کشاورزان می‌توانند آنها را با هزینه‌های پایین پرورش دهند و چون اغلب آنها به عنوان داروهای محلی استفاده می‌شوند شناخت از سمیت بالقوه آنها وجود دارد (Paul *et al*., 2009). مواد شیمیایی گیاهی و عصاره‌های مشتق شده از گیاه دارای کاربرد آسان و اثرات کم روی سلامتی و محیط زیست برای جایگزین کردن حشره‌کش‌های متداول هستند (Nenaah, 2011). سمیت، فرآورده‌های گیاهی بر محصولات کشاورزی گزارش نشده است (Nagar *et al*., 2012). فرآورده‌های طبیعی را نه تنها می توان به طور مستقیم برای مدیریت آفات بکار برد بلکه می توان به عنوان مدل‌هایی برای توسعه آنالوگ‌های مصنوعی جدید با خواص فیزیکی و بیولوژیکی مطلوب استفاده کرد (Damalas, 2011). حشره‌کش‌های گیاهی می‌توانند به طور

متناوب با ترکیبات شیمیایی یا حتی به صورت جایگزینی برای این ترکیبات علیه حشرات آفت به کار روند (Periera & Wohlgemuth, 1982). فومیگانت‌های زیستی با منشا گیاهی با شانس بالای پذیرش بعنوان بهترین منبع مواد شیمیایی جدیدتر برای توسعه عوامل کنترل حشرات سازگار با محیط زیست و امن‌تر در نظر گرفته می‌شوند (Rajashekar *et al*., 2013). علی رغم شناخت گسترده‌ای که از خواص حشره‌کشی بسیاری از گیاهان وجود دارد، مواد گیاهی مورد استفاده به عنوان حشره‌کش در حال حاضر تنها ۱٪ بازار جهانی حشره‌کش را تشکیل می‌دهند (Rozman *et al*., 2007).

۲-۴ معرفی گیاهان استفاده شده در این تحقیق

۲-۴-۱ خرزهره (جارو جور، ژاله، شبرنگ) (Oleander, Rosebay)

Nerium oleander L. (Apocynaceae)

درختچه‌ای همیشه سبز ارتفاع ۱/۸ تا ۶ متر با شاخه‌های طویل باریک و نشسته، برگ‌ها به صورت جفت و یا در حلقه‌های سه تایی، چرمی و سبز خاکستری، مستطیل لوزی شکل و به طول ۲۰ – ۲۵ سانتی‌متر هستند. گل‌ها در دستجات انتهایی هر کدام ۲/۵ تا ۵ سانتیمتر در میان، قیفی شکل با پنج گلبرگ، معطر با رنگ‌های مختلف از صورتی تا قرمز، سفید، هلویی و زرد رنگ (شکل ۲-۶).

شکل۲-۶ خرزهره *Nerium oleander* L. (www.nargil.ir)

منشا آن از منطقه مدیترانه‌ای شرق تا ژاپن است.

به طور گسترده‌ای به عنوان گیاه زینتی در کشورهای گرمسیری و نیمه‌گرمسیری کاشته شده، همچنین به عنوان سم موش و برای مصارف دارویی استفاده می‌شود.

تمام قسمت‌های گیاه حاوی مواد زیر است: گلیکوزیدهای مختلف، oleandrin، digitalin، adynerin و neriantin. همچنین neriin، folinerin، rosagenin، cornerin، pseudocuramine،rutin، cortenerin و oleandomycincontain. علاوه بر این حاوی HCN، ursolic acid (۴/۳ درصد)، caoutchouc (۰/۰۴۹ درصد)، sterol (۰/۰۱۴ درصد)، quercetrin-3-rhamnoglucoside و kamempferrol-3-rhamnoglucoside است.

تمام قسمت‌های گیاه، اعم از تازه و خشک، برای دام‌های اهلی سمی هستند. مواد افزایش دهنده فعالیت قلبی در خرزهره قابلیت انقباض ماهیچه‌های قلب را افزایش داده و ممکن است باعث ایست قلبی شود. یک گیاه بسیار سمی است به طوری که یک اسب با ۱۵ تا ۲۰ گرم، یک گاو با ۱۰ تا ۱۲ گرم و یک گوسفند با ۱- ۵ گرم از برگ‌های تازه آن می‌میرد.

مخلوط پنج درصد (W/W) این گیاه با لوبیا چشم بلبلی باعث ۹۵ درصد مرگ و میر در حشرات بالغ سوسک چینی حبوبات *Callosobruchus chinensis* L. (Coleoptera: Bruchidae) در عرض سه روز شده و مانع از تولید نتاج (F_1) شد (El-Ghar and El-Sheikh, 1987).

۲-۴-۲ رزماری (اکلیل کوهی) (Rosemary) ***Rosmarinus officinalis*** **L. (Lamiaceae)**

گیاهی بوته‌ای، چوبی و معطر، بین ۰/۵-۲ متر ارتفاع دارد که پوست شاخه‌های قدیمی تر فلس مانند شده است. جوانه‌ها کرکدار، حامل برگ‌های سوزنی شکل و به طول ۱۵-۳۵ میلیمتر و پهنای ۱/۵-۳ میلیمتر و لبه پایینی آنها برگشته است. سطح بالایی آن سبز، سطح پایینی خاکستری کدر است. گل‌ها به صورت گروه‌های ۲-۱۰ تایی که تقریبا در کنار برگ‌ها قرار دارند. گل‌ها به اندازه یک سانتی‌متر و آبی کم‌رنگ هستند (شکل ۲-۷).

شکل۲-۷ اکلیل کوهی (رزماری) *Rosmarinus officinalis* L. (www.keshtkala.ir)

خاستگاه این گیاه در تپه‌های خشک کوهستانی نواحی مدیترانه‌ای، اغلب نزدیک به دریا و البته در قسمت‌های دور از دریا هم دیده می‌شوند.

رزماری در اروپا یک گیاه ادویه‌ای است. اسانس آن به عنوان چاشنی و به عنوان طعم‌دهنده و در صابون به صورت عطر استفاده می‌شود. همچنین رزماری دارای خواص ضدعفونی‌کننده، عرق‌آور و مدر است. در آمریکای لاتین به عنوان حشره‌کش استفاده می‌شود. همچنین به عنوان ماده دورکننده شب‌پره ها استفاده می‌شود. اسانس آن دارای خواص باکتری‌کشی و قارچ‌کشی است.

ترکیبات اسانس شامل limonene، α- pinene، β- pinene، camphor، camphene، limonene، 1,8- cineole، linalool، terpinene-4-ol، bornyl acetate و borneol هستند. مواد موثره اسانس تقطیر شده آن شامل camphor (۳۰/۶ درصد)، borneol (۲۲/۱ درصد) و β-cineole (۱۰/۶ درصد)، هستند. همچنین مواد موثره اسانس شامل α- thyjene و α- pinene (۱۲/۵ درصد)، camphene (۴ درصد)، β- pinene (۱/۳ درصد)، δ-3- careen و myrcene (۱/۳ درصد)، limonene (۳ درصد)، 1,8-cineole (۴۷ درصد)، *p*-cymene (۱/۸ درصد)، camphor و linalool (۱۰/۷ درصد)، terpinene-4-ol (۱/۳ درصد)، caryophyllene (۴/۹ درصد)، borneol، α- humulene و α- terpineol (۴ درصد)، γ- muurolene (۱/۳ درصد)، β- bisabolene و carvone (۴ درصد) هستند.

در دوزهای بالا باعث ایجاد سرگیجه و گرفتگی عضلانی می‌شود. در مقادیر بالا سمی و می‌تواند کشنده باشد. اسانس آن می‌تواند موجب التهاب پوستی شود. روغن آن همراه با مواد آرایشی نیز می‌تواند باعث درماتیت پوستی در افراد حساس شود.

مقدار ۱۵ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس آن باعث تلفات ۱۰۰ درصدی در حشرات بالغ سوسک کشیش، *Rhysopertha dominica* F. (Coleoptera: Bostrichidae)، شپشه دندانه‌دار، *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera, Silvanidae) و شپشه برنج، *Sitophilus oryzae* Linnaeus (Coleoptera: Curculionidae) در عرض ۲۴ ساعت شد (Shaaya and Pisarev, 1991). مقدار غلظت کشنده ۵۰٪ (LC_{50}) و ۹۰٪ (LC_{90}) اسانس رزماری بر علیه لارو سن سوم شب‌پره آرد، *Ephestia kuhniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) به ترتیب ۱۰۰/۵۲ و ۱۶۶/۶۷ میکرولیتر بر لیتر هوا و بر علیه حشرات بالغ شپشه قرمز آرد، *Tribolium castaneum* Herbs (Coleoptera: Tenebrionidae) به ترتیب ۱۰۳/۲۸ و ۲۲۸/۰۱ میکرولیتر بر لیتر هوا در عرض ۲۴ ساعت محاسبه گردید (Mahmoudvand *et al.*, 2011; Abbasipour *et al.*, 2009). همچنین مقدار LC_{50} و LC_{90} اسانس رزماری بر علیه حشرات بالغ سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات، *Callosobruchus maculates* F. (Coleoptera: Bruchidae) به ترتیب ۴۶/۸۱ و ۱۳۵/۷۶ میکرولیتر بر لیتر هوا در عرض ۲۴ ساعت محاسبه گردید (Mahmoudvand *et al.*, 2011). همین‌طور مقدار LC_{50} و LC_{90} اسانس رزماری بر علیه حشرات بالغ شب‌پره هندی، *P. interpunctella* به ترتیب ۰/۹۳ و ۶/۳۳ میکرولیتر بر لیتر هوا در عرض ۲۴ ساعت محاسبه گردید و نتایج نشان داد که اسانس آن بسیار سمی‌تر از اسانس آویشن شیرازی، *Zataria multiflora* بر علیه این آفت بود (Mahmoudvand *et al.*, 2011).

۲-۴-۳ زیتون تلخ (Chinaberry, Persian lilac)

Melia azedarach L. (Meliaceae)

گیاهی سریع رشد، برگ‌ریز، ارتفاع تا ۱۲ متر، درختی دارای چند لایه پوست قهوه‌ای تیره‌رنگ، برگ‌ها به طول ۳۰-۶۰ سانتی‌متر، برگ‌های مرکب محدب و در کناره‌ها با دندانه‌هایی به طول ۲-۲/۵

سانتی‌متر هستند. گل‌ها کوچک، در خوشه‌های مجتمع با ساقه‌های ۱۰-۲۰ سانتیمتری کوچک، گلبرگ‌های یاسی یا بنفش رنگ که جام گل را احاطه می‌کنند. میوه ها زردرنگ، گیلاس‌مانند، به طول ۶-۱۲ میلی‌متر هستند (شکل ۲-۸).

شکل۲-۸ زیتون تلخ *Melia azedarach* L. (www.isfahan.ir)

منشا اصلی آن از شمال هند و چین است و اکنون به صورت گسترده کشت می‌شود.

چوب آن در ساختمان استفاده می‌شود. اسانس میوه برای شمع‌سازی و نقاشی به کار می‌رود. دانه‌ها برای صابون، برگ‌ها و دانه‌ها به عنوان حشره‌کش، در مکزیک پوست به عنوان سم ماهی به کار می‌رود. برگ‌ها، پوست و گل‌ها در طب سنتی استفاده می‌شوند.

مواد موثره اسانس شامل azadirachtin می‌باشد. دارای چهار ترکیب سمی tetranortriterpenoids که از مغز دانه‌های جمع آوری شده از استرالیا شناسایی شده است. همچنین مواد موثره اسانس آن شامل 1- cinnamoyi- 3- feruloyl 1- hydroxymeliacarpin است. این ماده در برگ‌ها بسیار مشابه azadirachtin D است. برگ‌ها حاوی paraisine، میوه‌ها حاوی azadirine و resin، چوب حاوی margosine و tannine است. اسانس میوه عمدتا حاوی اسیدهای چرب پالمیتیک، اولئیک، لینولئیک و استروئیک است.

خوردن شفت میوه‌های درخت در انسان باعث مرگ می‌شود. میوه‌های رسیده بسیار سمی‌تر از میوه‌های سبز و نارس هستند. نشانه‌های سمیت شامل تحریکات گوارشی، عدم کار سیستم عصبی و نارسایی کلیه است. مقدار دوز کشنده ۵۰ درصد آن (LD_{50}) به صورت دهانی برای یک خوک ۶/۴ میلی‌گرم بر کیلوگرم است.

مقدار یک میلی‌لیتر در ۱۰۰ کیلوگرم اسانس مخلوط با نخود باعث تلفات ۱۰۰ درصدی در حشرات بالغ سوسک چینی حبوبات، *C. chinensis* در عرض مدت سه روز شد و باعث جلوگیری از تولید نسل اول آن شد (Ali *et al*., 1983).

۲-۴-۴ اکالیپتوس (Lemon-scented gum) (Myrtaceae)

Eucalyptus citriodora Hook.

درختی همیشه سبز با برگ‌های چرمی و متقابل. دو نوع برگ در این گیاه وجود دارد: برگ‌های جوان که با لایه‌ای مومی سفید پوشیده می‌شود و به آن منظره‌ای متمایل به آبی می‌دهد و برگ‌های بالغ که معمولا بلندتر هستند و به رنگ سبز مایل به خاکستری هستند. پوست معمولا ریخته شده و تنه صاف و به رنگ سفید متمایل به خاکستری دیده می‌شود (شکل ۲-۹).

شکل ۲-۹ اکالیپتوس *Eucalyptus citriodora* Hook. (www.farhangnews.ir)

بومی استرالیا اما معمولا در مناطق استوایی و نیمه استوایی دیده می‌شود.

درخت اکالیپتوس معمولا برای استفاده از چوب و خمیر چوب آن کاشته می‌شود. همچنین برای مصارف پزشکی و عطرسازی استفاده می‌شود.

ترکیبات عمده اسانس برگ‌ها شامل citronellal (۷۰/۳ درصد)، citronellol (۸/۸ درصد)، citronellyle acetate (۱/۳ درصد) و β-caryophyllene (۲/۶ درصد) هستند. همچنین مواد دیگری مثل isopulegol (۵۳ درصد)، borneol (۱۰ درصد)، menthol (۵/۳ درصد)، neral (۶/۹ درصد)، geraniol (۱/۴ درصد) و eugenol (۴/۶ درصد) وجود دارند (عباسی پور شوشتری، ۱۳۳۶).

۲۵ میکرولیتر اسانس آن به طور معنی‌داری باعث دورکنندگی بر علیه سوسک لوبیا، *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera: Bruchidae) شد، همچنین اثرات مستقیم تخم‌کشی و لاروکشی را نشان داد (Stamopoulos, 1991). بخار ۲۰۰ میلی گرم اسانس آن در دسیکاتور ۸۶۰ میلی لیتر باعث تلفات ۱۰۰ درصدی در حشرات بالغ سوسک چینی حبوبات، *C. chinensis* در عرض مدت ۲۴ ساعت شد (Ahmed and Eapen, 1986).

۲-۵ عصاره مواد گیاهی

عصاره‌های مواد گیاهی متکی بر حلال‌پذیری ترکیبات گیاهی هستند. حلال‌های مختلفی استفاده می‌شوند که رایج‌ترین آنها کلروفرم، اتر نفتی، هگزان، متانول، اتانول و یا استون می‌باشند. عصاره‌های گیاهی در اشکال مختلف آزمایشات زیست سنجی شامل : آزمایشات دورکنندگی، تست‌های ضد تغذیه‌ای و تماسی به کار می‌روند. بیشتر ترکیبات گیاهی که به عنوان حشره‌کش‌های تجاری معرفی شده، به صورت عصاره از گیاهان استخراج شده‌اند (منبری و همکاران، ۱۳۹۱). عصاره‌های گیاهی حاوی مواد شیمیایی خاص و یا مخلوطی از این قبیل هستند که از گیاهان عالی مشتق می‌شوند. چنین فرآورده‌هایی در ساختار و نحوه عمل بسیار متنوع هستند. عصاره‌های گیاهی حاوی چندین نوع مختلف متابولیت از جمله آلکالوئیدها، فنل‌ها، ترپنوئیدها و مواد شیمیایی ثانویه هستند که گونه گیاهی برای حفاظت خود از آفات ایجاد کرده است و هر گونه گیاهی دارای ساختار پیچیده شیمیایی منحصر به فرد است (Sporleder and Lacey, 2013).

۲-۵-۱ فرایند تولید عصاره‌های گیاهی

در صورتی که مواد موجود در سلول‌های گیاهی با حلال‌ها از جمله آب و یا حلال‌های آلی از گیاهان استخراج شوند، به این محصول عصاره گفته می‌شود. در صورتی که عصاره با اتانول و یا متانول استخراج شود با توجه به پلاریته‌های آنها، عصاره بدست آمده حاوی کلیه مواد موجود در گیاه بوده و به آن عصاره تام می‌گویند. در صورتیکه حلال از عصاره جدا نشود، عصاره مایع خواهد بود و در صورت تبخیر حلال عصاره خشک حاصل می‌گردد.

۲-۵-۲ مراحل عصاره‌گیری

- بهینه کردن اندازه گیاه و آماده‌سازی گیاه
- استخراج
- فیلتراسیون

۲-۵-۳ انواع روش‌های استخراج و عصاره‌گیری

(۱) خیساندن (Maceration)

در این روش گیاه به همراه حلال داخل مخزنی قرار داده و بطور منظم هم زده می‌شود. سپس مخلوط گیاه و عصاره صاف می‌شود و عصاره بدست آمده برای استفاده، مجددا فیلتر می‌شود.

(۲) دم کردن (Infusion)

گیاه توسط آب سرد و یا آب جوش برای مدت کوتاهی خیس می‌شود. با این روش محلول رقیقی از اجزای محلول در آب گیاه بدست می‌آید.

(۳) گواراندن (Digestion)

نوعی از خیساندن است که در آن، در طول فرایند استخراج، حرارت ملایمی استفاده می‌شود. این روش زمانی استفاده می‌شود که دمای نسبتا بالا مشکلی ایجاد نکند و تاثیری در کیفیت مواد موثره نداشته باشد. در این روش میزان حلال بیشتری هدر می‌رود.

(۴) جوشاندن (Decoction)

در این فرایند گیاه در حجم مخصوصی از آب برای مدت زمان معینی جوشانده می‌شود. سپس سرد و صاف می‌شود. این روش برای استخراج مواد موثره محلول در آب و پایدار حرارتی مناسب می‌باشد. نسبت گیاه به آب ثابت است ۱:۴ یا ۱:۱۶. عمل استخراج و جوشاندن آب، تا زمانی که حجم حلال به یک چهارم اولیه برسد ادامه می‌یابد. سپس عصاره غلیظ فیلتر می‌شود.

(۵) پرکولاسیون (Percolation)

پرکولاسیون روشی است که اغلب برای استخراج مواد موثره جهت تهیه تنتور (عصاره مایع) به کار می‌رود. پرکولاتورها (ظرف مخروطی شکل که از دو انتها باز است) عموما استفاده می‌شوند. گیاه با میزان موثری از حلال خیس شده و برای مدت زمان چهار ساعت در ظروف دربسته می‌ماند. سپس گیاه را داخل بسته‌هایی قرار داده و وارد پرکولاتور می‌کنند و خروجی‌ها را می‌بندند. حلال اضافی نیز جهت تشکیل یک لایه روی گیاه، اضافه می‌گردد. پس از گذشت ۲۴ ساعت و خیس شدن گیاه، خروجی پرکولاتور باز می‌شود تا عصاره آرام خارج گردد. در صورت نیاز حلال مازاد اضافه می‌گردد (در حدود سه چهارم حجم محصول نهایی مورد نیاز). در انتها تفاله‌ها پرس می‌شوند و محلول بدست آمده نیز به پرکولاتور اضافه می‌گردد. عصاره نیز طی مرحله فیلتراسیون صاف می‌گردد.

(۶) سوکسله Soxhlet – Hot Continuous Extraction

در این روش گیاه به صورت قطعات خیلی ریز، درون کیسه دارای خلل و فرج ریخته شده و داخل دستگاه سوکسله قرار داده می‌شود. حلال نیز داخل بالن ریخته و حرارت داده می‌شود.

مهمترین مزیت این روش استخراج میزان زیادی از ماده موثره و مصرف کم حلال می‌باشد. از لحاظ میزان مصرف انرژی و مدت زمان عصاره‌گیری نیز مقرون به صرفه می‌باشد.

(۷) تخمیر (Aqueous Alcoholic Extraction by Fermentation)

گیاه را برای مدت زمان معینی خیس می‌کنند. در اثر تخمیر الکل ایجاد می‌شود که استخراج مواد موثره از گیاه را آسان می‌کند (الکل تولید شده نقش نگهدارنده نیز دارد). این روش در ظروف سفالی صورت می‌گیرد. در اشل صنعتی ظروف چینی، چوبی و یا فلزی بکار می‌رود.

(۸) استخراج با جریان متناوب (CCE – Counter-current Extraction)

در این روش مواد گیاهی داخل ستون‌های استوانه‌ای قرار داده می‌شود و حلال نیز به ستون اضافه می‌گردد. با پیشرفت فرایند استخراج عصاره غلیظ تولید می‌شود. در صورت بهینه‌سازی مقدار حلال، مقدار گیاه و سرعت جریان حلال، استخراج کامل مواد موثره صورت می‌گیرد.

مزایای این روش:

در مقایسه با روش‌های ماسراسیون، جوشاندن و پرکولاسیون میزان حلال کمتری لازم است. این روش اکثرا در دمای اتاق صورت می‌گیرد ولی محدودیت دمایی هم وجود ندارد و در صورت نیاز می‌توان در دماهای بالاتر نیز عصاره‌گیری را انجام داد. این روش کارایی بالایی دارد و از متد سوکسله نیز بسیار موثرتر است.

(۹) استخراج با کمک امواج فراصوت (Ultrasound Extraction – Sonication)

در این روش از امواج فراصوت با فرکانس ۲۰-۲۰۰۰ کیلو هرتز استفاده می‌شود. این امواج نفوذ پذیری دیواره سلول‌ها را افزایش می‌دهد و ایجاد شکاف می‌کند. این روش در مواردی مثل استخراج از ریشه گیاه بسیار موثر است. یکی از معایب این روش اثرات زیان‌آور امواج صوتی روی ماده موثره گیاهان و تشکیل رادیکال آزاد و در نتیجه تغییرات نامطلوب در محصول نهایی می‌باشد.

(۱۰) استخراج با مایع فوق بحرانی (SFE – Supercritical Fluid Extraction)

در این روش هدف کاهش مصرف حلال آلی و افزایش توان تولید می‌باشد. شاخص‌های قابل کنترل شامل: دما، فشار، حجم نمونه، کمک حلال، شدت جریان و فشار می‌باشد. در این روش از مخازن استوانه‌ای استفاده می‌شود. یکی از مراحل مهم این روش جمع‌آوری عصاره حاصل می‌باشد

که احتمال از بین رفتن مقداری از نمونه وجود دارد. در این روش CO_2 به عنوان سیال استخراج کننده بکار می‌رود. از مزایای این سیال می‌توان به خواص فیزیکی مناسب، ارزان، سالم و فراوان بودن آن اشاره نمود ولی تا زمانی که این حلال به عنوان حلال اصلی استفاده می‌شود از نظر قطبیت دچار مشکل می‌شویم. به خصوص زمانی که ماده موثره قطبی جهت استخراج مد نظر باشد و یا زمانی که نمونه ماتریکس پیچیده‌ای داشته باشد. برای برطرف کردن این مشکل حلال‌های آلی به عنوان کمک حلال، اضافه می‌گردد. اخیرا به جای دی اکسید کربن، گاز آرگون نیز استفاده می‌شود که ارزان و بی‌اثر است. با افزایش دما و فشار سرعت فرایند افزایش می‌یابد. برای گاز ارگون دمای ۱۵۰ درجه و فشار ۵۰۰ اتمسفر بهینه شده است.

مزایای این روش:

۱ -استخراج مواد موثره در دمای پایین، که از خسارت ناشی از گرما و حلال جلوگیری می‌کند.

۲ -هیچ نوع حلالی در عصاره تولیدی باقی نمی‌ماند.

۳ -این روش دوستدار محیط زیست می‌باشد و به طور گسترده جهت استخراج انواع مواد موثره استفاده می‌شود.

از مهمترین معایب این روش، هزینه بالای راه‌اندازی و تجهیزات می‌باشد.

(۱۱) روش فیتونیک Process Phytonics

روشی مبتنی بر استفاده از یک حلال جدید به نام هیدروفلوئورکربن و یک تکنولوژی جدید برای استخراج بهینه مواد موثره از گیاهان می‌باشد که فواید زیست محیطی و سلامتی زیادی دارد. موادی که با این روش استخراج می‌شوند عبارتند از اجزای معطر روغن‌های فرار و بیولوژیکی یا عصاره‌های فیتوفارماکولوژی که بدون نیاز به هیچ گونه تغییری قابل مصرف هستند. حلال هیدروفلوئورکربن در این روش استفاده می‌شود که جایگزین کلروفلوئوروکربن است. نقطه جوش این حلال ۲۵- درجه است. اشتعال پذیر و سمی نیست. این حلال با روغن‌های معدنی و تری‌گلیسریدها مخلوط نمی‌شود (حلال ضعیفی می‌باشد). فرایند می‌تواند به صورت انتخابی عمل

نماید. حلال‌های دیگری نیز می‌توان افزود تا گستره وسیعی از مواد موثره را استخراج نمود. میزان حلال باقیمانده در عصاره خیلی کم است. این حلال به خاطر خنثی بودن تاثیری در ساختار مواد موثره ندارد. حلال می تواند طی فرایند چرخشی، کاملا بازیافت گردد. نیروی الکتریسیته در این روش استفاده می‌شود و البته میزان مصرف آن نیز کم می‌باشد.

مزایای این روش:

این روش سرد است و بنابراین مشکلات ناشی از دمای بالا وجود ندارد. فرایند در PH خنثی صورت می‌گیرد و در غیاب اکسیژن، بنابراین محصولات در معرض اکسیداسیون و هیدرولیز اسیدی قرار ندارند. روش خیلی انتخابی عمل می‌کند. اثرات مخرب کمی برای محیط زیست دارد. مصرف انرژی الکتریکی کمی دارد. حین فرایند عصاره‌گیری، مواد مضر تولید نمی‌شود. حلال سمی، اشتعال‌پذیر و مخرب نیست. طی این روش، حلال کاملا قابل بازیافت می‌باشد (www.sehat.ir).

۲-۵-۴ تحقیقات انجام شده در رابطه با اثرات حشره‌کشی عصاره‌های گیاهی

استفاده گسترده از عصاره‌های گیاهی به عنوان حشره‌کش اولین بار در سال ۱۸۵۰ با کاربرد نیکوتینا استخراج شده از دو گیاه *Nicotiana rustica* L. (Solanaceae) و *Nicotiana tabacum* L. (Solanaceae) و پیرترین از گل‌های خانواده کاسنی Compositae و به ویژه از گونه‌های جنس Chrysanthemum یا داوودی و روتنون از گیاهان *Derris elliptica* Wall. (Leguminosae) و *Lonchocarpus sp.* (Fabaceae) آغاز شد (Arnason *et al*., 1989).

در آزمایش‌هایی که روی لارو شب‌پره *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith (Lepidoptera: Noctuidae) انجام شد، عصاره هگزانی گیاه *Zea diploperennis* L. (Poaceae) موجب بازدارندگی رشد لارو این شب‌پره گردید و عصاره متانولی آن موجب کوچک شدن اندازه شفیره‌ها و عدم خروج

حشره کامل شد ولی تلفاتی را روی لارو شب‌پره فوق ایجاد نکرد (Farias-Rivera *et al*., 2003). ارزیابی پتانسیل استفاده ترکیبی عقیم‌سازی و چهار عصاره‌گیاهی برای کنترل بید غلات *Sitotroga cereallela* Olivier (Lepidoptera: Gelechiidae) نشان داد خرزهره *N. oleander* و چریش *A. indica* به طور کامل حمله لاروها را کاهش داد و نازایی برای حشرات کامل در غلظت ۵۰٪ افزایش یافت. عصاره‌های شوید *Anethum graveolens* L. (Apiaceae) و شاه پسند درختچه‌ای *Lantana camara* L. (Verbenaceae) توانستند خسارت و بقای لاروها را به حداقل برسانند. دوام سمیت عصاره‌های خرزهره و شوید در مدت سه هفته بهتر بود اما در شاه پسند و چریش تا دو هفته به سرعت از بین رفت (Mikhaiel, 2011). نتایج بررسی تاثیر حشره‌کشی و دورکنندگی عصاره‌های استونی، الکلی، هگزانی و آبی سپیدار *Populus alba* L. (Salicaceae) و صنوبر *Populus nigra* L. (Salicaceae) روی لارو شب‌پره آرد *E. kuhniella* نشان داد که عصاره آبی سپیدار در غلظت ۱۰۰٪ با بیش از ۵۰٪ حشره‌کشی بهترین اثر حشره‌کشی را داشت. علاوه بر آن همین عصاره در غلظت ۵۰٪ دارای اثر دورکنندگی روی لاروهای شب‌پره آرد بود. این نتایج بیانگر اثر حشره‌کشی بیشتر عصاره‌های حلال‌های قطبی بود. البته اثر حشره‌کشی در بیشترین غلظت یعنی عصاره خالص مشاهده شده است (رفیعی کرهرودی و همکاران،۱۳۹۰). ارزیابی قدرت دورکنندگی عصاره‌های شش گیاه دارویی روی لاروهای سن آخر شب‌پره هندی نشان داد تمام عصاره‌ها دارای خاصیت دورکنندگی هستند و عصاره هگزانی بابونه بیشترین و عصاره استونی بابونه کمترین اثر دورکنندگی را داشته است (منبری و همکاران، ۱۳۹۱). تاثیر عصاره‌های اتری آزادیراختین روی رشد و بیان ژن لاروهای سن پنجم شب‌پره هندی *P. interpunctella* بررسی شد، به طور کلی آزادیراختین به طور قابل توجهی رشد پس جنینی را مهار کرد و الگوهای بیان ژن شب‌پره هندی تغییر یافت (Lynn *et al*., 2012). نتایج بررسی اثر پودرها و روغن‌های گیاهی علیه بید غلات *S. cerealella* در ذرت ذخیره شده، افزایش مرگ و میر حشره کامل، کاهش ظهور نسل اول و خسارت دانه ها را نشان داد. مشخص شد دو روغن نباتی قوی‌ترین حشره‌کش زیستی علیه شب‌پره دانه ذرت هم‌تراز با حشره‌کش مصنوعی استاندارد مالاتیون

بودند (Gemechu *et al*., 2013). بر اساس نتایج به دست آمده از آزمایش عصاره‌های چند گیاه از Cerrado برزیل برای مدیریت تلفیقی بید گندم در انبار می‌توان نتیجه گرفت که عصاره‌های گل *Tithonia diversifolia* Hemsley (Asteraceae)، astilbin از گل *Dimorphandra mollis* Benth (Fabaceae)، برگ *Psychotria prunifolia* Kunth (Rubiaceae)، برای کاربرد در مدیریت تلفیقی بید گندم در گندم *Triticum aestivum* L. (Poaceae) انبار شده کاربرد دارند (Fouad *et al*., 2014).

فعالیت حشره‌کشی عصاره‌های سنجد تلخ *Melia toosendan* Seid et Zucc (Meliaceae) و Toosendanin علیه سه سوسک انباری *Cryptolestes ferrugineus* Stephens (Coleoptera: Laemophloeidae)، *S. oryzae*، *T.castaneum* نشان داد که تهیه حشره‌کش طبیعی از عصاره‌های *M. toosendan* ممکن است امکان‌پذیر باشد (Xie *et al*., 1995). بافت‌های خشک و پودر شده ۱۲ گیاه آفریقای مرکزی که بعضی از آنها در مالاوی استفاده دارویی دارد، برای بررسی پتانسیل آنها در کاهش آلودگی دانه گندم بوسیله شپشه برنج *S. oryzae* و ذرت بوسیله *Prostephanus truncates* Horn (Bostrichidae: Coleoptera) مورد آزمایش قرار گرفتند. چهار پودر موثر واقع شدند و عصاره نفتی اینها آزمایش شد، دو عصاره علیه حشرات کامل و افزایش نسل اثر قابل توجهی نشان دادند که عصاره *Dicoma sessiliflora* Harv. (Compositae) موثرتر از عصاره *Neorautanenia mitis* Verdc. (Papilonaceae) بود (Chimbe *et al*., 1996). مشخص شده است که دو میکرولیتر بر میلی لیتر عصاره گیاهان ردکاردیا *Rechardia tintiana* و کاسنی *Cichorium intybus* Linn. (Asteraceae) سمیت تنفسی بالایی روی حشرات بالغ و شفیره شپشه آرد *T. castaneum* دارند و عصاره متانولی پیرگیاه *Ssenecio lopezi* Guillenii (Asteraceae) و عصاره هگزانی سریشک *Asphodelus fistulosus* L. (Asphodelaceae) تلفات زیادی را روی لارو و شفیره حشره فوق ایجاد می‌کند (Pascual *et al*., 1998, 1999). بررسی بواک و همکاران (۲۰۰۳) نشان داد عصاره‌های تاتوره *Datura stramonium* LINN. (Solanaceae)، آگالیا *Agalia iva* و قیچ لوبیایی *Zygophillum*

fabago L. (Zygophyllaceae) ۷۰ تا ۱۰۰ درصد تلفات را روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات ایجاد می‌کند (Boeke *et al.*, 2004). چندین گیاه برای دور (Dwivedi and Shekhawat, 2004) کنندگی آفات گندم ارزیابی کردند. سمیت تنفسی ترکیبات طبیعی اسانس گیاهان معطر اسطوخودوس (Lamiaceae) *Lavandula officinalis* L.، رزماری *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae)، آویشن باغی *Thymus vulgaris* L. (Lamiaceae) و برگ بو *Laurus nobilis* L. (Lauraceae) علیه حشرات کامل شپشه برنج *S. oryzae*، سوسک کشیش *R. dominica*، شپشه آرد *T. castaneum* مورد بررسی قرار گرفت. حساس‌ترین گونه شپشه برنج و سپس سوسک کشیش بود. شپشه آرد نسبت به ترکیبات مورد آزمایش بسیار مقاوم بود. این ترکیبات ممکن است به دلیل فراریت، اثر بخشی و ایمنی بالای آنها به عنوان ماده ضد عفونی کننده تدخینی مناسب باشد. خصوصیات حشره‌کشی و دورکنندگی ترکیبات موجود در پودر برگ و مغز دانه اکالیپتوس روی آفات انباری لمبه گندم *Trogoderma granarium* Everts (Coleoptera: Dermestidae) و شپشه آرد *Tribolium sp.* مورد بررسی قرار گرفت، پودر بذر اکالیپتوس با میزان LC_{50} کمتر، دارای خاصیت حشره‌کشی بیشتری نسبت به پودر برگ اکالیپتوس، علیه هر دو گونه آفت انباری می‌باشد. همچنین پودر بذر اکالیپتوس با میزان درصد دورکنندگی بیشتر نسبت به پودر برگ اکالیپتوس برای هر دو گونه آفت انباری تاثیر بیشتری از خود نشان داده است (نجف آبادی و همکاران، ۱۳۸۵). نتایج بررسی اثرات دورکنندگی عصاره‌های گیاهان خرزهره *Nerium oleander* L.، اسطوخودوس *L. officinalis* و آنغوزه *Ferula assafoetida* L. (Apiaceae) روی شپشه آرد *T. castaneum* نشان داد که عصاره صمغ آنغوزه نسبت به عصاره‌های برگ، گل قرمز و گل سفید خرزهره و برگ اسطوخودوس به طور معنی‌داری دارای قدرت دورکنندگی بسیار بالایی بود. در تمام موارد با افزایش غلظت، قدرت دورکنندگی افزایش یافت و با گذشت زمان در طی پنج ساعت از قدرت آن کاسته نشد (ناظمی رفیع و محرمی پور، ۱۳۸۶). بررسی اثر حشره‌کشی عصاره برخی از گیاهان روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات *C. maculates* در آزمایشگاه و کرم برگخوار چغندرقند *Laphigma exigua* H.

(Lepidoptera: Noctuidae) در گلخانه نشان داد که در غلظت ۷۵۰ میکرولیتر بر میلی لیتر، عصاره استونی آویشن شیرازی و متانولی شاه تره بالاترین و هگزانی شیر تیغال پایین ترین درصد تلفات را نشان دادند. در همه تیمارها با افزایش غلظت درصد تلفات افزایش یافت. مقدار LC_{50} محاسبه شده برای سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات ۳۶ ساعت پس از تیماردهی با عصاره‌های گیاهی نشان داد که این سوسک در برابر عصاره آویشن شیرازی و شیرتیغال به ترتیب بیشترین و کمترین حساسیت را نسبت به سایر عصاره‌ها داراست (نفیسه مهدوی عرب و همکاران، ۱۳۸۶). تاثیر فرآورده‌های چهار گیاه محلی سلمه تره (*Chenopodium ambrosioides* L. (Chenopodiaceae)، جعفری *Tagetes minuta* L. (Asteraceae)، چریش *Azadirachta indica* و سرو لاوسون *Cupressus lusitanica* Miller (Cuperaceae) برای مدیریت سوسک لوبیا *A. obtectus* و سوسک برزیلی *Zabrotes subfasciatus* Boheman (Coleoptera: Bruchidae) در لوبیای انباری تحت شرایط آزمایشگاهی و طبیعی در شمال تانزانیا ارزیابی شد، در آزمایشگاه سلمه تره استفاده شده به صورت پودر یا برگ‌های کامل با مرگ و میر ۱۰۰٪ حشرات کامل در کمتر از سه روز و بدون تولید مثل، موثرین گیاه بود. جعفری مکزیکی استفاده شده به صورت پودر نیز به طور معنی‌داری مرگ و میر را افزایش و تخم‌ریزی و تولید مثل را کاهش داد. چریش و سرو لاوسون به صورت پودر یا برگ کامل تاثیر قابل توجهی بر مرگ، نرخ تخم‌گذاری یا تولید مثل در مقایسه با شاهد نداشتند. در شرایط طبیعی پودر دانه چریش موثرترین تیمار بود، سپس به ترتیب پودر برگ سلمه تره، سرو لاوسون و جعفری مکزیکی قرار داشتند (Paul *et al.*, 2009). بر اساس آزمایش سمیت تنفسی عصاره‌های گیاهان *Alianthus altissima* Swingle (Simaroubacae) و *Atractylodes lancea* Thunb. DC. (Asteraceae) و *Elsholtzia stauntonii* Benth (Lamiaceae) علیه حشرات کامل شپشه دندانه‌دار *O. surinamensis* و شپشه برنج *S. oryzae*، *Liposcelis paeta* (Pearman) (Psocoptera: Liposcelididae)، همه عصاره‌های گیاهی فعالیت تنفسی قوی علیه حشرات کامل شپشه دندانه‌دار و شپشه برنج داشتند و حشرات کامل شپشه دندانه‌دار حساس‌تر از حشرات کامل شپشه برنج بودند. سمیت تنفسی با افزایش غلظت به طور قابل

توجهی افزایش یافت (Jian-Hua *et al*., 2010). بررسی پتانسیل کاربرد فرآورده‌های زردچوبه *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae) نشان داد که عصاره ریزوم‌ها علیه *T. castaneum* موثر بودند. همچنین عصاره‌های اتری ریزوم‌ها از عصاره‌های اتانولی و استونی موثرتر بودند. آزمایش عصاره‌های استونی ریزوم زردچوبه در آزمایشگاه، بعنوان دافع روی پارچه‌های کنفی علیه *T. castaneum* نشان داد حتی در پایین‌ترین غلظت های ۳/۱۲ mg/cm^2 و ۲/۵ بسیار موثر بودند. عصاره‌ها حتی پس از سه ماه ماندن در دمای اتاق دورکنندگی نشان دادند. عصاره‌های استونی ریزوم‌های زرد چوبه به عنوان دورکننده علیه *T. castaneum* عمل کردند. عصاره‌های کلروفرمی ریزوم و قسمت هوایی گیاه فعالیت دورکنندگی قوی علیه حشرات کامل *T. castaneum* نشان داد، هر چند عصاره‌های قسمت هوایی در مقایسه با عصاره ریزوم ضعیف‌تر بود (Damalas, 2011). سمیت و فعالیت‌های بازدارنده رشد عصاره متانولی و آلکالوئیدهای β- carboline [۳] اسپند علیه دو آفت انباری سخت بالپوش غلات، شپشه آرد *T. castaneum* و سوسک کشیش *R. dominica* مورد بررسی قرار گرفت. همه عصاره‌ها اثر کشندگی قابل توجهی روی حشرات کامل با افزایش فعالیت در پاسخ به افزایش مدت در معرض‌گذاری به نمایش گذاشتند. با استفاده از آزمایش سمیت تماسی جزء خام β – carboline، ۴۸ ساعت پس از تیمار به ترتیب علیه سوسک کشیش و شپشه آرد موثرترین تیمار بود (Nenaah, 2011). مطالعه اثرات دورکنندگی و سمیتی عصاره‌های سه گیاه ادویه‌ای علیه حشرات کامل *C. maculates* در انبارهای نگهداری مواد غذایی نشان داد که شدت سمیت این سه ترکیب به صورت شنبلیله> زنیان> گشنیز و اثرات دورکنندگی به صورت شنبلیله> گشنیز> زنیان بود (اله ویسی و همکاران، ۱۳۹۰). بررسی شاخص‌های تغذیه‌ای لاروهای *Tribolium confusum* Jasquelin (Coleoptera: Tenebrionidae) پرورش یافته روی آرد گندم، آرد جو، آرد ذرت و حساسیت آنها به عصاره‌های استونی برگ‌های خرزهره نشان داد که لاروهای پرورش یافته روی آرد ذرت نسبت به لاروهایی که روی آرد گندم یا جو پرورش داده شدند به عصاره استونی برگ خرزهره مقاوم‌تر بودند (Shaurub *et al*., 2012). پتانسیل استفاده از فلاونوئیدها، لاتکس و عصاره استبرق به

عنوان محافظ دانه علیه دو آفت سخت‌بالپوش برنج انباری بررسی شد و محصولات طبیعی مورد مطالعه علیه هر دو حشره با استفاده از زیست سنجی با کاغذ صافی تیمار شده، سمیت قابل توجهی نشان دادند (Nenaah *et al*., 2013). عصاره متانولی برگ، بخش پروتئینی لاتکس و فلاونوئیدهای *Calotropis procera* Ait. (Asclepiadaceae) استخراج شدند، اثرات آنها روی بقا و رفتار تغذیه‌ای شپشه برنج *S. oryzae* و سوسک کشیش *R. dominica* ارزیابی شد، نتایج بررسی تغذیه نشان می‌دهد که در غلظت های زیرکشنده مواد مورد آزمایش، نرخ رشد نسبی (RGR)، نرخ مصرف غذا (RCR) و نرخ استفاده از غذا (ECIF) به وسیله حشرات کامل هر دو گونه را به طور معنی‌داری کاهش داد (Nenaah, 2013). یک مولکول فعال زیستی طبیعی به نام کومارین از برگ‌های درختچه شاه پسند *L. camara* بر اساس تکنیک‌های فیزیکی- شیمیایی و طیف سنجی‌های مختلف، جدا شد. کومارین بسیار سمی است و برای کنترل حشرات غلظت بسیار پایین آن مورد نیاز است. این مولکول پتانسیل قوی برای حفاظت دانه‌ها دارد و باعث کاهش معنی‌دار در نسل اول هر سه گونه شپشه برنج *S. oryzae*، شپشه آرد *T. castaneum*، سوسک چینی حبوبات *C. chinensis* در دانه های تیمار شده شد و در ۳۰ µg/L سبب کنترل کامل شد. تفاوت در جوانه‌زنی بین دانه‌های تیمار شده و شاهد معنی‌دار نبود. فقدان هر گونه اثر جانبی کومارین روی جوانه‌زنی دانه، برای تبدیل شدن به یک منبع بالقوه فومیگانت زیستی برای استراتژی های کنترل آفات سازگار با محیط زیست در طول ذخیره‌سازی دانه‌ها بسیار مطلوب است (Rajashekar *et al*., 2013). اثرات بازدارنده عصاره‌های متانولی برگ کرچک *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae) و پاپایا *Carica papaya* L. (Papayceae) بر رشد، گسترش و فعالیت α- آمیلاز روی شپشه آرد *T. castaneum* مورد آزمایش قرار گرفت. عصاره‌های کرچک و پاپایا که با یک رژیم غذایی انجام شد مرگ و میر را افزایش داد و طول دوره‌های لاروی و شفیرگی افزایش یافت. فعالیت آلفا آمیلاز مهار شد و محتوای گلوکز در لاروها و حشرات کامل کاهش یافت. این نتایج نشان می‌دهد که اثرات حشره‌کشی زیستی عصاره‌های برگ به واسطه مهار بیان ژن و فعالیت‌های آنزیم‌های درگیر در متابولیسم قند است (Tatun *et al*., 2014). بررسی

اثر حشره‌کشی و دفع‌کنندگی عصاره علف مار *Capparis spinosa* L. (Capparidaceae) و خرزهره *N. oleander* علیه آفات انباری لمبه گندم *T. granarium* و سوسک کشیش *R. dominica* نشان داد که مرگ و میر ناشی از عصاره گیاهی در سوسک کشیش بالا و در لمبه گندم پایین بود که اثبات کننده تاثیر کمتر نسبت به حشره‌کش‌های مصنوعی است (Khaliq *et al*., 2014).

اشموترر (۱۹۹۰) گزارش کرد که عصاره‌های برگ و دانه درخت چریش *Melia azedarach* Linn. (Meliaceae) علیه بیش از ۲۰۰ گونه از حشرات گیاهخوار از چندین راسته فعالیت حشره‌کشی دارد. همچنین گزارش شده است عصاره چریش و آزادیراختین (ترکیب فعال زیستی در چریش) علیه *Nilarparvata lugens* Stal (Hemiptera: Delphacidae) سمیت بالا و علیه *Chilo supressalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae) اثرات بازدارنده تخم‌ریزی و ضد تغذیه‌ای داشت. (Prakash and Rao, 1997)۸۶۶ گونه گیاهی مختلف را توصیف کردند که مواد شیمیایی مفید علیه حشرات تولید می‌کنند و ۲۵۶ ترکیب شیمیایی فعال آنها را فهرست کردند. در قدیم برگهای درخت عرعر *Ailanthus sp.* (Simaroubaceae) و تمام اندام گیاه سریشک *Asphodelus sp.* (Asphodelaceae) علیه شته‌ها و ریشه‌های گیشتر یا کتوس *Periploca sp.* (Apocynaceae) و اکثر گیاهان خانواده Cenopodiacae برای کنترل حشرات موذی استفاده می‌شدند (Pascual *et al*., 1998). مطابق آزمایش توماس و کالاگان (۱۹۹۹) عصاره سیر *Allium sativum* L. (Amaryllidaceae) روی دوبالان تاثیر لاروکشی دارد (Thomas and Callghan, 1999). فعالیت حشره‌کشی عصاره‌های متانولی سرخس وحشی و گیاه بازدانه Gymnosperm از ۵۴ گونه از ۲۲ خانواده، جمع‌آوری شده از کوه Shiwandashan در منطقه آزاد Guangxi Zhuang چین، روی حشرات کامل مگس خانگی *Musca domestica* Linnaeus (Diptera: Muscidae) و پشه *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae) آزمایش شد. در میان گیاهان جمع‌آوری شده ۲۲ گیاه روی مگس خانگی بالغ (مصرف ۴۰/۷۴ و ۲۲/۵۴ درصد) و عصاره پنج گیاه روی لاروهای سن چهارم پشه (مصرف ۵/۵۴ و ۹/۲۶ درصد) موثر هستند. نتایج غربالگری گسترده نشان داد که این سرخس و گیاه بازدانه Gymnosperm

پتانسیل بالایی برای تولید حشره‌کش‌های گیاهی دارند (Huang *et al*., 2010). تاثیر عصاره زیتون تلخ *M. azedarach* روی پارازیتوئید *Cotesia ayerza* Brèthes (Hymenoptera: Broconidae) پروانه برگخوار یونجه *Colias lesbia* Fab. (Lepidoptera: Pieridae) با غلظت ۲٪ آزمایش شد، لاروها با نرخ عادی زنده ماندند و به شفیره تبدیل شدند، در حالیکه القای اثرات زیر کشنده مانند وزن بدن پایین تر ظاهر شد. اثرات غیر مستقیم عصاره، در طول رشد پارازیتوئید روی میزبان تیمار شده فقط در یک نسبت جنسی مبتنی بر جنس ماده، بدون اثرات قابل‌توجه روی زمان تشکیل شفیره، تعداد شفیره‌ها یا پارازیتوئید بالغ ظاهر شده، دیده شد. مرگ و میر زنبورهای بالغ هنگامی که غذای آنها با عصاره تیمار شد، افزایش یافت اما با کاربرد موضعی بی‌تاثیر بود. این نتایج نشان می‌دهد که عصاره زیتون تلخ می تواند یک ابزار مناسب برای مدیریت تلفیقی آفت *C. lesbian* باشد (Defagó *et al*., 2011).

بررسی اثرات بیولوژیکی دو گیاه دارویی مهم، گندواش *Artemisia annua* L. (Asteraceae) و بومادران *Achillea millefolium* L. (Asteraceae) روی پروانه سفیده کوچک کلم *Pieris rapae* L. (Lepidoptera: Pieridae) که یک آفت زیان‌آور گیاهان Cruciferous است، تحت شرایط کنترل شده، نشان داد که شاخص‌های تغذیه‌ای با تغییراتی در تعدادی از پارامترها و افزایش طول دوره لاروی و شفیرگی به طور مختلف تحت تاثیر واقع شد. سطح فعالیت فسفاتاز آلکالین به سرعت افزایش یافت هنگامی که آلانین و آسپارتات آمینو ترانسفراز کاهش تندی نشان داد، برای ترکیبات غیر آنزیمی مقدار گلوکز و اسید اوریک افزایش یافت، اما پروتئین و کلسترول کل کاهش یافت. نتایج نشان داد که این دو گیاه دارویی ممکن است متابولیت های ثانویه بالقوه‌ای داشته باشند که ممکن است برای کنترل آفات مفید باشد (Hasheminia *et al*., 2011). با بررسی اثر چند آفت کش و عصاره‌گیاهی بر پارامترهای جدول زندگی بالتوری سبز *Chrysoperla carnea* Stephens (Neuroptera: Chrysopidae) اثبات شد که عصاره‌های استبرق و کلپوره می‌توانند به عنوان مواد موثر علیه آفات به کار روند در حالی‌که مصونیت نسبی برای بالتوری دارند (ایران نژاد و همکاران، ۱۳۹۰). عصاره خام برگ جینکو اثر ضد تغذیه‌ای قوی علیه پوره‌های *N. lugens* داشت. متیل اوژنول

(ME) یک فنیل پروپانوئید با synonym های زیاد در بسیاری گونه‌های گیاهی (۴۵۰<) از ۸۰ خانواده از بسیاری راسته‌های گیاهی، به ویژه در گیاهان دارویی و ادویه‌جات موجود است. توزیع گسترده‌ای در منابع طبیعی دارد و به آسانی یافت می‌شود. متیل اوژنول نه تنها اثرات ضد سرفه، خلط‌آور و مسکن دارد، بلکه فعالیت ضد میکروبی و حشره‌کشی و کنه‌کشی نیز دارد. همچنین علیه پشه *Aedes aegypti* و شپشه آرد *T. castaneum* اثر دافع تدریجی منتشر می‌کند (Hong-Xing *et al*., 2015). توجه و رویکرد عمومی به ترکیبات گیاهی برای مبارزه با آفات انباری منجر به بررسی اثر حشره‌کشی عصاره‌های گیاهی شد. عصاره‌های گیاهی یکی از گزینه‌های مناسب به عنوان جایگزین ترکیبات شیمیایی سنتزی هستند که در بین ترکیبات پیشنهاد شده، کمترین خطر را برای انسان و محیط زیست داشته‌اند.

۲-۶ قارچ‌های بیماری‌زای حشرات

قارچ‌های بیماری‌زای حشرات عوامل کلیدی در کنترل جمعیت حشرات هستند و به عنوان عوامل مهار زیستی بسیار امیدبخش در نظر گرفته می‌شوند. این ارگانیسم‌ها اولین گروهی بودند که به عنوان عامل مهار زیستی در نظر گرفته شدند. پتانسیل این قارچ‌ها در تولید بیماری‌های طبیعی باعث برخی تلاش‌ها در بهبود آنها در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات شد (Safavi *et al*., 2010). قارچ‌های بیماری‌زای حشرات در اکوسیستم گسترش وسیعی دارند. در این راستا گونه‌های راسته Entomophthorales به طور معمول، برای آلوده سازی میزبان‌های بندپا ، استفاده شده‌اند (Meylin, 2008) ولی تولید آن‌ها بسیار دشوار بوده و کنیدی آن‌ها دوره زندگی کوتاهی دارد که کاربرد آن‌ها را مشکل می‌سازد (Lacey *et al*., 2001). قارچ‌های ناقص (Deuteromycota: Hyphomycetes) چرخه زندگی ساده‌ای داشته به طوری که فاقد تولید مثل جنسی بوده و طیف میزبانی گسترده‌ای دارند. این گونه‌ها برای استفاده علیه آفات زیادی از قبیل سفید بالک‌ها، شته‌ها، تریپس‌ها، موریانه‌ها، ملخ‌ها، سخت بالپوشان و دیگر حشرات بکار برده شده‌اند (Lacey *et al*., 2001). قارچ‌های بیماری‌زای

حشرات تولید کننده پرکار متابولیت‌های ثانویه فعال زیستی هستند که پیش بینی می شود نقش کلیدی بعنوان عوامل زهراگین آلوده کننده بندپایان دارند. متابولیت‌های تولید شده بوسیله قارچ‌های بیماری‌زای حشرات به یک یا چند روش عمل می‌کنند:

۱- سمی بودن برای میزبان و کمک به ایجاد مرگ

۲- کمک کردن به قارچ برای غلبه بر دفاع میزبان

۳- سرکوب کردن رقابت دیگر عوامل بیماری‌زا و ساپروفیت‌های روی جسد حشره

۴- فراهم کردن دفاع خارجی میزبان در برابر موجودات قارچ خوار

پپتیدهای غیر ریبوزومی، آلکالوئیدها، ترپن‌ها و Polyketides گروه‌های اصلی متابولیت‌های ثانویه قارچی هستند که بنظر می‌رسد توسط سازوکارهای مختلف نظارتی سلولی و ژنتیکی کنترل می‌شوند. بیوسنتز متابولیت‌های ثانویه، مشخصه برجسته ارگانیسم‌های قارچی است. آنها ممکن است به عنوان سلاح شیمیایی دفاعی و تهاجمی در برابر آفات عمل کنند (Safavi, 2013). برخی از گونه‌های قارچی مانند *Beauveria bassiana* دامنه میزبانی وسیعی دارند. این گونه در سراسر جهان با لیست میزبانی وسیع و در خاک بعنوان ساپروفیت رخ می‌دهد (Safavi *et al*., 2010). *B. bassiana* یک قارچ همه جایی است و از طیف گسترده‌ای از حشرات راسته‌های مختلف یافت و جدا شده است. به طور کلی روی حشرات آلوده در مناطق معتدل و گرمسیری سراسر جهان یافت می‌شود (Safavi, 2013). *B. bassiana* خاکزاد است و روی سطوح گیاهان و به عنوان آلودگی نهفته در حشرات میزبان بالای سطح زمین، نشان دهنده تعامل بین زیر و روی سطح زمین است (Meyling *et al*., 2011). *B. bassiana* پتانسیل خوبی برای کنترل آفات محصولات انباری مختلف دارد و بوسیله آژانس حفاظت محیط زیست آمریکا برای طیف گسترده‌ای از برنامه‌های کاربردی کنترل حشرات ثبت شده است (Kaur *et al*., 2014). بسیاری از آفات مهم در انبارها و محیط های فرآوری غلات به عنوان میزبان‌های حساس برای *B. bassiana* ثابت شده‌اند، اما هزینه‌های تولید نسبتا بالای آن و مقادیر استفاده بالا کاربرد آن را از لحاظ اقتصادی غیر عملی می‌کند (Waseem *et al*., 2004). *B. bassiana*

در شرایط آزمایشگاهی و طبیعی چندین ترکیب سمی تولید می‌کند. اکثریت این مولکول‌های حشره‌کش متابولیت‌های ثانویه با وزن مولکولی کم هستند. Beauvericin، Bassianin، Bassianolide، Beauverolides، Beauveriolides، Tenellin، Oosporein، Oxalicacid، Bassiacridin برخی از متابولیت‌های مهم *B. bassiana* هستند. در میان آنها، Beauvericin مهمترین ترکیب است که برای اولین بار از قارچ *B. bassiana* گزارش شد. همه ایزوله‌های *B. bassiana* در آزمایشگاه Beauvericin تولید نمی‌کنند. Beauvericin خواص حشره‌کشی متوسط را حمل می‌کند. با این حال برخی گزارش‌ها وجود دارند که علیه حشرات خاصی سمیت ندارد (Safavi, 2013).

عوامل کنترل زیستی قارچی را می‌توان برای تیمار انبارهای خالی برای کنترل آفات باقیمانده قبل از اینکه محصول برداشت شده جدید آورده شود، استعمال کرد یا ممکن است بعنوان مخلوط مستقیم کنیدی‌ها با دانه‌ها به عنوان تیمارهای پیشگیری کننده یا دارای خاصیت درمانی به توده دانه‌ها اعمال شود که کیفیت و بازار پسندی دانه‌ها را کاهش نمی‌دهد. بهره وری از کنترل زیستی آفات با قارچ‌های بیماری‌زای حشرات به طور عمده به دلیل ظرفیت آنها برای تولید اپیدمی از اجساد آلوده است. این اجساد به عنوان یک منبع تلقیح و در نتیجه انتشار بیشتر عامل میکروبی در محیط زیست عمل می‌کنند (Kaur *et al*., 2014). مجموعه پیچیده‌ای از فرایندهای متقابل، شامل عوامل محیطی و عوامل زنده وجود دارند که یا برای توسعه همه‌گیری قارچ‌های بیماری‌زای حشرات ضروری است و یا از ایجاد همه‌گیری جلوگیری می‌کنند که شامل حساسیت به اشعه نور خورشید، عوامل میکروبی آنتاگونیست[1]، رفتار میزبان، وضعیت فیزیولوژیکی و سن میزبان، قدرت بیمارگر، وجود آفت‌کش‌های شیمیایی، دما و رطوبت و آستانه مایه تلقیح[2] مورد نیاز برای رهاسازی می‌باشد (Lacey *et al*., 2001). استفاده موفقیت آمیز از قارچ‌های بیماری‌زا به عنوان عوامل کنترل میکروبی در نهایت بستگی به استعمال آنها در یک غلظت و زمان مناسب دارد. زمان مناسب و صحیح استعمال نیز به وجود مراحل

[1] Antagonistic microbial agents
[2] Inoculum

حساس میزبان، شرایط محیطی مناسب و زمان بندی سازگار با دیگر عملیات کشت و کار یا کنترلی نظیر آبیاری، اجتناب از استفاده از قارچ کش‌ها و غیره وابسته است. بهینه سازی بیشتر در فعالیت کنترل میکروبی توسط قارچ‌های بیماری‌زا را می‌توان به واسطه ترکیب آن‌ها با دیگر فناوری‌ها، استفاده توأم با دیگر عوامل مهار زیستی، مدیریت محیط برای بهبود فرایند آلودگی و همچنین استفاده از آفات هدف برای انتشار قارچ‌ها، ارتقاء داد (Lacey *et al.*, 2001).

۲-۶-۱ مزایا و معایب استفاده از قارچها در کنترل آفات

مزایا:

۱- بسیاری از حشرات بوسیله یک یا چند قارچ پارازیته می‌شوند و در بعضی موارد قارچ‌ها تنها عامل بالقوه کنترل میکروبی محسوب می‌شوند.

۲- قارچ‌ها معمولاً تمامی مراحل تکامل میزبان‌های خود را مورد حمله قرار می‌دهند، بنابراین می‌توان از آنها در هر مرحله‌ای از زندگی میزبان که مورد نیاز باشد استفاده نمود.

۳- بعضی از قارچ‌های بیماری‌زا میزبان‌های متعدد و زیادی دارند و اگر بتوان بر مشکلات تولید انبوه و ذخیره سازی آن فائق آمد به عنوان یکی از عوامل خیلی مفید در مهار زیستی شناخته خواهند شد.

۴- قارچ‌ها معمولاً خطری برای سلامتی انسان و سایر مهره داران ندارند.

۵- قارچ‌ها باعث مرگ و میر میزبان‌های خود می‌شوند و متعاقباً اسپورهای فراوانی را تولید می‌کنند. بنابراین می‌توانند در شرایط محیطی مناسب اثرات خسارت باری را روی میزبان ایجاد نمایند.

۶- قارچ‌ها معمولاً با حشره کش‌ها قابل اختلاط و سازگاری هستند و در بعضی موارد نقش تشدید کننده نیز بازی می‌کنند.

معایب:

۱- مهمترین عیب قارچ‌ها در سیستم کنترلی میکروبی حساسیت اسپورهای قارچی به خشکی محیط و اثر تابش اشعه ماورای بنفش در آنها می‌باشد.

۲- شکل گیری یک بیماری همه گیر قارچی در منطقه، تحت تأثیر زنجیره‌ای از عوامل محیطی است، بنابراین پیش بینی موفقیت ماده تلقیح در یک محیط مشکل می‌باشد.

۳- بسیاری از قارچ‌های بیماری‌زا در حشرات در مقابل مصرف قارچ‌کش‌های معمولی به منظور کنترل انواع بیماری‌های گیاهی حساس هستند (صارمی و نوری، ۱۳۸۵).

انجمن مهار زیستی میکروبی آمریکای شمالی، اثرات مضر رهاسازی این میکروارگانیزم‌ها را روی انسان و محیط زیست بررسی کردند. این اثرات شامل موارد زیر هستند:

الف) ایجاد آلرژی در انسان

ب) سمیت و بیماری‌زایی برای ارگانیسم‌های غیر هدف

البته این موارد در نتیجه استفاده نادرست از قارچ‌های بیماری‌زای حشرات بوجود می‌آیند (چراغی و همکاران، ۱۳۹۱).

برای استفاده مناسب از قارچ‌ها در مهار زیستی و دوام و سازگاری آن در طبیعت باید نکاتی را مورد توجه قرار داد:

۱- توسعه و تکثیر ماده تلقیح (اینوکلوم) قارچ مورد استفاده: در حقیقت هر چقدر میزان اینوکلوم مصرفی کم بوده و از طرفی رشد و گسترش اینوکلوم ثانویه بیشتر باشد، بهتر خواهد بود. شرایط طبیعی و توانایی رشد سریع قارچ مصرفی در محل مورد نظر به توسعه اینوکلوم کمک خواهد نمود. از طرفی میزان دوام و بقاء قارچ عامل مهار زیستی در محل مورد استفاده، زمینه کنترل را برای نسل‌ها و سال-های بعدی ایجاد می نماید.

۲- مسائل مربوط به مقاومت قارچ‌ها به حرارت و شرایط خشکی خیلی مهم می‌باشد، این موارد برای شرایط ایجاد آلودگی حتی در دوره تولید و انبارداری آنها پر اهمیت است.

۳- سطح آگاهی تولید کنندگان کشاورزی نیز باید افزایش یابد و آنها مطلع شوند که سموم میکروبی نسبت به سموم شیمیایی اثر کمتری در تخریب محیط زیست داشته و لیکن اثر کنترلی آنها با سرعت سموم شیمیایی نیست. به علت سرعت کم در کنترل آفات و بیماری‌ها توسط قارچ‌ها، احتمالاً مصرف و

بازاریابی این عوامل کم خواهد بود، برای حل این مشکل و ایجاد کشندگی و کنترل سریع آفات توسط قارچ‌ها، کارهای تحقیقاتی با استفاده از مهندسی ژنتیک در دست اقدام است (صارمی و نوری، ۱۳۸۵).

۲-۶-۲ جایگاه قارچ‌های بیماری‌زای حشرات

به نظر می رسد تعداد گونه‌های عوامل بیماری‌زای حشرات از تعداد گونه‌های حشرات بیشتر باشد (عباس پور، ۱۳۸۷). تاکنون بیش از ۷۰۰ گونه قارچ بیماری‌زای حشرات شناخته شده‌اند؛ ولی از جنبه کاربرد در مهار زیستی توجه بر روی ۲۰ گونه متمرکز شده است؛ که عمدتاً در ۱۲ جنس به شرح زیر هستند (Alexopolous *et al*., 1996) :

Aschersonia, Beauveria, Entomophaga, Entomophthora, Erynia, Hirsutella, Lagenidium, Metarhizium, Neozygites, Nomuraea, Peacilomyces, Verticillium

اکثریت قارچ‌های بیماری‌زای حشرات متعلق به قارچ‌های ناقص هستند. جنس‌های متعلق به این گروه از قارچ‌ها به وسیله صفات مرفولوژیکی و تکاملی خاص اندام‌های تولید کننده اسپور از همدیگر تفکیک می‌شوند. گونه‌ها نیز به وسیله وجود اختلافاتی مثلاً در شکل و اندازه اسپورها از یکدیگر قابل تشخیص هستند (کاظمی، ۱۳۷۴).

۲-۶-۳ نحوه آلوده سازی حشرات توسط قارچ‌ها

قارچ‌های بیماری‌زای حشرات میزبان‌های خود را از طریق جلد مورد هجوم قرار می‌دهند و از طریق کاهش متابولیسم‌های میزبان، تولید مواد سمی، تخریب بافت‌ها و یا هر سه مورد، باعث مرگ میزبان می‌شوند. فرآیند توسعه بیماری قارچی در حشرات به نظر مشابه می‌باشد و شامل مراحل زیر است:

الف) اتصال اسپور قارچ به کوتیکول حشره

ب) جوانه زنی اسپور روی بدن

ج) نفوذ در کوتیکول

د) رشد قارچ در هموسل حشره

و) تولید مواد سمی

ه) مرگ میزبان (Rath, 2000).

۲-۶-۴ انتقال افقی قارچ‌های بیماری‌زای حشرات

انتقال افقی معمولاً به عنوان انتقال بین افراد همان نسل در نظر گرفته می‌شود. عوامل بیماری‌زای حشرات به طور افقی به سه طریق از یک حشره میزبان به یک حشره دیگر انتقال می‌یابند:

الف) بلعیدن مرحله آلوده‌زای عامل بیمارگر

ب) نفوذ یک مرحله آلوده‌زای عامل بیمارگر از طریق کوتیکول یا سوراخ‌های تنفسی

ج) توسط یک حشره ناقل انگل، که می‌تواند عامل بیمارگر را از یک حشره میزبان آلوده به حشره میزبان سالم منتقل کند (عباس پور، ۱۳۸۷).

۲-۶-۵ پایداری محصولات قارچی

در اکثر موارد بیشتر اسپورها به اشعه ماورای بنفش بسیار حساس و اسپورهایی که در معرض نور خورشید قرار می‌گیرند عمر کوتاهی دارند. نیمه عمر برخی از اسپورهایی که در معرض نور مستقیم خورشید قرار می‌گیرند، می‌تواند در حد چند دقیقه باشد. عموماً دوام اسپورها در زیستگاه‌های سایه‌دار و در خاک بیشتر است. در مقایسه با آن اسپورهای استراحتی با دیواره‌های ضخیم، که توسط گونه‌هایی از اوومیست، زیگومیست و برخی آسکومیست ها تولید می‌شوند، قادر به دوام طولانی مدت، برای سال‌ها و تحت شرایط نامطلوب هستند (چراغی و همکاران، ۱۳۹۱).

۲-۶-۶ اهمیت و قدمت قارچ ***Beauveria bassiana*** **(Balsamo)**

در میان عوامل بیولوژیک قارچ‌های بیماری‌زای حشرات از موفقیت ویژه‌ای برخوردارند. از بین این عوامل، قارچ‌های جنس *Beauveria* و گونه *B. bassiana* از اولین قارچ‌های شناخته شده در حشرات می‌باشد و به نام موسکاردین سفید معرفی شده است (Leathers and Subhaseh *et al.*, 1993). این قارچ دارای دامنه میزبانی وسیع بوده و بیش از ۲۰۰ گونه از نه راسته حشرات را آلوده می‌کند (Feng *et al.*, 1994). قدرت قارچ *B.bassiana* برای کنترل آفات انباری بیشتر از سایر قارچ‌های حشره خوار

می‌باشد (Padine *et al*., 1994). منشأ کنترل میکروبی آفات به اوایل قرن نهم میلادی باز می‌گردد. زمانی که دانشمند ایتالیایی Agostino bassi پس از ۳۰ سال مطالعه بر روی بیماری موسکاردین[1] سفید در کرم ابریشم *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae) تشخیص داد که قارچ *B. bassiana* عامل این بیماری است. بنابر عقیده Anisworth (1956) ، Van Driesche and Bellows (1996) و Porter (1973)، کشف Bassi نه تنها بنیان کنترل میکروبی آفات را پایه ریزی کرده بلکه به طور قابل توجهی کارهای Louis Pastor، Robert koch و دیگر افراد پیشگام در زمینه میکروبیولوژی را تحت تأثیر قرا داد (Längle, 2006). جنس *Beauveria* در سال ۱۹۱۲ توسط Vuillemin شرح داده شد. بررسی‌های بیشتر بر روی مرفولوژی و تاکسونومی این جنس توسط Benham and Miranda در سال ۱۹۵۳ و McLeod در سال ۱۹۵۴ انجام شد و در اوایل قرن بیستم کارهای مزرعه‌ای با استفاده از *B. bassiana*، *B. brogniartii* (Sacc.) Petch. و *Metarhizium anisopliae* صورت گرفت. امروزه با گذشت بیش از ۱۰۰ سال هیچ گزارشی از آثار مخرب و مضری که بتواند مانع استفاده از این ارگانیسم‌ها در مهار زیستی شود شناسایی نشده است. قارچ *B. bassiana* جزو پاتوژن‌های مشهوری است که به دلیل طیف میزبانی وسیع به عنوان یک آفت کش زیستی امن مورد توجه قرار گرفته است (Waseem *et al*., 2004). ضمن این که جدایه‌های مختلف آن دامنه میزبانی و بیماری‌زایی بسیار متفاوتی دارند (Talaei-Hassanloui *et al*., 2007). طبق بررسی‌های انجام شده *B. bassiana* از بیش از ۱۰۰ حشره آفت جداسازی شده است و Bidochka و همکاران (2002) آن را یک قارچ خاکزی رایج معرفی کرده‌اند. (Ignoffo *et al*., 1992) و (Braga *et al*., 2001) اشعه ماوراء بنفش (UV) نور خورشید را تنها فاکتور در کاهش توانایی قارچ‌های بیماری‌زا تحت شرایط مزرعه‌ای دانسته‌اند. ولی از این جهت که انبارها و محیط‌های فرآوری بذور اغلب در معرض تابش نور خورشید نبوده و اغلب آفات موجود در این محیط‌ها هدف‌های حساسی برای *B. bassiana* محسوب می‌گردند،

[1] Muscardine

لذا می‌توان امیدوار بود که بتوان در شرایط انباری از عوامل مهار زیستی مذکور با موفقیت بیشتری بهره جست (Waseem *et al.*, 2004).

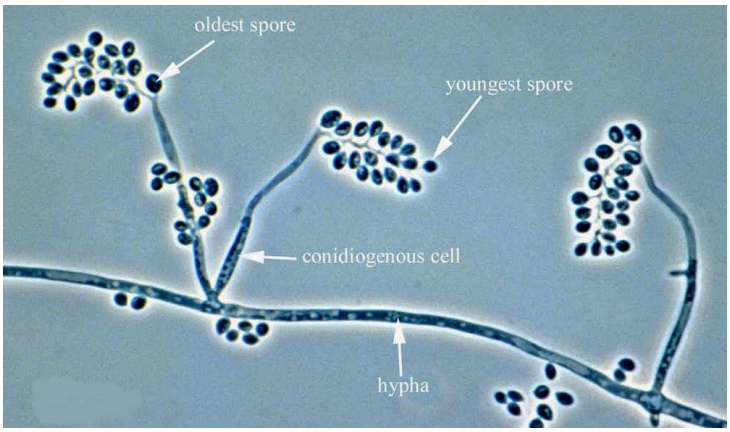
۲-۶-۷ شکل شناسی قارچ *B. bassiana*

قارچ *B. bassiana* روی سطح محیط کشت، پشم مانند، کرک دار و پودری به نظر می‌رسد (شکل ۲-۱۰). رشته‌های میسیلیومی استوانه‌ای، بی‌رنگ و دارای دیواره عرضی می‌باشند (۲-۱۱). قطر کلنی‌ها در مدت هشت روز و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد به ۳/۲-۰/۶ سانتی متر می‌رسد. رنگ کلنی سفید بوده ولی سپس به رنگ زرد کم‌رنگ درمی‌آید. کنیدی برها[۱] منفرد بوده و بصورت منظم دور هم جمع می‌شوند. در تعدادی از گونه‌های این قارچ کنیدی بر متورم بوده و به طرف انتها باریک و حامل کنیدی[۲] می‌باشد (Anonymous, 1980). اندازه کنیدی در قارچ *B. bassiana*، ۵/۵-۱ میکرومتر می‌باشد. کنیدی‌های این قارچ، شفاف، گرد تا تخم مرغی شکل، یک سلولی و بصورت انفرادی بر روی زواید کوچکی تشکیل می‌شوند (بارنت و هانتر، ۱۹۰۹) (شکل ۲-۱۲). قارچ *B. bassiana* قادر است سه نوع اسپور[۳] تولید نماید. این سه نوع عبارتند از: کنیدی‌های هوایی، بلاستوسپورها[۴] و کنیدی‌های غوطه ور (Thomas *et al.*,1987 ; Pachamuthu and Kamble, 2000). نوع محیط کشت، نور و pH آن ممکن است اثراتی روی رنگی شدن[۵] میسلیوم قارچ *B. bassiana* داشته باشد (McLeod, 1954). این قارچ یک پارازیت اختیاری است که می تواند در مراحل ساپروفیتی و انگلی زنده بماند. هوازی و هم خاکزی می‌باشد و روی بقایای گیاهی و مواد آلی در مزرعه همانند پوسته برنج و تراشه چوب‌های جنگلی و یا درون لاشه‌های میزبان زنده می‌ماند (Tanda and Kaya, 1993).

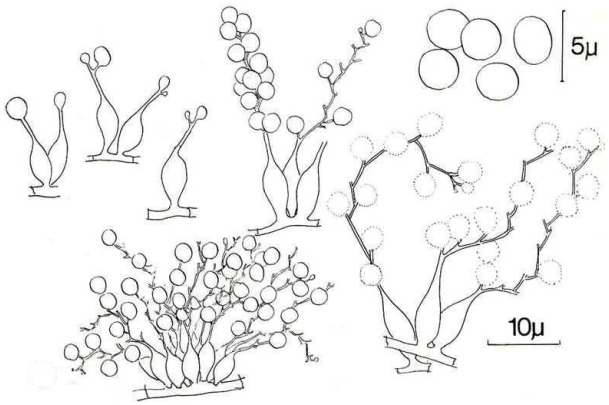
---

[1] Conidiophores
[2] Conidium
[1] Spore
[2] Blastospores
[3] Pigmentation

شکل۲-۱۰ تیپ رشدی *Beauveria bassiana* در محیط کشت (www.m.indiamart.com)



شکل۲-۱۱ اندام غیرجنسی و روش تکثیر غیرجنسی *B.bassiana* (www.uoguelph.ca)



شکل۲-۱۲ کنیدی و کنیدیفور در گونه *B. bassiana* (www.uoguelph.ca)

شکل۲-۱۳ لارو آلوده به *B.bassiana* (www.csrtimys.res.in)

۲-۶-۸ تحقیقات انجام شده در رابطه با اثرات حشره‌کشی قارچ *B. bassiana*

عوامل مهار زیستی قبل از استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی توسعه یافته بودند. برای مثال اولین استفاده از یک قارچ بیماری‌زای حشرات، کاربرد *M. anisopliae* برای کنترل سوسک برگخوار گندم در اکراین به وسیله Metschnikoff در سال ۱۸۷۹ میلادی بوده است.

نتایج مطالعه بیماری‌زایی ایزوله‌های قارچ حشره‌کش *B. bassiana* بر روی حشره آزمون *Galleria mellonella* F. (Lepidoptera: Pyralidae) نه تنها نشان دهنده دخالت ویژگی‌های متعدد قارچی در امر بیماری‌زایی حشره آزمون است بلکه می تواند گام دیگری در تطبیق شاخص‌های توکسیکولوژیک در مطالعات عوامل میکروبی محسوب شود (دایر، ۱۳۸۰). بررسی نیازهای دمایی در زیست سنجی آزمایشگاهی *B. bassiana*، *P. interpuntella* نشان داد که دماهای بالاتر مانع توسعه سریع بیماری قارچی روی *P. interpunctella* می‌شود (Fatu *et al.*, 2010). نتایج بررسی تاثیر دما و تنظیم کننده‌های رشد حشرات روی پاسخ ایمنی شب پره مدیترانه‌ای آرد *E. kuehniella* در برابر دو گونه قارچ بیمارگر *B. bassiana* و *M. anisopliae* نشان داد که تعداد کل سلول‌های خونی با افزایش سن لاروی به صورت معنی‌داری افزایش پیدا کرد و در مرحله پیش شفیرگی به حداکثر مقدار خود رسید. پلاسماتوسیت‌ها و گرانولوسیت‌ها بیشترین جمعیت سلول‌های خونی را در تمام مراحل لاروی به خود اختصاص دادند. در مقایسه با دماهای ۲۷ و ۴ درجه سلسیوس، قرار دادن لاروهای سن پنجم آلوده به اسپور جدایه‌های قارچی در دمای ۴۰ درجه سلسیوس باعث افزایش تعداد کل

سلول‌های خونی، جمعیت پلاسماتوسیت‌ها، میزان تشکیل گره، فعالیت آنزیم فنل اکسیداز و متعاقب آن افزایش میزان زنده مانی آنها شد. برخلاف اثر متوقف کننده پیری پروکسیفن روی سامانه ایمنی این حشره، کاربرد متوکسی فنوزاید روی لاروهای آلوده به اسپور قارچ باعث افزایش تعداد کل سلول‌های خونی، جمعیت پلاسماتوسیت‌ها، میزان تشکیل گره و فعالیت آنزیم فنل اکسیداز شد. به طور کلی، نتایج نشان داد که بخشی از واکنش‌های سامانه ایمنی توسط دما و ترکیبات شبه هورمونی تنظیم می‌شود (محرمی پور و همکاران، ۱۳۹۲). در شرایط طبیعی کنیدی‌های قارچی *B. bassiana* باعث مرگ و میر بالاتر لاروهای *G. mellonella* در مقایسه با قارچ‌های تکثیر شده در شرایط آزمایشگاهی در غلظت‌های مختلف می‌شود (Safavi, 2013). ارزیابی آزمایشگاهی پتانسیل *B. bassiana* به عنوان یک عامل مهار زیستی بید غلات *C. cephalonica* نشان داد قارچ *B. bassiana* نه تنها باعث مرگ و میر در *C. cephalonica* شد بلکه همچنین رشد و نمو آن را طولانی کرد، ظهور حشره کامل را کاهش داد و ناهنجاری‌های مرفولوژیکی در حشرات کامل ایجاد شد که در نهایت به کنترل جمعیت آفت منجر شد (Kaur *et al*., 2014). بررسی وقوع قارچ‌های بیماری‌زای حشرات در خاک مزارع کشت شده با سیستم معمولی و آلی نشان داد: *M. anisopliae* مکررترین قارچ بیماری‌زای حشرات در خاک‌های مزارع آلی و معمولی است. این قارچ بیشترین تعداد لاروهای *G. mellonella* را به خوبی آلوده کرد. قارچ‌های بیماری‌زای حشرات به طور متوسط در واحد شمارش در یک گرم خاک مزارع آلی کلونی‌های بیشتری نسبت به خاک مزارع معمولی تشکیل دادند. *M. anisopliae* و *B. bassiana* در خاک مزارع آلی و *Isaria fumosorosea* Wize در خاک مزارع معمولی با تراکم بالاتری وجود دارند (Tkaczuk *et al*., 2014).

پتانسیل کاربرد قارچ *B. bassiana* برای کنترل آفات انباری از جمله *O. surinamensis* بیشتر از سایر قارچ‌های حشره‌خوار از جمله *M. anisopliae* و *Nomurea rileyi* Farlow می‌باشد (Beegle and Yamamoto, 1992). گونه *B. bassiana* اثر موثری در کنترل شپشک موز داشته و در منطقه آفریقا با استفاده از این قارچ ۶۰ درصد از تخم‌های آفت مذکور کنترل شده است (Butt *et al*., 2001).

در تحقیقات جاسیم و همکاران (۲۰۰۳) قارچ *B. bassiana* را به نسبت ۳×۱۰^{۵} کنیدی در متر مکعب در شرایط انبارداری خرما به کار بردند و توانستند تا ۹۶ درصد جمعیت *Carda cautella* Walk (Lep. Pyralidae) را کاهش دهند (James and Jeffrey, 2003). ایزوله‌های متعددی از قارچ *B. bassiana* برای کنترل لارو، حشره کامل و حتی تخم سرخرطومی حنایی خرما استفاده شده‌اند که میزان اثر گذاری آنها متغیر می‌باشد، به عنوان مثال ایزوله *B. bassiana* EABb روی لارو و حشره کامل مرگ و میر قابل توجهی دارد اما روی تخم به دلیل حضور کوریون که لایه‌ای مقاوم است مرگ و میر ایجاد نکرده است (EL- Sufty, 2007). غلظت‌های زیر کشنده قارچ *B. bassiana* دارای اثرات معنی‌داری در کاهش قدرت تولید مثل شپشه دندانه‌دار *O. surinamensis* بوده‌اند (لطیفیان و همکاران، ۱۳۸۹). بررسی اثرات هم‌افزایی حشره‌کش مالاتیون و قارچ *B. bassiana* بر روی حشرات کامل شپشه آرد نشان داد که با همدیگر سازگار بوده و اثرات هم‌افزایی دارند (گلشن و همکاران، ۱۳۹۰). بررسی تاثیر دو قارچ *B. bassiana* و *M. anisopliae* روی لارو و حشرات کامل سرخرطومی حنایی خرما با اعمال دو تکنیک غوطه‌وری و تزریق انجام شده است و نتایج نشان داده است که تکنیک تزریق نسبت به غوطه‌وری موثرتر است و علاوه بر این قارچ *B. bassiana* نسبت به *M. anisopliae* با غلظت‌های یکسان کارایی بیشتری در کنترل آفت نشان داده است (برخورداری و شیروانی، ۱۳۹۱).

(Feng *et al.*, 1994) اظهار داشتند چند گونه قارچ از سوسک کلرادو جدا شد که *B. bassiana* بیشترین بیماری‌زایی را روی این آفت نشان داد. از مزایای این گونه این است که به راحتی روی محیط کشت مصنوعی تکثیر شده و می‌تواند برای یک دوره طولانی (به خصوص زمانی که فرموله می‌شود) در جای خنک نگهداری شود. *B. bassiana* دامنه وسیعی از حشرات را آلوده می‌کند. در مقایسه با سایر پاتوژن‌ها، قارچ *B. bassiana* بیشترین میزان کنترل را اعمال می‌کند. نکات مهمی در ارتباط با چگونگی استفاده از این قارچ به دست آمده که به شرح ذیل می‌باشد: ۱- چندین مرتبه استفاده از اسپورهای قارچ لازم است تا بهترین اثردهی را داشته باشد. ۲- این قارچ بر روی حشرات

جوان‌تر تاثیر بهتری را نسبت به حشرات بالغ دارد. ۳- در رطوبت بالا تاثیر بهتری دارد. ثابت گردیده که رطوبت بالا فعالیت کنیدی‌ها را افزایش می‌دهد (Shelton *et al*., 1998). دو گونه متداول از قارچ *Beauveria* بر روی موش آزمایشگاهی و خرگوش آزمایش شده و نتایج نشان می‌دهد که آنها پاتوژن، عفونت‌زا و یا سمی نیستند و ثابت شده که برای پستانداران، پرندگان و گیاهان سمی نمی‌باشد (Wraight, 2002). در کاربردی بودن *B. bassiana* همین کافی است که این قارچ از گذشته تاکنون علیه دامنه وسیعی از آفات در نقاط مختلف جهان از جمله سرخرطومی سیب زمینی *Premnotrypes latithorax* در پرو، کرم ساقه خوار قهوه *Hypothenemus hampei* در کلمبیا، سوسک کلرادو *Leptinotarsa decemlineata* در اروپا، سرخرطومی غوزه پنبه *Anthonomous grandia* و مگس سفید *Bemisia tabaci* در ایالات متحده آمریکا، سن گندم *Eurygaster spp.* در خاورمیانه، پروانه پشت الماسی *Plutella xylostella* در مالزی، سوسک چوبخوار کاج *Monochamus alternates* در ژاپن و کرم کاج *Dendrolimus punctatus* و کرم ساقه خوار اروپایی ذرت *Ostrinia nubilalis* در چین استفاده شده است (White *et al*., 2003). یکی از ویژگی‌های مثبت قارچ‌های بیماریزای حشرات به ویژه *B. bassiana* سازگاری آن با آفت کش‌ها می باشد (DeOliveira and Neves, 2004). این قارچ به دلیل داشتن پراکنش وسیع، سهولت کشت و امکان ذخیره‌سازی کنیدی‌های آن مورد توجه زیادی قرار گرفته است (Rehner, 2005). *B. bassiana* (۳۴٪)، *M. anisopliae* (۳۴٪)، *Isaria fumosorosea* (۶٪)، *B. brongniartii* (۴٪) رایج‌ترین قارچ‌های موجود در ۱۷۰ محصول تجاری بررسی شده بودند (Defaris and Wraight, 2007). قارچ‌های بیماری‌زای حشرات را می‌توان به تنهایی و یا همراه با آفت کش‌ها و عصاره‌های گیاهی به کار برد (Alizadeh, 2007). یکی از راهبردهای کنترل سن گندم را استفاده از قارچ‌ها به ویژه *B. bassiana* به عنوان آفت‌کش قارچی برای کنترل حشرات کامل زمستان‌گذران و نسل تابستانه روی محصول می‌دانند (رستگار و همکاران، ۱۳۸۶). نتایج حاصل از آزمایش‌های صحرایی علیه ملخ‌ها نشان داده‌اند که *B. bassiana* تحت شرایط ابری و خنک موثر بوده و *M. anisopliae* در شرایط آفتابی و گرم‌تر موثر است. در حالی که مخلوطی

از هر دو، تحت هر دو شرایط موثر است (Gilbert and Gill, 2010). فراوانی و توزیع قارچ‌های بیماری‌زای حشرات در زیر و روی زمین در سیستم‌های کشت معمولی و آلی آزمایشی بررسی شد. بالای سطح زمین، قارچ *B. bassiana* شایع‌ترین قارچ بیماری‌زای حشره در اجساد بند پایان میزبان بود (Meyling *et al.*, 2011). اثر آفت‌کش‌های ایمیداکلوپراید، فلوفنکسرون، آمیتراز و عصاره‌های گیاهی چریش *A. indica*، آنغوزه *F. assa-foetida*، خرزهره *N. oleander* و فرم تجاری عصاره چریش روی رشد میسلیوم و جوانه‌زنی اسپور قارچ *B. bassiana* بررسی شد. عصاره نیم و آفت‌کش فلوفنکسرون دارای بیش از ۷۰٪ بازدارندگی در رشد میسلیوم و جوانه زنی اسپور قارچ بودند و عصاره آنغوزه و خرزهره و آفت‌کش ایمیداکلوپراید دارای کمتر از ۳۰٪ بازدارندگی در رشد میسلیوم و جوانه زنی اسپور قارچ بودند (سمیع و همکاران، ۱۳۸۹). بررسی قارچ‌های هیفومیست جدا شده از حشرات و اثر بیماری‌زایی آنها روی سوسک کلرادو در استان همدان نشان داد که در بین جدایه‌های مزبور قارچ *B. bassiana* بیشترین بیماری‌زایی را روی لارو سوسک کلرادو دارد (اسداله پور و همکاران، ۱۳۸۹). بررسی بیمارگری چهار جدایه از قارچ *B. bassiana* و یک جدایه از قارچ *Isaria farinosae* Holmsk. روی لاروهای سن چهارم پروانه سفید اشجار نشان داد که تمام جدایه‌های استفاده شده سبب مرگ و میر لارو سن چهارم این پروانه گردید اما میزان تلفات لاروها بر اساس غلظت قارچ‌ها متفاوت بود (عجم حسنی و همکاران، ۱۳۹۰). به کارگیری قارچ *B. bassiana* در صنوبرکاری‌های برزیل سبب تلفات لاروی و شفیرگی پروانه *Condylorrhiza vestigialis* Guenee به میزان بیش از ۶۰ درصد شده است (Pogetto *et al.*, 2012). کاهش وزن شفیرگی پروانه *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae)، درصد پایین خروج پروانه از پیله شفیرگی و دفرمه بودن همگی پروانه‌ها در نتیجه تیمار با *B. bassiana* گزارش شده است (Basker *et al.*, 2012). کاربرد توام قارچ *B. bassiana* و حشره‌کش‌های گیاهی هر دو سودمند می‌باشند و ثابت شده که برای کنترل پروانه سفید آمریکایی درختان *Hyphantria cunea* Drury (Lepidoptera: Arctiidae) روی سه میزبان گیاهی موثر می‌باشند (زیبایی و همکاران، ۱۳۹۱).

فصل سوم

مواد و روشها

۳-۱ پرورش شب پره هندی *Plodia interpunctella* Hubner

حشرات کامل و لاروهای شب‌پره هندی در گرگان از روی بادام آلوده جداسازی شد، حشرات در اتاقک رشد با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای $^{\circ}C$ ۱±۲۶ و رطوبت نسبی۳ ±۷۰٪ پرورش داده شدند، بدین ترتیب که مقداری از غذای مصنوعی (سبوس گندم ۸۰۰ گرم + عسل ۲۰۰ گرم + گلیسرول ۲۰۰ گرم + مخمر نان ۱۶۰ گرم (Masoumzadeh *et al*., 2014) در ظرف مورد نظر ریخته شد، جهت تبادل اکسیژن و جلوگیری از تجمع زیاد رطوبت در داخل ظروف، در ظرف‌ها با پارچه توری دو لایه پوشانده شد (شکل ۳-۱). در هر ظرف قطعات کوچک مقوای چین دار روی ماده غذایی بعنوان مکان‌هایی برای شفیره شدن لاروهای سرگردان قرار داده شد، شفیره‌ها پس از تشکیل، جمع‌آوری و در ظرف جداگانه‌ای نگهداری شدند و ظهور و جفتگیری حشرات کامل در همان ظرف صورت گرفت. پس از تخم‌ریزی حشرات کامل ماده، تخم‌ها جمع‌آوری و به جعبه محتوی ماده غذایی منتقل شدند. از لاروهای سن سوم جهت انجام آزمایش استفاده شد. برای مشخص کردن سن لارو از طول بدن و عرض کپسول سر استفاده شد.

شکل ۳-۱ کلونی لارو شب پره هندی (عکس اصلی)

۳-۲ تهیه عصاره‌های گیاهی

نمونه‌های گیاهی از منطقه گرگان جمع‌آوری و جهت تهیه عصاره از برگ‌های این گیاهان استفاده شد.

گیاهانی که در این پژوهش مورد ارزیابی قرار گرفتند شامل:

۱- رزماری *Rosmarinus officinalis* L. (Lamiaceae)

۲- اکالیپتوس *Eucalyptus citriodora* Hook. (Myrtaceae)

۳- خرزهره *Nerium oleander* L. (Apocynaceae)

۴- زیتون تلخ *Melia azedarach* L. (Meliceae)

برگ‌های جمع‌آوری شده ابتدا با آب مقطر شسته شده و سپس در اتاق جداگانه‌ای در محیط سایه و روی یک پارچه پهن شدند تا خشک شوند. پس از ۷-۱۰ روز مواد گیاهی کاملا خشک شده، برگ‌های خشک شده با آسیاب برقی پودر شده و در یخچال در دمای $^{\circ}C$ ۴ نگهداری شد. عصاره گیری با حلال حدواسط استون انجام گردیده و در هر مرحله عصاره‌گیری، ۵۰ گرم پودر گیاه مورد نظر به همراه ۱۵۰ میلی لیتر استون به مدت ۲۴ ساعت در ظروف شیشه‌ای در بسته (شکل ۳-۲) خیسانده و پس از ۲۴ ساعت عصاره‌ها از تفاله جداسازی شدند و سپس با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره ۴، دو بار صاف گردیدند. برای پایداری و جلوگیری از تغییرات کیفی، عصاره‌های تهیه شده در شیشه‌های درب‌دار تیره رنگ داخل یخچال در دمای $^{\circ}C$ ۴ نگهداری و روی آنها بر چسب زده شده و نام گیاه و تاریخ عصاره‌گیری ثبت گردید. این عصاره‌ها به عنوان عصاره خالص ۱۰۰٪ در نظر گرفته شدند و جهت تهیه محلول‌ها و غلظت‌های بعدی از این عصاره‌ها استفاده گردید (رفیعی کرهرودی و همکاران،۱۳۹۰).

شکل۳-۲ شیشه تهیه عصاره گیاهی (عکس اصلی)

۳-۳ تهیه و کشت جدایه‌های قارچ *B. bassiana*

در این تحقیق از سه جدایه قارچ *B. bassiana* موجود در آزمایشگاه گیاهپزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود استفاده شد. دو جدایه از خاک مزارع سیب زمینی منطقه مجن جداسازی شده و در این تحقیق Bb_1 و Bb_2 نامیده شده‌اند و یک جدایه از خاک منطقه کلامو شهرستان شاهرود جداسازی شده و در این تحقیق به نام Bb_3 شناخته می‌شود. برای آماده سازی محیط کشت، مقدار مورد نیاز PDA (۳۹ گرم پودر آماده در ۱۰۰۰ میلی لیتر آب مقطر) در داخل ارلن مایر ریخته شد و ارلن حاوی مواد مذکور بر روی هیتر- شیکر قرار داده تا محتوای ارلن توسط گوه مغناطیسی موجود در آن به طور یکنواخت حل شود و رنگ متمایل به زرد آن به شفاف تبدیل شود. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در حرارت ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شد. پس از ضدعفونی شدن و زمانی که حرارت محیط کشت به حدود ۶۰ درجه سانتی‌گراد رسید، یک میلی‌لیتر محلول باکتری‌کش استرپتومایسین و یک میلی‌لیتر هم محلول کلورام فنیکول به محیط کشت اضافه گردید و زمانی که دمای محیط کشت به حدود ۴۰-۴۵ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت در محیط استریل شده هود و در کنار شعله گاز، محیط کشت مایع آماده شده، درون ظروف پتری استریل ریخته شد. حدود ۱۵-۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت برای هر تشتک پتری کافی است. پس از سرد شدن محیط کشت و جامد شدن آن، تلقیح قارچ انجام گرفته و با نوارهای پارافیلم دور ظروف پتری را بسته و در انکوباتور و در حرارت $25\pm1^{\circ}C$ گذاشته شدند. تاریخ‌های کشت و نیز مشخصات مربوط به هر یک از جدایه‌های قارچ روی آن ثبت گردید (فرجی و همکاران، ۱۳۹۰) (شکل ۳-۳).

شکل ۳-۳ کلونی‌های *Beauveria bassiana* روی محیط کشت PDA (عکس اصلی)

۳-۴ خالص کردن قارچ

به دلیل سرعت تولید مثل و انبوهی اندام‌های تولید مثلی در قارچ‌ها امکان پیدایش نژادهای جدید فراوان است. به این دلیل بایستی اقدام به خالص کردن قارچ‌ها نمود که در مورد قارچ‌هایی که هاگ تولید می‌کنند از روش تک هاگ کردن استفاده می‌شود.

ابتدا مقداری از کلونی قارچ همراه با محیط کشت حدود یک سانتی‌متر مکعب با نه میلی‌لیتر آب مقطر استریل مخلوط شد تا سوسپانسیون تقریبا یکنواختی بدست آید. سپس یک میلی‌لیتر از محلول فوق در نه میلی‌لیتر آب مقطر دیگر مخلوط گردید تا نسبت ۱/۱۰ به دست آید. به همین ترتیب نسبت‌های ۱/۱۰۰ و ۱/۲۰۰ و ۱/۵۰۰ تهیه شده، از هر یک از نسبت‌های۱/۱۰، ۱/۱۰۰، ۱/۲۰۰ و ۱/۵۰۰ حدود ۰/۵ میلی‌لیتر روی محیط کشت آب آگار ۲٪ ریخته سپس پتری را حرکت داده تا قطره حاوی هاگ در محیط گسترده شود. مسیر حرکت قطره با ماژیک علامت گذاری گردید. پتری‌ها را در انکوباتور قرار داده پس از گذشت ۲۴ ساعت مسیر حرکت قطره حاوی هاگ در پتری‌ها را زیر عدسی 4x میکروسکوپ بررسی و در صورتی که به هاگ جوانه زده‌ای بر خورد شد علامت گذاری شده و در زیر هود کنار شعله به محیط کشت غذایی منتقل شد. سپس پتری‌ها به انکوباتور در دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد انتقال داده شد تا کلنی‌های تک هاگ قارچ تشکیل شود (Armentrout, 1988).

۳-۵ تهیه سوسپانسیون اسپور قارچ

برای تهیه سوسپانسیون‌های اسپوری پس از ۱۲ روز، کنیدی‌ها با یک اسکالپل سترون سازی شده از روی محیط کشت تراشیده شده و درون یک لوله آزمایش محتوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل حاوی ۰/۰۲ درصد Tween 80 قرار داده شد. سوسپانسیون کنیدی‌ها و ۰/۰۲ درصد Tween 80 به مدت پنج دقیقه با مگنت همگن شده و سپس از فیلتر (پارچه توری سترون سازی شده با قطر منافذ یک میلی‌متر) عبور داده شد تا هیف‌ها از کنیدی‌ها جدا شوند. این لوله‌ها تا قبل از زمان استفاده در محیط یخچال (دمای چهار درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند.

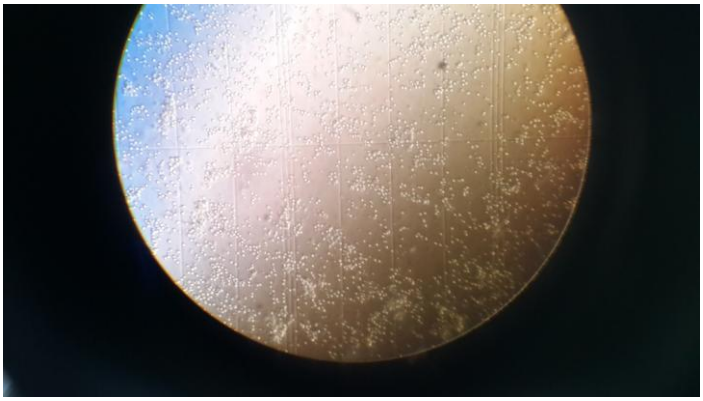
۳-۶ تعیین غلظت سوسپانسیون کنیدی

تعیین غلظت سوسپانسیون توسط لام هموسیتومتر اصلاح شده Neubauer و میکروسکوپ انجام گرفت. جهت انجام این کار، در یک محیط استریل، ۱۰ میکرولیتر از سوسپانسیون کنیدی بر روی سطح مورد شمارش روی لام هموسیتومتر ریخته و روی آن یک لامل تمیز قرار گرفت. پس از گذشت پنج دقیقه که حرکت کنیدی‌ها کم شد توسط میکروسکوپ با بزرگنمایی ۴۰ تعداد کنیدی‌ها شمارش شد (شکل ۳-۴).

مربع مرکزی لام هموسیتومتر ابتدا به ۲۵ مربع تقسیم و سپس هر یک از این مربع‌ها مجددا به ۱۶ مربع کوچک‌تر تقسیم شده است. به منظور شمارش اسپورها از پنج نقطه از مربع مرکزی متشکل از ۱۶ مربع کوچک در هر منطقه استفاده شد و تعداد اسپورها از فرمول زیر محاسبه شد (اسپورهای مماس با مرز پایین و سمت راست هر مربع جزء آمار به حساب نمی‌آیند) (جعفرپور و همکاران، ۱۳۹۱):

(فرمول ۳-۱):

۴۰۰۰۰۰۰ × تعداد اسپور به طور متوسط در یک مربع کوچک = غلظت اسپور در هر میلی‌لیتر از سوسپانسیون



شکل ۳-۴ اسپورهای *B. bassiana* روی لام هموسیتومتر (عکس اصلی)

در صورتی که سوسپانسیون پایه‌ای که تعیین غلظت می‌شد دارای غلظت کافی بود می‌توان از طریق رقیق کردن متوالی و با استفاده از فرمول زیر غلظت‌های پایین‌تر را به دست آورد :

$N_1V_1 = N_2V_2$ **(فرمول ۳-۲)**

۳-۷ تعیین درصد جوانه زنی کنیدیوم‌ها

برای تعیین درصد جوانه زنی کنیدیوم‌های جدایه‌های مختلف قارچ مورد استفاده، ابتدا سوسپانسیون کنیدیومی به غلظت ۱×۱۰^{۶} کنیدیوم در میلی‌لیتر تهیه شد. یک قطره از سوسپانسیون بر روی محیط کشت PDA اضافه شد و تشتک‌های پتری در انکوباتور با دمای $۲۵\pm۲^{\circ}C$ نگهداری شدند. بعد از ۲۴ ساعت درصد جوانه زنی کنیدی‌ها با شمارش تعداد کنیدی‌های جوانه زده و جوانه نزده در سه مربع ۱۰ میلی‌متری که بر روی سطح پتری‌ها در نظر گرفته می‌شد، تعیین گردید. کنیدیوم‌هایی که طول لوله تندشی از قطر کنیدیوم بیشتر بود، به عنوان جوانه زده محاسبه شدند. شمارش‌ها برای هر جدایه سه بار تکرار شده و میانگین آنها به عنوان درصد جوانه زنی کنیدیوم محسوب گردید (فرجی و همکاران، ۱۳۹۰). در این تحقیق از نمونه‌های قارچی با جوانه زنی بیشتر از ۹۰٪ استفاده شد.

۳-۸ آزمایش زیست سنجی

۳-۸-۱ روش زیست سنجی با عصاره‌های گیاهی

پس از انجام آزمایشات مقدماتی و تعیین محدوده غلظت‌ها، زیست سنجی با چهار تکرار در هر تیمار انجام شد. تیمارها شامل عصاره رزماری (غلظت‌های ۱۵٪، ۴۰٪، ۶۰٪، ۸۰٪)، عصاره اکالیپتوس (غلظت‌های ۱۵٪، ۴۰٪، ۶۰٪، ۸۵٪)، عصاره خرزهره (غلظت‌های ۳۰٪، ۵۰٪، ۷۰٪، ۹۰٪) و عصاره زیتون تلخ (غلظت‌های ۱۵٪، ۴۰٪، ۷۰٪، ۱۰۰٪) می‌باشد. برای هر تکرار تعداد ۱۰ عدد لارو سن سوم به وسیله غوطه‌ور کردن همزمان آنها به مدت ۱۰ ثانیه در محلول عصاره‌های گیاهی، تیمار شده، سپس همزمان با هم به کمک صافی استریل از محلول خارج کرده، به داخل پتری دیش‌های محتوی کاغذ صافی منتقل و جهت جلوگیری از فرار آنها اطراف پتری دیش‌ها به وسیله پارافیلم مسدود شد. در تیمار شاهد از حلال استون استفاده شد. لاروهای تیمار شده پس از خشک شدن به روی محیط غذایی استریل شده منتقل و در دمای $^{\circ}$C ۱±۲۶ و رطوبت نسبی ۳±۷۰ ٪ و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در ژرمیناتور نگهداری شدند. آمار برداری شامل تعیین تعداد لاروهای مرده ۳۶ و ۴۸ ساعت پس از تیمار، تعداد لاروهای تبدیل شده به شفیره، تعداد حشرات کامل سالم و طول عمر بالغین بود.

۳-۸-۲ روش زیست سنجی با قارچ *B. bassiana*

برای برآورد میزان بیماری‌زایی جدایه‌های مختلف (سه جدایه) قارچ *B. bassiana* از روش زیست سنجی غوطه‌ورسازی استفاده شد. به این صورت که پس از تهیه غلظت ^{۷}۱۰ کنیدی در میلی‌لیتر از هر جدایه، زیست سنجی با چهار تکرار انجام شد. برای هر تکرار ۱۰ عدد لارو سن سوم به مدت ۱۰ ثانیه در سوسپانسیون قارچی تیمار شدند. از آب مقطر حاوی ۰/۰۲ درصد Tween 80 به عنوان شاهد استفاده شد. لاروهای تیمار شده به داخل تشتک‌های پتری محتوی کاغذ صافی منتقل گردیدند. کاغذ صافی باعث جذب آب اضافی شده و نیز احتمال جذب کنیدی‌ها به وسیله حشره را افزایش می‌دهد

(Adane *et al*., 1996). جهت جلوگیری از فرار لاروها اطراف تشتک‌های پتری به وسیله پارافیلم مسدود شد. لاروهای تیمار شده پس از خشک شدن به روی غذای استریل شده منتقل و در دمای $^{\circ}C$ ۱±۲۶ و رطوبت نسبی ۳±۷۰ ٪ و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در داخل ژرمیناتور نگهداری شدند. آماربرداری روزانه به مدت ۱۰ روز انجام گردید. آمار برداری شامل تعیین تعداد لاروهای مرده، تعداد لاروهای تبدیل شده به شفیره و تعداد حشرات کامل سالم و طول عمر بالغین بود.

۳-۹ تجزیه و تحلیل داده‌ها

آنالیز داده‌ها توسط آزمون فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی (CRD) با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد و برای مقایسه میانگین از روش LSD در سطح ۵٪ استفاده شد. محاسبه مقادیر LC_{50} و LC_{90} در نرم افزار POLO-PC انجام شد و برای محاسبه LT_{50} و رسم نمودارها از برنامه Excel استفاده شد.

فصل چهارم

نتایج و بحث

برای بررسی اثرات حشره‌کشی عصاره‌های چهار گونه گیاهی و سه جدایه از قارچ *B. bassiana* روی شب‌پره هندی، زیست سنجی روی لارو سن سوم این حشره به روش غوطه‌ورسازی انجام شد و نتایج حاصل به شرح ذیل می‌باشد.

۴-۱ بررسی اثر عصاره‌های گیاهی روی شب‌پره هندی *P. interpunctella*

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴-۱) با اطمینان ۹۹٪، اثر عصاره‌های چهار گیاه زیتون تلخ، اکالیپتوس، رزماری و خرزهره با غلظت‌های استفاده شده بر میزان مرگ و میر لارو در ۳۶ و ۴۸ ساعت اول، تعداد لارو شفیره شده، تعداد حشره کامل سالم و طول عمر حشره کامل شب‌پره هندی اختلاف معنی‌داری داشته‌اند.

جدول ۴-۱ تجزیه واریانس تاثیر عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های مختلف بر مرگ و میر لارو بعد از ۳۶ و ۴۸ ساعت، تعداد لارو شفیره شده، تعداد حشره کامل سالم و طول عمر حشره کامل

منبع تغییرات	df	میانگین مربعات				
		مرگ و میر بعد از ۳۶ ساعت	مرگ و میربعد از ۴۸ ساعت	تعداد شفیره	تعداد بالغ	طول عمر بالغ
عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های مختلف	۱۶	۴۷/۹۶ **	۴۷/۵ **	۴۶/۳۷ **	۳۸/۲ **	۱۸/۷۷ **
خطای آزمایشی	۵۱	۰/۲۷۹	۰/۲۹۴	۰/۳۰۸	۰/۶۶۱	۰/۸۷۷
CV		۱۲/۳۵	۱۱/۳۱	۱۱/۹۹	۲۳/۳۴	۲۲/۵

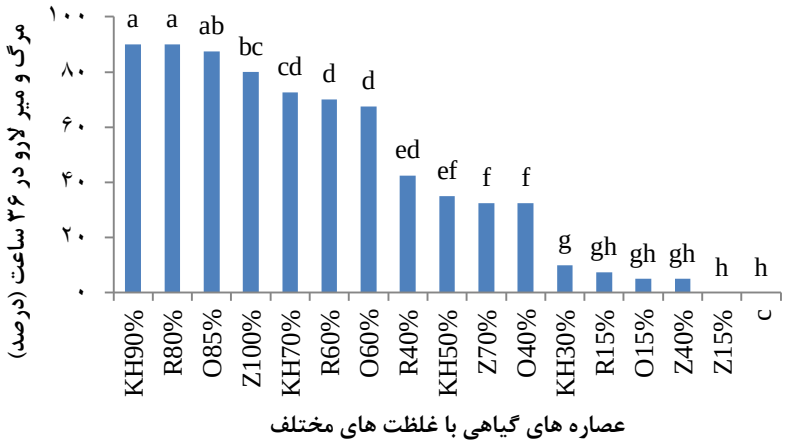
**، * و n.s به ترتیب معنی‌داری در سطح ۱ درصد، ۵ درصد و عدم معنی‌داری می‌باشد.

۳۶ ساعت پس از تیمار خرزهره با غلظت ۹۰٪ و رزماری با غلظت ۸۰ ٪ با میانگین مرگ و میر ۹۰٪ بیشترین و زیتون تلخ با غلظت ۱۵٪ با میانگین صفرکمترین تأثیر را بر میزان مرگ و میر لارو شب‌پره هندی داشته‌اند (جدول ۴-۲) (نمودار ۴-۱).

جدول۴-۲ مقایسه میانگین تاثیر عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های مختلف بر میزان مرگ و میر لارو در ۳۶ ساعت اول

عصاره گیاهی	میانگین مرگ و میر لارو	عصاره گیاهی	میانگین مرگ و میر لارو	عصاره گیاهی	میانگین مرگ و میر لارو
$KH_{90\%}$	٪۹۰^{a}	$O_{60\%}$	٪۶۷/۵^{d}	$R_{15\%}$	٪۷/۵^{gh}
$R_{80\%}$	٪۹۰^{a}	$R_{40\%}$	٪۴۲/۵^{ed}	$O_{15\%}$	٪۵^{gh}
$O_{85\%}$	٪۸۷/۵^{ab}	$KH_{50\%}$	٪۳۵^{ef}	$Z_{40\%}$	٪۵^{gh}
$Z_{100\%}$	٪۸۰^{bc}	$Z_{70\%}$	٪۳۲/۵^{f}	$Z_{15\%}$	۰^{h}
$KH_{70\%}$	٪۷۲/۵^{cd}	$O_{40\%}$	٪۳۲/۵^{f}	شاهد	۰^{h}
$R_{60\%}$	٪۷۰^{d}	$KH_{30\%}$	٪۱۰^{g}		

KH: خرزهره، O: اکالیپتوس، R: رزماری، Z: زیتون تلخ



نمودار۴-۱ تاثیر عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های مختلف بر میزان مرگ و میر لارو در ۳۶ ساعت

۴۸ ساعت پس از تیمار اکالیپتوس با غلظت ۸۵٪ با میانگین ۹۲/۵٪، خرزهره با غلظت ۹۰٪ و رزماری با غلظت ۸۰٪ ، با میانگین ۹۰٪ بیشترین و زیتون تلخ با غلظت ۱۵٪ با میانگین صفر کمترین تأثیر را بر میزان مرگ و میر لارو شب‌پره هندی داشته‌اند (جدول ۴-۳) (نمودار ۴-۲).

جدول ۴-۳ مقایسه میانگین تاثیر عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های مختلف بر میزان مرگ و میر لارو در ۴۸ ساعت اول

عصاره گیاهی	میانگین مرگ و میر لارو	عصاره گیاهی	میانگین مرگ و میر لارو	عصاره گیاهی	میانگین مرگ و میر لارو
$O_{85\%}$	٪۹۲/۵ ^{a}	$R_{60\%}$	٪۷۷/۵ ^{b}	$Z_{40\%}$	٪۱۵ ^{e}
$KH_{90\%}$	٪۹۰ ^{a}	$R_{40\%}$	٪۵۲/۵ ^{c}	$KH_{30\%}$	٪۱۲/۵ ^{ef}
$R_{80\%}$	٪۹۰ ^{a}	$Z_{70\%}$	٪۴۵ ^{cd}	$O_{15\%}$	٪۵ ^{fg}
$Z_{100\%}$	٪۸۰ ^{b}	$KH_{50\%}$	٪۴۲/۵ ^{d}	$Z_{15\%}$	۰ ^{g}
$KH_{70\%}$	٪۷۷/۵ ^{b}	$O_{40\%}$	٪۴۰ ^{d}	شاهد	۰ ^{g}
$O_{60\%}$	٪۷۷/۵ ^{b}	$R_{15\%}$	٪۱۷/۵ ^{e}		

KH: خرزهره، O: اکالیپتوس، R: رزماری، Z: زیتون تلخ

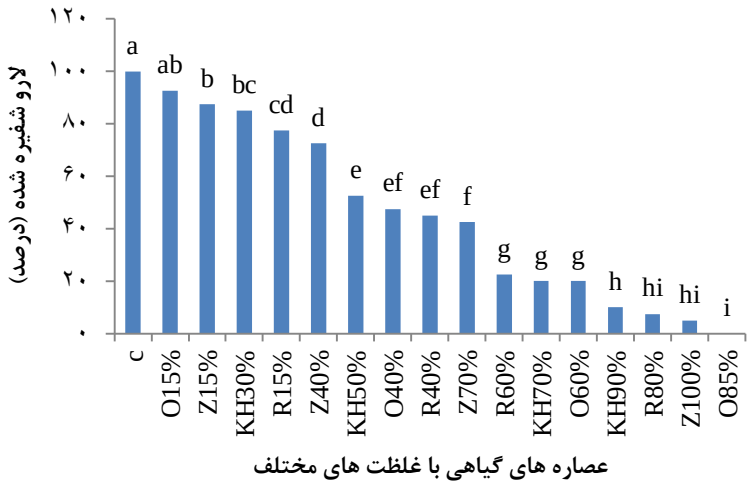
نمودار ۴-۲ تاثیر عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های مختلف بر میزان مرگ و میر در ۴۸ ساعت

بیشترین تعداد لارو شفیره شده در تیمار اکالیپتوس با غلظت ۱۵٪ با میانگین ۹۲/۵٪ و کمترین تعداد آن نیز در تیمار اکالیپتوس با غلظت ۸۵٪ با میانگین صفر مشاهده شده است (جدول ۴-۴) (نمودار ۴-۳)

جدول ۴-۴ مقایسه میانگین تاثیر عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های مختلف بر تعداد لارو شفیره شده

عصاره گیاهی	میانگین تعداد شفیره	عصاره گیاهی	میانگین تعداد شفیره	عصاره گیاهی	میانگین تعداد شفیره
شاهد	٪۱۰۰ a	$KH_{50\%}$	٪۵۲/۵ e	$O_{60\%}$	٪۲۰ g
$O_{15\%}$	٪۹۲/۵ ab	$O_{40\%}$	٪۴۷/۵ ef	KH 90%	٪۱۰ h
$Z_{15\%}$	٪۸۷/۵ b	$R_{40\%}$	٪۴۵ ef	R 80%	٪۷/۵ hi
$KH_{30\%}$	٪۸۵ bc	$Z_{70\%}$	٪۴۲/۵ f	$Z_{100\%}$	٪۵ hi
$R_{15\%}$	٪۷۷/۵ cd	$R_{60\%}$	٪۲۲/۵ g	$O_{85\%}$	۰ i
$Z_{40\%}$	٪۷۲/۵ d	$KH_{70\%}$	٪۲۰ g		

KH: خرزهره، O: اکالیپتوس، R: رزماری، Z: زیتون تلخ



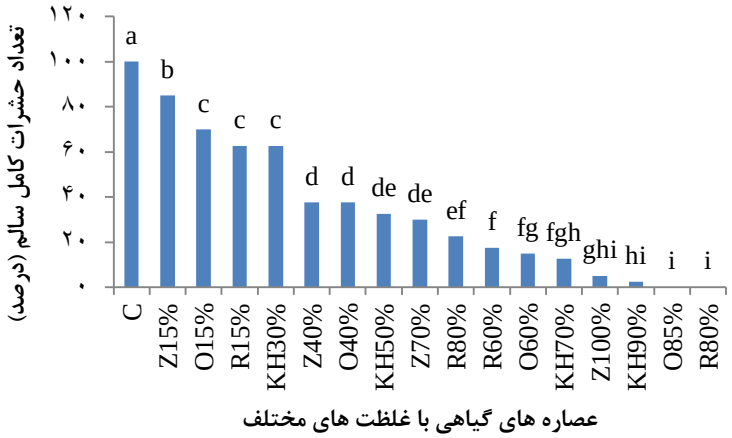
نمودار ۴-۳ تاثیر عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های مختلف بر تعداد لارو شفیره شده

بیشترین تعداد حشره کامل از تیمار زیتون تلخ با غلظت ۱۵٪ با میانگین ۸۵٪ و کمترین تعداد آن از تیمارهای اکالیپتوس با غلظت ۸۵٪ و رزماری با غلظت ۸۰٪ با میانگین صفر حاصل گردیده است (جدول ۴-۵) (نمودار ۴-۴).

جدول ۴-۵ مقایسه میانگین تاثیر عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های مختلف بر تعداد حشره کامل

عصاره گیاهی	میانگین تعداد حشره کامل	عصاره گیاهی	میانگین تعداد حشره کامل	عصاره گیاهی	میانگین تعداد حشره کامل
شاهد	٪۱۰۰ a	$O_{40\%}$	٪۳۷/۵ d	$KH_{70\%}$	٪۱۲/۵ fgh
$Z_{15\%}$	٪۸۵ b	$KH_{50\%}$	٪۳۲/۵ de	$Z_{100\%}$	٪۵ ghi
$O_{15\%}$	٪۷۰ c	$Z_{70\%}$	٪۳۰ de	$KH_{90\%}$	٪۲/۵ hi
$R_{15\%}$	٪۶۲/۵ c	$R_{40\%}$	٪۲۲/۵ ef	$O_{85\%}$	۰ i
$KH_{30\%}$	٪۶۲/۵ c	$R_{60\%}$	٪۱۷/۵ f	$R_{80\%}$	۰ i
$Z_{40\%}$	٪۳۷/۵ d	$O_{60\%}$	٪۱۵ fg		

KH: خرزهره، O: اکالیپتوس، R: رزماری، Z: زیتون تلخ



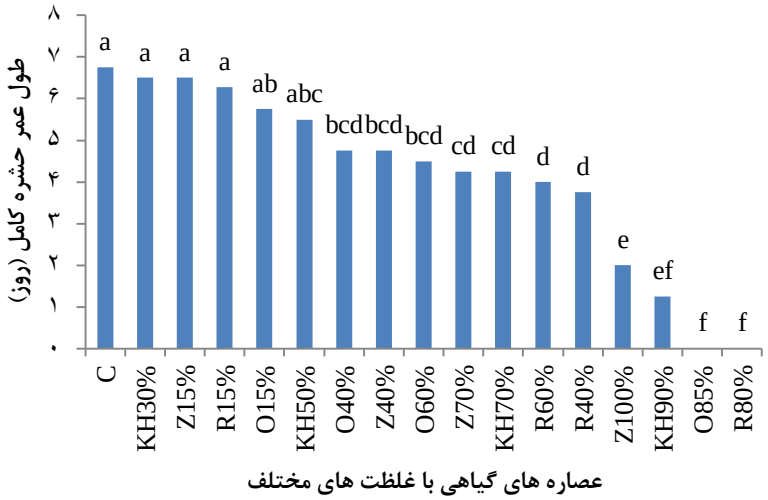
نمودار ۴-۴ تاثیر عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های مختلف بر تعداد حشره کامل سالم

بیشترین طول عمر حشره کامل در تیمارهای خرزهره با غلظت ۳۰٪ و زیتون تلخ با غلظت ۱۵٪ با میانگین ۶/۵ روز و رزماری با غلظت ۱۵٪ با میانگین ۶/۲۵ روز و کمترین آن در تیمارهای اکالیپتوس با غلظت ۸۵٪ و رزماری با غلظت ۸۰٪ با میانگین صفر مشاهده گردیده است (جدول ۴-۶) (نمودار ۴-۵).

جدول ۴-۶ مقایسه میانگین تاثیر عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های مختلف بر طول عمر حشره کامل

عصاره گیاهی	میانگین طول عمر حشره کامل (روز)	عصاره گیاهی	میانگین طول عمر حشره کامل (روز)	عصاره گیاهی	میانگین طول عمر حشره کامل (روز)
شاهد	۶/۷۵ a	$O_{40\%}$	۴/۷۵ bcd	$R_{40\%}$	۳/۷۵ d
$KH_{30\%}$	۶/۵ a	$Z_{40\%}$	۴/۷۵ bcd	$Z_{100\%}$	۲ e
$Z_{15\%}$	۶/۵ a	$O_{60\%}$	۴/۵ bcd	$KH_{90\%}$	۱/۲۵ ef
$R_{15\%}$	۶/۲۵ a	$Z_{70\%}$	۴/۲۵ cd	$O_{85\%}$	۰ f
$O_{15\%}$	۵ /۷۵ ab	$KH_{70\%}$	۴/۲۵ cd	$R_{80\%}$	۰ f
$KH_{50\%}$	۵/۵ abc	$R_{60\%}$	۴ d		

KH: خرزهره، O: اکالیپتوس، R: رزماری، Z: زیتون تلخ



نمودار ۴-۵ تاثیر عصاره‌های گیاهی با غلظت‌های مختلف بر طول عمر حشر کامل

پروبیت روی داده‌های مرگ و میر لاروها پس از ۳۶ و ۴۸ ساعت به کمک نرم افزار POLO-PC محاسبه شد. همان‌طور که در جدول ۴-۷ نتایج مشاهده می شود عصاره زیتون تلخ با LC_{50}= ٪۷۷/۴، ۳۶ ساعت پس از تیمار و LC_{50} =٪۶۹/۵۹ ، ۴۸ ساعت پس از تیمار کمترین سمیت و عصاره رزماری با LC_{50} =٪۴۱/۲۲ ، ۳۶ ساعت پس از تیمار و LC_{50} =٪۳۳/۴۷ ، ۴۸ ساعت پس از تیمار بیشترین سمیت را در بین عصاره‌های گیاهی با حدود اطمینان ۹۵٪ دارند.

جدول ۴-۷ آنالیز پروبیت روابط مرگ و میر غلظت پس از ۳۶ و ۴۸ ساعت ناشی از سمیت عصاره‌های گیاهی روی لارو سن سوم شب پره هندی *P. interpunctella*

عصاره گیاهی		N	رگرسیون مرگ و میر- غلظت		هتروژنسیتی	غلظت کشنده (درصد) حدود اطمینان ۹۵٪	
			(±SE) ثابت €	(±SE) شیب ¥		LC_{50}	LC_{90}
زیتون تلخ	۳۶ ساعت	۲۰۰	۶/۴۳(±۱/۰۶)	- ۲/۱۱	۰/۶۹	۷۷/۴۰ (۷۰/۱۱-۸۶/۲۱)	۱۲۲/۴۴ (۱۰۵/۵۴-۱۵۹/۵۸)
	۴۸ ساعت	۲۰۰	۴/۷۰(±۰/۷۹)	- ۱/۱۴	۰/۴۳	۶۹/۵۹ (۶۱/۴۰-۷۹/۴۸)	۱۳۰/۲۳ (۱۰۷/۱۵-۱۸۵/۸۹)
خرزهره	۳۶ ساعت	۲۰۰	۵/۴۷(±۰/۷۴)	- ۰/۹۸	۰/۵۷	۵۴/۹۰ (۴۹/۵۲-۶۰/۴۸)	۹۴/۰۹ (۸۲/۱۲-۱۱۶/۴۱)
	۴۸ ساعت	۲۰۰	۵/۲۲(±۰/۷۲)	- ۰/۹	۰/۲۷	۵۱/۶۵ (۴۶/۲۱-۵۷/۰۸)	۹۰/۸۵ (۷۹/۱۱-۱۱۲/۷۷)
اکالیپتوس	۳۶ ساعت	۲۰۰	۳/۸۶(±۰/۵۶)	- ۰/۵۳	۰/۹۴	۴۶/۴۹ (۳۹/۹۷-۵۳/۴۵)	۹۹/۸۵ (۸۱/۸۷-۱۳۷/۹۴)
	۴۸ ساعت	۲۰۰	۴/۲۲(±۰/۵۸)	- ۰/۵۶	۰/۸۲	۴۱/۴۱ (۳۵/۵۶-۴۷/۲۰)	۸۳/۲۲ (۷۰/۲۹-۱۰۷/۶۴)
رزماری	۳۶ ساعت	۲۰۰	۳/۶۵(±۰/۵۲)	- ۰/۴۵	۰/۸۲	۴۱/۲۲ (۳۵/۰۳-۴۷/۶۱)	۹۲/۵۳ (۷۵/۷۶-۱۲۷/۲۰)
	۴۸ ساعت	۲۰۰	۲/۹۵(±۰/۴۳)	- ۰/۳	۰/۶۲	۳۳/۴۷ (۲۷/۱۵-۳۹/۷۵)	۹۰/۸۲ (۷۱/۶۷-۱۳۳/۳۲)

N تعداد حشرات مورد آزمایش

SE خطای معیار

€ مقادیر ثابت معادله های پروبیت

¥ شیب معادله های پروبیت

۴-۲ اثر جدایه‌های قارچ *B. bassiana* روی شب‌پره هندی *P. interpunctella*

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴-۸) با اطمینان ۹۹٪، اثر قارچ‌های بیماری‌زا بر میزان مرگ و میر لارو، تعداد لارو شفیره شده، تعداد حشره کامل سالم و طول عمر حشره کامل شب‌پره هندی اختلاف معنی‌داری داشته‌اند.

جدول ۴-۸ تجزیه واریانس اثر سه ایزوله قارچ *B. bassiana* بر مرگ و میر، تعداد لارو شفیره شده، تعداد حشره کامل و طول عمر حشره کامل

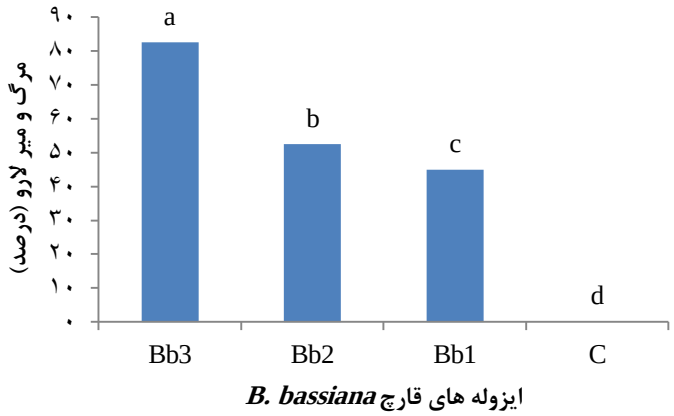
منبع تغییرات	df	میانگین مربعات			
		مرگ و میر لارو	تعداد لارو شفیره شده	تعداد حشره کامل	طول عمر بالغ
اثر قارچ‌های بیمارگر بر کنترل حشره		۴۶/۵ **	۵۳/۱۶ **	۶۲/۷۲ **	۱۰/۷۵ **
خطای آزمایشی	۱۲	۰/۲۰۸	۰/۴۵۸	۰/۳۵۴	۰/۱۲۵
Cv		۱۰/۱۴	۱۴/۲۵	۱۴/۲۱	۷/۶۴

**، * و n.s به ترتیب معنی‌داری در سطح ۱ درصد، ۵ درصد و عدم معنی‌داری می‌باشد.

بالاترین تأثیر بر میزان مرگ و میر لارو شب‌پره هندی را جدایه Bb_3 با میانگین ۸۲/۵٪ و کمترین تأثیر را نیز Bb_1 با میانگین ۴۵٪ داشته است (جدول ۴-۹) (نمودار ۴-۶).

جدول ۴-۹ مقایسه میانگین اثر سه ایزوله قارچ *B. bassiana* بر مرگ و میر لارو

تیمار	میانگین مرگ و میر لارو
Bb_3	٪۸۲/۵ a
Bb_2	٪۵۲/۵ b
Bb_1	٪۴۵ c
شاهد	۰ d

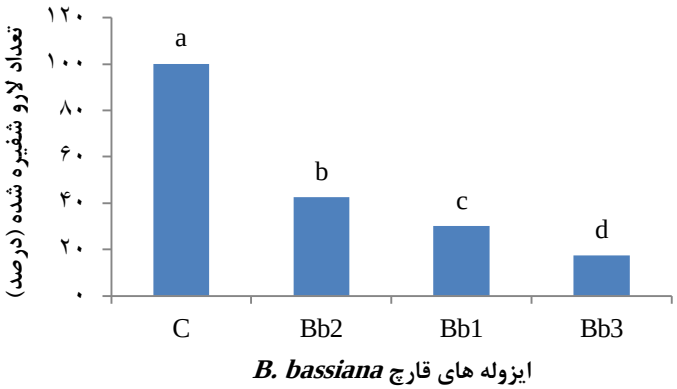


نمودار ۴-۶ اثر سه ایزوله قارچ *B. bassiana* بر میزان مرگ و میر لارو

بیشترین تعداد لارو شفیره شده در تیمار Bb_2 با میانگین ۴۲/۵٪ و کمترین تعداد آن در تیمار Bb_3 با میانگین ۱۷/۵٪ مشاهده گردید (جدول ۴-۱۰) (نمودار ۴-۷).

جدول ۴-۱۰ مقایسه میانگین اثر سه ایزوله قارچ *B. bassiana* بر تعداد لارو شفیره شده

تیمار	میانگین تعداد شفیره
شاهد	٪۱۰۰ a
Bb_2	٪۴۲/۵ b
Bb_1	٪۳۰ C
Bb_3	٪۱۷/۵ d

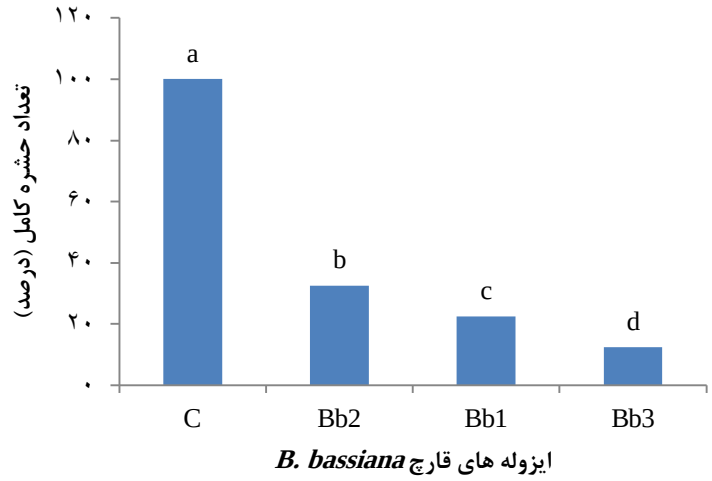


نمودار ۴-۷ اثر سه ایزوله قارچ *B. bassiana* بر تعداد لارو شفیره شده

بیشترین تعداد حشره کامل سالم در تیمار Bb_2 با میانگین ۳۲/۵٪ و کمترین تعداد آن نیز در تیمار Bb_3 با میانگین ۱۲/۵٪ مشاهده گردید (جدول ۴-۱۱) (نمودار ۴-۸).

جدول ۴-۱۱ مقایسه میانگین اثر سه ایزوله قارچ *B. bassiana* بر تعداد حشره کامل

تیمار	میانگین تعداد حشره کامل
شاهد	٪۱۰۰ a
Bb_2	٪۳۲/۵ b
Bb_1	٪۲۲/۵ C
Bb_3	٪۱۲/۵ d

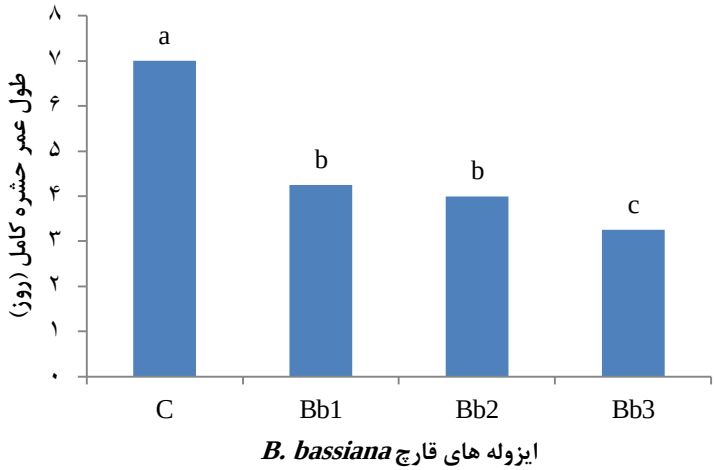


نمودار ۴-۸ اثر سه ایزوله قارچ *B. bassiana* بر تعداد حشره کامل سالم

بیشترین طول عمر حشره کامل در تیمار Bb_1، با میانگین ۴/۲۵ روز و کمترین آن در تیمار Bb_3 با میانگین ۳/۲۵ روز مشاهده شده است (جدول ۴-۱۲) (نمودار ۴-۹).

جدول ۴-۱۲ مقایسه میانگین اثر سه ایزوله قارچ *B. bassiana* بر طول عمر حشره کامل

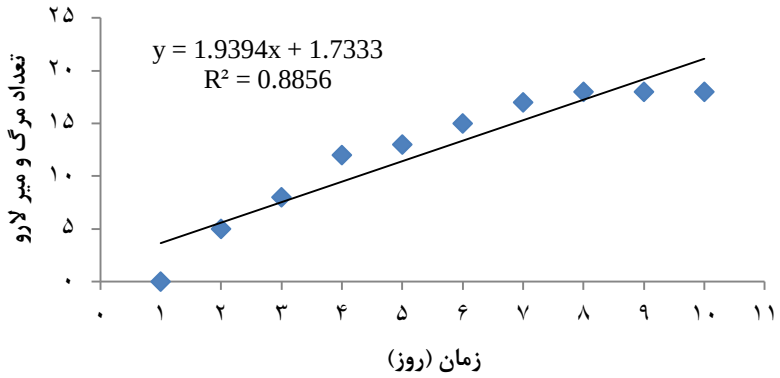
تیمار	میانگین طول عمر حشره کامل (روز)
شاهد	۷[a]
Bb_1	۴/۲۵ [b]
Bb_2	۴[b]
Bb_3	۳/۲۵ [c]



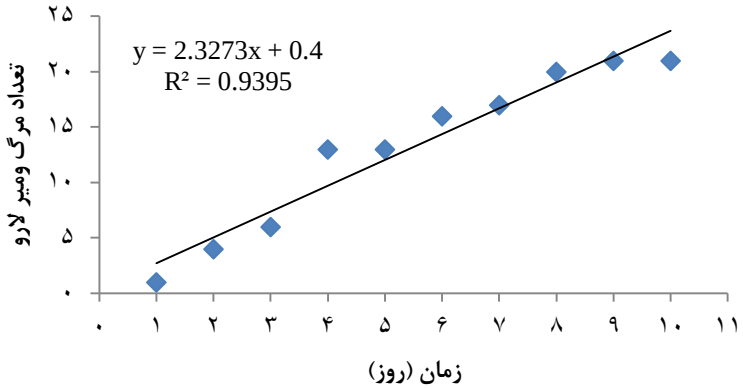
نمودار ۴-۹ اثر سه ایزوله قارچ *B. bassiana* بر طول عمر حشره کامل

برای محاسبه LT_{50}، در اکسل داده‌های مرگ و میر تحت تأثیر قارچ‌های مختلف را در برابر زمان (۱۰ روز) برازش می‌دهیم. سپس از معادله خط برازش شده می‌توان LT_{50} را محاسبه کرد.

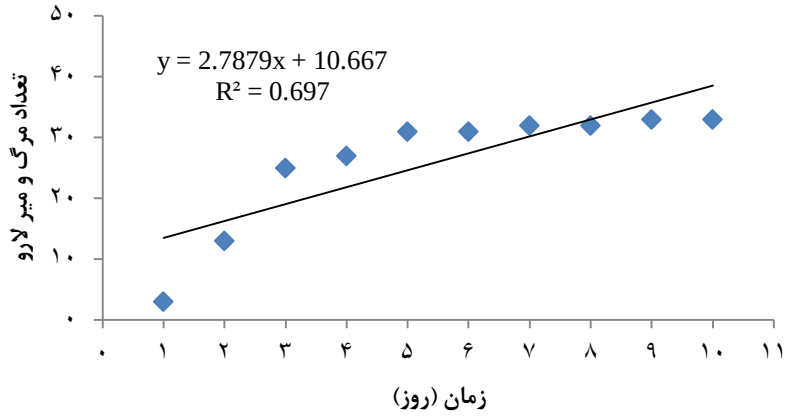
LT_{50} برای جدایه Bb_1، ۹/۴ روز (بر اساس نمودار ۴-۱۰)، برای جدایه Bb_2، ۸/۴ روز (بر اساس نمودار ۴-۱۱) و برای جدایه Bb_3، ۳/۳ روز (بر اساس نمودار ۴-۱۲) محاسبه گردید. طبق نتایج حاصل از این آزمایش جدایه Bb_3 برای مبارزه بیولوژیک توصیه می‌شود. چون در زمان کمتری نصف جعیت حشره را از بین می‌برد.



نمودار ۴-۱۰ مرگ و میر لارو شب پره هندی در برابر زمان تحت اثر قارچ Bb_1



نمودار ۴-۱۱ مرگ و میر لارو شب پره هندی در برابر زمان تحت اثر قارچ Bb_2



نمودار ۴-۱۲ مرگ و میر لارو شب پره هندی در برابر زمان تحت اثر قارچ *Bb*$_3$

۴-۳ بحث

الف- عصاره‌های گیاهی

این تحقیق نشان داد که تمام عصاره‌های گیاهی مورد آزمایش دارای اثر معنی‌داری روی مرگ و میر و مراحل مختلف رشدی شب‌پره هندی هستند و عصاره رزماری با۴۱/۲۲ ٪ =LC_{50} در ۳۶ ساعت و۳۳/۴۷٪ =LC_{50} در ۴۸ ساعت بیشترین و عصاره زیتون تلخ با ۷۷/۴٪=LC_{50} در ۳۶ ساعت و ۶۹/۵۹٪=LC_{50} در ۴۸ ساعت کمترین اثر را داشته‌اند که با نتایج کورکی و شهیدی نوقابی (۱۳۹۲) مشابه است. کورکی و شهیدی نوقابی (۱۳۹۲) با بررسی اثر حشره‌کشی عصاره‌های اتانولی گیاهان خرزهره *Nerium oleander* و رزماری *Rosmarinus officinalis* و اکالیپتوس *Eucalyptus* spp. روی پوره‌های سن ۲-۳ روزه شته جالیز *Aphis gossypii* نشان دادند که عصاره‌های برگ هر سه گیاه در غلظت‌های به کار رفته روی پوره‌های شته جالیز اثر کشندگی داشتند و مقادیر LC_{50} محاسبه شده برای هر کدام از عصاره‌ها نشان داد که رزماری با غلظت ۲۵۹۸۵ پی پی ام ۵۰٪ کشندگی را ایجاد می‌کند و بیشترین تاثیر را دارد. نتایج آزمایشات محمودوند و همکاران (۲۰۱۱) نشان داد اسانس رزماری بر علیه حشرات بالغ شب‌پره هندی، *P. interpunctella* بسیار سمی‌تر از اسانس آویشن شیرازی، *Z. multiflora* بر علیه این آفت بود.

همچنین نتایج به دست آمده نشان داد که با بالا رفتن غلظت عصاره گیاهی میزان مرگ و میر نیز بالا می رود که با نتایج آزمایشات مهدوی عرب (۱۳۸۶)، طبیب زاده و همکاران (۱۳۹۰) مطابقت دارد. ناظمی رفیع و محرمی پور (۱۳۸۶) نیز با بررسی اثرات دورکنندگی عصاره‌های گیاهان خرزهره *Nerium oleander L*.، اسطوخودوس *L. officinalis* و آنغوزه *Ferula assafoetida L.* روی شپشه آرد *T. castaneum* نشان دادند در تمام موارد با افزایش غلظت، قدرت دورکنندگی افزایش یافت. همچنین طبق نتایج نفیسه مهدوی عرب و همکاران (۱۳۸۶) از بررسی اثر حشره‌کشی عصاره برخی از

گیاهان روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات *C. maculates* در همه تیمارها با افزایش غلظت درصد تلفات افزایش یافت.

شایان ذکر است نتایج حاصل از این تحقیق و مطالعات و گزارش‌های سایر محققان، نشان می‌دهد که تأثیر عصاره گونه‌های مختلف گیاهان روی آفات انباری متفاوت می‌باشد (Modarres Najafabadi *et al*., 2004).

به طور کلی فرآورده‌های گیاهی به عنوان ضدتغذیه، دورکننده، تنظیم‌کننده رشد، عقیم‌کننده یا بازدارنده تخم‌ریزی عمل می‌کنند یا اثرات سمی (آفت‌کشی) دارند. این اثرات به دوز (غلظت) فرآورده بستگی دارد و در ارتباط با رفتار و فیزیولوژی سیستم‌های مختلف حشرات هستند. فرآورده‌های گیاهی ممکن است یک اثر منفرد یا چندین اثر روی هر مرحله زندگی آفت اعمال کنند که ممکن است فورا با یک اثر ضربه‌ای تلف نشود اما ممکن است چند ساعت بعد از تیمار از بین برود. چنانکه در این تحقیق نیز همه عصاره‌های گیاهی مورد آزمایش علاوه بر ایجاد مرگ و میر در لاروهای شب‌پره هندی، بر تعداد شفیره‌ها، تعداد حشرات کامل سالم و طول عمر حشرات کامل تاثیر منفی معنی‌داری نشان دادند.

همچنین نتایج نشانگر آن است که با گذشت زمان آزمایش میزان تلفات هم بالا می‌رود، هر چند حشره مورد آزمایش در ۳۶ ساعت اولیه آسیب پذیری بالایی داشته است که با نتایج تحقیقات نجمی زاده و احمدی (۱۳۹۰) و طبیب زاده و همکاران (۱۳۹۰) مشابهت دارد. این موضوع نشانگر سرعت تاثیر بالای این ترکیبات گیاهی است.

تاکنون آزمایش‌های متفاوتی در خصوص بکارگیری ترکیبات گیاهی برای کنترل آفت انجام شده است (Papchristos and Stampolous, 2004). همچنین سمیت گیاهان مورد استفاده در این تحقیق، علیه حشرات دیگر بررسی شده است که نتایج حاصل حاکی از اثربخشی این گیاهان روی حشرات مورد آزمایش می‌باشد. اشموترر[1] (۱۹۹۰) گزارش کرد که عصاره‌های برگ و دانه درخت چریش *Melia*

[1] Schmutterer

azedarach Linn. (Meliaceae) علیه بیش از ۲۰۰ گونه از حشرات گیاهخوار از چندین راسته فعالیت حشره‌کشی دارد. گزارش طبیب زاده و همکاران (۱۳۹۰) از خاصیت حشره‌کشی عصاره برگ خرزهره بر روی حشرات کامل زنجرک *Hishimonus phycitis* Distant نشان می‌دهد خرزهره در بالاترین غلظت ۳۵۰۰۰ پی پی ام پس از ۴۸ ساعت ۷۳/۵٪ تلفات را نشان داد. همچنین با افزایش غلظت در هر یک از تیمارها درصد تلفات افزایش پیدا کرد. زنجرک در ۲۴ ساعت اولیه آسیب پذیری بالایی داشته است. نجمی زاده و احمدی (۱۳۹۰) با بررسی اثر حشره‌کشی عصاره‌های گیاهی چریش و اسفند بر روی تریپس پیاز *Thrips tabaci* نشان دادند که در غلظت ۶۰ میکرولیتر در میلی لیتر پس از ۷۲ ساعت تلفات حشرات ۱-۲ روزه تریپس پیاز در تیمار عصاره اتانولی دانه چریش و اسفند ۹۹/۹ درصد بود. از سوی دیگر نتایج نشان داد که در تمام تیمارها بیشترین تلفات در همان ۲۴ ساعت اول ایجاد می‌شود. بر اساس مطالعات کارلستون[1] و همکاران (۲۰۰۶) عصاره‌های آبی برگ گیاهان زیتون تلخ *M. azedarach* و چریش *A. indica* اثرات نامطلوبی بر بقا، زادآوری، رشد و نمو، تخم‌ریزی و تغذیه شب پره پشت الماسی ایجاد می‌کند. فلاحی و همکاران (۱۳۹۲) اثرات تدخینی عصاره گیاهان *Lavandula hybridae*، *Rosmarinus officinalis*، *Eucalyptus globules* روی تخم سوسک لوبیا *Acanthoscelides obtectos* را بررسی کرده و میزان LC_{50} این سه عصاره را روی تخم سوسک لوبیا ۱/۳ تا ۱/۳۵ میکرولیتر بر لیتر هوا بدست آورده‌اند. بر اساس گزارش Mikhaiel (2011)، خرزهره *N. oleander* به طور کامل حمله لاروهای بید غلات *S. cereallela* را کاهش داد.

ب- قارچ *B. bassiana*

در این مطالعه قدرت بیمارگری جدایه‌های مختلف قارچ *B. bassiana* روی آفت انباری شب‌پره هندی *P. interpunctella* بررسی و مشاهده شد که همه جدایه‌ها قادر به آلوده سازی لاروهای شب‌پره هندی بوده و بر تعداد لاروهای شفیره شده، تعداد حشرات کامل سالم و طول عمر حشرات کامل نیز

[1] Charleston

تاثیرگذار می باشند، اما اثر بیمارگری جدایه‌های مختلف متفاوت بوده و جدایه Bb_3 بیشترین زهراگینی را نسبت به دیگر جدایه‌ها نشان داد، کمترین LT_{50} نیز مربوط به همین جدایه بود.

قارچ *B. bassiana* دارای دامنه میزبانی وسیعی بوده و مطالعات گسترده‌ای درباره زهراگینی آن روی حشرات مختلف انجام شده است. به عنوان مثال می‌توان به اثر قارچ *B. bassiana* روی *O. surinamensis* (لطیفیان و همکاران، ۱۳۸۹ ؛ Beegle and Yamamoto, 1992)، سرخرطومی حنایی خرما (EL- Sufty, 2007 و برخورداری و شیروانی، ۱۳۹۱)، شب پره مدیترانه ای آرد *E. kuehniella* (محرمی پور و همکاران، ۱۳۹۲)، بید غلات *C.cephalonica* (Kaur *et al*., 2014)، *G. mellonella* (دایر، ۱۳۸۰) و بسیاری از حشرات دیگر اشاره نمود.

در قارچ‌های بیمارگر جدایه‌های مختلف اثر بیمارگری متفاوت دارند (فرآشیانی و همکاران، ۱۳۸۷) که با نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد. نتایج حاصل از آزمایش‌ها نشان دهنده تغییرات و تنوع گوناگون در رفتار بیماری‌زایی ایزوله‌های یک قارچ حشره‌کش است که می‌تواند برای شناخت بیشتر مکانیزم بیماری‌زایی به کار رود (دایر، ۱۳۸۰). تفاوت قدرت زهراگینی در جدایه‌های مختلف *B. bassiana* به خصوصیات فیزیولوژیکی و آنزیمی هر جدایه مربوط می‌شود. همچنین این اختلاف در زهراگینی جدایه‌ها می‌تواند به منشا جداسازی جدایه‌ها و گونه‌های میزبان مرتبط باشد. تاثیر منشا جدایه‌ها روی بیمارگری قارچ *B. bassiana* قبلا گزارش شده است. جدایه‌هایی که زیستگاه آنها یا گونه‌های میزبان آنها به هم نزدیک‌تر است قدرت بیمارگری مشابهی دارند. علاوه بر خصوصیات فیزیولوژیکی قارچ و منشا آن، عوامل دیگری نیز در پدیده بیماری‌زایی یک قارچ بیمارگر مهم هستند. بعنوان مثال، جوانه زنی کنیدی‌ها می‌تواند تحت تاثیر شرایط کلیمایی، به خصوص دمای پیرامون کوتیکول حشره، رطوبت نسبی، در دسترس بودن غذا برای قارچ در سطح کوتیکول، درصد بازدارندگی ترکیبات سطح کوتیکول و سن حشره میزبان باشد (عجم حسنی و همکاران، ۱۳۹۰).

از آنجا که متغیرهای محیطی مختلفی بر بقای اسپور قارچ و رسیدن آن به بدن و حتی نفوذ درون بدن میزبان موثر می‌باشند در مواردی ممکن است قارچ به صورت قطعی منجر به مرگ حشره میزبان

نشود. قارچ بیمارگر باید بتواند حداقل از فعالیت‌های طبیعی این گروه از افراد جمعیت هدف جلوگیری نماید. در غیر این صورت به دلیل سرعت و قدرت بالای تولید مثل حشرات آفت انباری، جمعیت خیلی سریع مجددا رشد کرده و از کنترل عامل بیمارگر خارج گردد که نتایج این تحقیق نشان داد که ایزوله‌های قارچی مورد آزمایش نه تنها باعث ایجاد مرگ و میر لاروها می‌شوند بلکه بر روی پارامترهای زیستی لاروهای زنده مانده تاثیر منفی می‌گذارند. در تیمار ایزوله‌های قارچی تعداد لاروهای شفیره شده ، تعداد حشرات کامل حاصل از شفیره‌ها و طول عمر حشرات کامل تحت تاثیر قرار گرفت. همچنان‌که کاهش وزن شفیرگی پروانه *Spodoptera litura* Fabricius، درصد پایین خروج پروانه از پیله شفیرگی و دفرمه بودن همگی پروانه‌ها در نتیجه تیمار با *B. bassiana* توسط باسکر[1] و همکاران (۲۰۱۲) گزارش شده است و بر اساس مطالعات کارل[2] و همکاران (۲۰۱۴) نیز قارچ *B. bassiana* نه تنها باعث مرگ و میر در *C. cephalonica* شد بلکه همچنین رشد و نمو آن را طولانی کرد.

پیشنهادات

۱- با توجه به اهمیت آفت و خسارت آن و نتایج به دست آمده از این تحقیق می‌توان نتیجه گرفت که تمامی عصاره‌های گیاهی مورد آزمایش نقش موثری در کاهش جمعیت و خسارت آفت دارد لذا استفاده از عصاره‌های گیاهی می تواند نقش بسزایی در توسعه اطلاعات کاربردی و مهم به منظور طراحی الگوی هدفمند و جامع در برنامه‌های IPM شب‌پره هندی با هدف کاهش مصرف آفت‌کش‌های شیمیایی و حفظ محیط زیست داشته باشد.

۲- با توجه به تاثیر تماسی عصاره‌ها چنانچه در شرایط انبار نیاز به استفاده از عصاره‌ها باشد باید در مرحله‌ای از سیکل زندگی حشره استفاده شود که در سطوح مختلف مانند دیوارهای انبار حرکت داشته باشد و امکان برخورد تماسی با ترکیب را داشته باشد، لارو سن آخر به دلیل اینکه در مرحله

[1] Basker
[2] Kaurl

سرگردانی از درون غذا خارج می‌شود و روی سطوح حرکت می‌کند تا محل مناسبی برای تبدیل شدن به شفیره پیدا کند، مرحله مناسبی می‌باشد.

۳- مطالعه اثر دورکنندگی، ضد تغذیه‌ای و ممانعت از رشد عصاره‌های فوق بر مراحل مختلف آفت می‌تواند راهکارهای مناسب دیگری در کنترل آفت را نمایان سازد.

۴- تحقیقات بیشتر با استفاده از عصاره‌های گیاهی دیگر با خواص آفت‌کشی بر روی آفت فوق انجام پذیرد.

۵- با توجه به تنوع آب و هوایی و گونه‌های گیاهان وحشی در ایران می‌توان تحقیقات گسترده‌ای روی استخراج، خالص‌سازی و جداسازی و شناخت مواد موثره آنها و تهیه فرمولاسیون‌های مناسب، در نهایت تولید آنها در مقیاس نیمه صنعتی و صنعتی انجام داد که این امر مهم با اجرای پروژه‌های جامع و هدفمند سبب می‌گردد تا قبل از اینکه این گونه ترکیبات را به طور تقریبا ناشناخته از نظر شیمیایی و بیوشیمیایی وارد نماییم خود تولیدکننده آن گردیم.

۶- پیشنهاد می‌گردد با توجه به تأثیر عصاره‌های گیاهی ، تحقیقات در خصوص بهینه سازی روشهای استخراج عصاره، تهیه فرمولاسیون مناسب جهت کاربرد آسان و موثر آنها به عنوان یک روش مطمئن وکم خطر در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفت تکمیل گردد.

۷- ویژگی‌های گوناگونی در امر بیماری‌زایی یک قارچ حشره‌کش دخیل می‌باشند. شناسایی این عوامل می‌تواند به انتخاب ایزوله‌های مناسب برای مبارزه بیولوژیک و نیز مهندسی گونه‌های قوی‌تر کمک شایانی بنماید.

۸- بررسی اثر شرایط محیطی و سموم شیمیایی روی هیفومیست‌های بیمارگر حشرات در شرایط مزرعه از موضوعاتی است که در کشور باید به دقت مورد مطالعه و بررسی قرار گیرد.

۹- تحقیقات پیشرفته برای غلبه بر محدودیت‌های مشاهده شده در قارچ‌های بیمارگر حشرات جهت استفاده از آنها به عنوان عوامل مهار زیستی مورد توجه قرار گیرد.

منابع

- اسداله پور م، ظفری د، زارع ر، (۱۳۸۹) قارچ‌های هیفومیست جدا شده از حشرات و اثرات بیماری‌زایی آنها روی سوسک کلرادو در استان همدان، **نشریه حفاظت گیاهان (علوم وصنایع کشاورزی)**، جلد ۲۴، شماره ۴، زمستان ۱۳۸۹، ص ۴۶۵- ۴۷۰.

- اله ویسی س، سید ابراهیمی س، خزدوزی ف، (۱۳۹۰) مطالعات اثرات دورکنندگی و سمیتی عصاره‌های نه گیاه ادویه‌ای علیه حشرات کامل *Callosobrochus maculates* F در انبارهای نگهداری مواد غذایی، اولین کنگره ملی علوم و فناوری‌های نوین کشاورزی، دانشگاه زنجان، ۱۹ الی ۲۱ شهریور.

- ایران نژاد م، سمیع م، طالبی جهرمی خ، (۱۳۹۰) بررسی اثر چند آفت‌کش و عصاره گیاهی بر پارامترهای جدول زندگی بالتوری سبز *Chrysoperla carnea* Stephens، **مجله دانش گیاهپزشکی ایران**، شماره ۱، دوره ۴۳: ص ۳۳-۴۶.

- باقری زنوز ا، (۱۳۱۱) **آفات و عوامل زیان آور انباری و مدیریت کنترل آنها**، موسسه انتشارات دانشگاه تهران، ۴۵۰ صفحه.

- بارنت ه. ل، هانتر ب. ب، (۱۹۰۹) **قارچ‌های ناقص(جنسهای مشروح و مصور)**، میناسیان م، علیزاده ع، دانشگاه شهید چمران، اهواز ، ۴۵۷ صفحه.

- بخشی ا، طالبی ع، فتحی پور ی، (۱۳۹۱) اثر پرتو ماوراء بنفش روی پارامترهای زیستی شب‌پره هندی *P. interpunctella*، **فصلنامه تخصصی تحقیقات حشره شناسی**، جلد ۴، شماره ۲: ص ۱۱۶-۱۰۳

- برخورداری ل، شیروانی ا، (۱۳۹۱) مروری بر عوامل کنترل بیولوژیک آفات خرما. چکیده مقالات همایش ملی خرمای ایران، ص ۲۵۲-۲۵۷، ۱۲ و ۱۳ شهریورماه ۱۳۹۱، دانشگاه شهید با هنرکرمان.

- پوربهی ج، طالبی ع، زمانی ع، گلدسته ش، فرار ن، (۱۳۸۸) مقایسه ویژگی‌های زیستی شب‌پره هندی *Plodia interpunctella* Hubner روی سه رقم خرما در شرایط آزمایشگاهی، **فصلنامه تخصصی تحقیقاتی حشره شناسی**، (۱) ۴ : ۲۷۹-۲۸۸.

- جعفرپور ب، سبک خیز م. ع، جهانبخش و، (۱۳۹۱) **روش‌های آزمایشگاهی در بیماری شناسی گیاهی**. چاپ اول، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، مشهد، ۳۰۴ صفحه.

- چراغی ا، حبیب پور ب، مهین پو و، (۱۳۹۱) نقش قارچ‌های بیمارگر حشرات در مدیریت تلفیقی آفات و جنبه‌های عملی بکارگیری آنها، اولین همایش ملی توسعه پایدار کشاورزی و محیط زیست سالم، ۱۸ اسفند.

- دایر م. س، (۱۳۸۰) بیماری‌زایی ایزوله‌های قارچ حشره‌کش *Beauveria bassiana* بر روی حشره آزمون *Galleria mellonella*، **مجله علوم پزشکی مدرس**، شماره ۱، دوره ۴: ۲۳-۳۱.

- رضائی م ب. و جایمند ک، (۱۳۷۹) **ترکیب‌های شیمیائی در گیاهان داروئی**، جلد ۲، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، ۱۸۰ صفحه.

- رفیعی کرهرودی ز، ملکی م و چنگیزی م، (۱۳۹۰) تاثیر حشره‌کشی و دورکنندگی عصاره‌های استنی، الکلی، هگزانی و آبی سپیدار و صنوبر روی لارو شب‌پره آرد. **فصلنامه تخصصی تحقیقات حشره شناسی**، جلد ۳، شماره ۴، ص ۳۲۷-۳۳۴.

- رستگار ژ، غزوی م، کمالی ک، (۱۳۸۶) مقایسه زهراگینی چند جدایه *Beauveria bassiana* روی حشره کامل سن گندم و تاثیر روغن‌های گیاهی بر جوانه‌زنی اسپورهای موثرترین جدایه. **آفات و بیماری‌های گیاهی**، جلد ۷۵، شماره ۱، ص ۵۱-۶۵ .

- رودکی م، حقانی م، فلاحی م، (۱۳۹۱) اثر نماتد *Steinernema carpocapsae* (Weiser) بر مرگ و میر لارو سن آخر و شفیره شب‌پره هندی *P. interpunctella* در شرایط آزمایشگاهی، **تحقیقات آفات گیاهی**، جلد ۲، شماره ۲، ص ۳۳-۴۰

- زیبایی آ، بندانی ع، جلالی سندی ج، (۱۳۹۱) اثرات توام عصاره‌های گیاهی و قارچ *B. bassiana* Balsamo علیه *Hyphantria cunea* Drury روی میزبان‌های گیاهی مختلف، سومین همایش ملی

بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (گیاهی، دامی و صنعتی)، مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، http://www.civilica.com/Paper-AGRIBIOTECH03-AGRIBIOTECH03_145.html

- سمیع م ا، علیزاده ع، ایزدی ح، (۱۳۸۹) اثر برخی عصاره‌های گیاهی و آفتکش‌ها روی رشد *Beauveria bassiana* میسلیوم و تندش قارچ بیمارگر حشرات در شرایط آزمایشگاهی، **دانش گیاهپزشکی ایران**، شماره ۲، دوره ۴۱: ص ۳۲۷-۳۳۶

- شریفی فرد م، صفدری ف، سیاهپوش ا، (۱۳۹۳) خواص حشره‌کشی و دورکنندگی اسانس اکالیپتوس در کنترل سوسری نوار قهوه ای (ناقلی مهم برای بیماری‌های گرمسیری و عفونی در بیمارستان‌ها و نواحی مسکونی)، **فصلنامه بیماری‌های عفونی و گرمسیری وابسته به انجمن متخصصین بیماری‌های عفونی و گرمسیری**، سال نوزدهم ، شماره ۴۶ ، صفحات ۴۶ تا ۶۷

- صارمی ح، نوری س، (۱۳۸۵) استفاده از قارچها در کنترل آفات و بیماری‌های گیاهی به منظور کاهش مصرف سموم شیمیایی و جلوگیری از آلودگی زیست محیطی کشور، سومین همایش ملی بحران‌های زیست محیطی ایران و راهکارهای بهبود آنها، اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی - واحد علوم و تحقیقات مرکز اهواز، http://www.civilica.com/Paper-ICECRM03-ICECRM03_047.html

- طبیب زاده ن، سقایی ن، باقری ع، (۱۳۹۰) بررسی امکان کاربرد عصاره گیاهان تنباکو *Nicotiana tabacum* و خرزهره *Nerium oleander* در کنترل زنجرک (Hemiptera:Cicadellidae) *Hishimonus phycitis* (Distant) ناقل بیماری جاروک لیمو ترش، همایش ملی مدیریت کشاورزی، جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، http://www.civilica.com/Paper-NCAMJAHROM01-NCAMJAHROM01_135.html

- عباسی‌پور شوشتری ح، (۱۳۳۶) **معرفی گیاهان حاوی ترکیبات حشره‌کش**، چاپ اول، انتشارات جهاد دانشگاهی، تهران، ۳۰۰ صفحه.

- عباسی پور ح، (۱۳۸۷)، **مهار زیستی آفات**، مرکز چاپ و انتشارات دانشگاه شاهد، تهران، 174 صفحه.

- عجم حسنی م، جلالی سندی ج، فارسی م، (۱۳۹۰) بررسی بیمارگری جدایه‌های مختلف *B. bassiana Balsamo* , *Isaria farinosae* Holmsk روی لارو سن چهار *Hyphantria cunea* Drury، **دو فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات حمایت و حفاظت جنگلها و مراتع ایران**، جلد ۹، شماره ۱: ص ۱-۱۳.

- فرآشیانی م ا، (۱۳۸۱) بررسی بیولوژی سوسک شاخک بلند سارتا، *Aeolesthes sarta* Solsky، گزارش نهایی طرح تحقیقاتی، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، وزارت جهاد کشاورزی، تهران، ۱۳۶ صفحه.

- فرجی س، (۱۳۹۰)، پایان نامه ارشد، شناسایی قارچ‌های بیمارگر حشرات در مزارع سیب زمینی شهرستان مراغه و بررسی میزان زهراگینی آنها روی شب‌پره مدیترانه‌ای آرد *E. kuehniella*، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود.

- فلاحی م، حیدری آ، محرمی پور س، (۱۳۹۲) اثر تدخینی عصاره هگزانی سه گونه اکالیپتوس *Eucalyptus microtheca*، *E. globules*، *E. camaldulensis* بر شپشه دندانه‌دار *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: silvanidae)، **فصلنامه گیاهپزشکی**، ۵: ۴۵-۵۵

- دیکون جی دبلیو، (۱۳۷۴) **کنترل میکروبی آفات و بیماری‌های گیاهی**، کاظمی، م، انتشارات دانشگاه تربیت معلم تبریز، تبریز، 167 صفحه.

- کورکی ز، شهیدی نوقابی ش، (۱۳۹۲) اثرات حشره‌کشی عصاره‌های اتانولی گیاهان خرزهره، (*Nerium oleander* L.) رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) و اکالیپتوس (*Eucalyptus* spp.) روی شته جالیز Aphis gossypii (Hem.: Aphididae)، ششمین همایش یافته‌های پژوهشی کشاورزی، دانشگاه کردستان، ۲۵ و ۲۶ اردیبهشت.

- گلشن ه، صابر م، مجیدی شیلسر ف، (۱۳۹۰) بررسی اثرات هم‌افزایی حشره کش مالاتیون و قارچ *B. bassiana* Balsamo روی حشرات کامل شپشه آرد *Tribolium castaneum* Herbst، دومین همایش ملی مدیریت کنترل آفات، ص ۳۰۴-۳۱۰، دانشگاه شهید با هنر کرمان، ۲۳ و ۲۴ شهریور.

- لطیفیان م، سلیمان نژادیان ا، غزوی م، (۱۳۸۹) اثرات غلظت های زیر کشنده قارچ *Beauveria bassiana* بر پتانسیل تولید مثل شپشه دندانه‌دار (*Oryzaephilus surinamensis*) درشرایط تغذیه از ارقام تجاری خرما، **فصلنامه گیاه پزشکی**، ۲، ۴: ۲۹۷-۳۱۰.

- محرمی پور س، جلالی سندی ج، قاسمی و، (۱۳۹۲). تأثیر دما و تنظیم کننده‌های رشد حشرات روی پاسخ ایمنی شب‌پره مدیترانه‌ای آرد *Ephestia kuehniella* در برابر دو گونه قارچ بیمارگر، وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی.

- مدرس نجف آبادی س، (۱۳۸۱) ارزیابی خسارت آفات انباری به گندم و جو در منطقه سیستان، خلاصه مقالات پانزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران، دانشگاه رازی کرمانشاه، ایران، ۱۶-۲۰ شهریور، ص ۱۴۴.

- مدرس نجف آبادی س، فنائی ح، غلامیان غ، (۱۳۸۵) بررسی امکان کاربرد فرآورده‌های درخت اکالیپتوس (پودر برگ و دانه) در کنترل آفات انباری مهم گندم و جو در سیستان، **فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران**، جلد ۲۲، شماره ۲: ص ۱۱۷-۱۲۷.

- مستقیمی ن، فتحی ع، نوری ق، (۱۳۹۱) تاثیر تراکم‌های مختلف لاروهای بید آرد و شب‌پره هندی در کارایی پارازیتیسم زنبور *Habrobracon hebetor* Say، **مجله دانش گیاهپزشکی ایران**، شماره ۲، دوره ۴۳: ص ۲۴۳-۲۵۰.

- منبری م، نوری قنبلانی ق، رفیعی کرهرودی ز، (۱۳۹۱) بررسی اثر دورکنندگی عصاره‌های استونی و هگزانی شش گیاه دارویی روی لارو شب‌پره هندی *Plodia interpunctella* Hubner، اولین کنفرانس‌های ملی راهکارهای دستیابی به توسعه پایدار، ص ۱۶۹، تهران.

- مهدوی عرب ن، عبادی ر، حاتمی ب، (۱۳۸۶) بررسی اثر حشره‌کشی عصاره برخی از گیاهان روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات *Callosobrochus maculates* F. در آزمایشگاه و کرم برگخوار چغندر قند *Laphigma exigua* H. در گلخانه، **علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی**، سال یازدهم، شماره ۴۲ (الف): ص ۲۲۱-۲۳۴.

- ناظمی رفیع ج، محرمی پور س، (۱۳۸۶) اثرات دورکنندگی عصاره‌های گیاهان خرزهره *Nerium oleander L.*، اسطوخودوس *Lavandula officinalis* L.، آنغوزه *Ferula assafoetida* L. روی شپشه آرد *Tribolium castaneum* (Herbst)، **فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران**، جلد ۲۳، شماره ۴: ص ۴۴۳-۴۵۲.

- نجمی زاده ح، احمدی ک، (۱۳۹۰) بررسی اثر حشره‌کشی دو عصاره گیاهی بر روی تریپس پیاز *Thrips tabaci* Lindeman. (Thys: Thripidae) دومین همایش ملی مدیریت کنترل آفات، دانشگاه شهید با هنر کرمان، ۲۳ و ۲۴ شهریور، ص ۳۳۸-۳۴۳.

- Abd El-Aziz M. F., Mahmoud E. A., Elaragi G. M. (2014) Non thermal plasma for control of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **J. Stored. Prod. Res**. xxx: 1-7.

- Adane K, Moore D, Archer S. A. (1996) Preliminary studies on the use of *Beauveria bassiana* to control *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) in the laboratory. **J. Stored Prod. Res**. 32: 105-113.

- Akbar W, Lord J. C., Nechols J. R. (2004) Diatomaceous earth increases the efficacy of *Beauveria bassiana* against *Tribolium castaneum* Larvae and increases conidia attachment, **Biol microb control**. 97(2): 273-280.

- Alexopolous C. J., Mims C. W., Blackwell M. (1996) **Introductory mycology,** 4th ed., John wiely and sons, New York, 868p.

- Alizadeh A, Samih M. A., Khezri M, Saberi Riseh R. (2007) Compatibility of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. With several pesticides, **Int J. Agric Boil**. 9, 1, 31-34.

- Armentrout V. N. (1988) Isolation of fungi and bacteria. In: Laboratory Exercises in Plant Pathology: An Instructional Kit. Baudoin, A.B. Ed. American Phytopathological Society Press. St. Paul, Minnesota. USA. 86-89.

- Arnason J.T., Philogen B. J. R., morad P. (1989) **Insecticide of plant origin**. ACS Symposium Series, pp: 378.

- Asi M. R., Bashir M. H., Afzal M, Ashfaq M, Sahi S. T. (2010) Compatibility of entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces fumosoroseus* with select insecticides. **Pak. J. Bot**. 42, 4207–4214.

- Baskar K, Raj G, Mohan P, Lingathurai S, Ambrose T, Muthu C. (2012) Larvicidal and growth inhibitory activities of entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* against Asian army worm, *Spodoptera litura* Fab. (Lepidoptera: Noctuidae). **J. entomol.** 9(3): 155-162.

- Beegle C. C., Yamamoto T. (1992) History of *Bacillus thuringiensis* Berliner research and development. **Can. Entomol**. 124, 587–616.

- Bell C. H. (2014) Pest control of stored food products: insects and mites. **Woodh publ lim**. 15: 494-538.

- Bhattarai S. S., Aryal S., Thapa R. B. (2015) The capacity of lignin to enhance the *Phthorimaea operculella* Granulovirus (PHOPGV) stability in laboratory condition. **Appl sci biotechnol**. Vol 3(2): 256-260.

- Boeke S. J., Kossoua D. K., Huis V., Vanloon J. A., Dicko M. (2004) Field trialis with plant products to protect stored cowpea against insect damage. **Inte. J. Pest Manag**. 50(1): 1-9.

- Brower J. H., Press J.W. (1990) Interaction of *Bracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) and *Trichogramma pretosium* (Hymenoptera: Trichogramatidae) in suppressing stored-product moth population in small inshell peanut storages. **J. Econ Entomol**. 82: 1096- 1110.

- Butt T. M., Jackson C., Magan N. (2001) **Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential**. CABI publishing, wallingford, UK, 390p.

- Charleston D. S., Kfir R., Dicke M., Vet L.E.M. (2006) Impact of botanical extracts derived from *Melia azedarch* and *Azadirachta indica* on population of *Plutella xylostella* and its natural enemies: A field test of laboratory findings. **Biolo Control**. 39: 105-114.

- Chimbe C. M., Galley D. J. (1996) Evaluation of material from plants of medicinal importance in Malawi as protectants of stored grain against insects. **C'ro/~ Prorecrron** 15: 289-294.

- Copping L. G. (2001) The biopesticide manual, second ed. British crop protection council, surrey, UK.

- David B.V., Shankar G. (2012) Crop production products in India: The present and future trends. **Pestology** 36 (4), 8–20.

- Defago M. T., Dumon A., Avalos D. S. (2011) Effects of *Melia azedarach* extract on *Cotesia ayerza*, parasitoid of the alfalfa defoliator *Colias lesbian*. **Biol Control**. 57: 75-78.

- Defaris M. R., Wraight S. P. (2007) Worldwide use of mycoinsecticides. **Biol control symp proc**. p 70. Available on: http://www.ars.usda.gov.

- De-Oliveira R. C., Neves P. M. O. J. (2004) Compatibility of *Beauveria bassiana* with acaricides. **Neotrop Entomol.** 33: 353−358.

- Dwivedi S. C., Shekhawat N. B. (2004) Repellent effect of some indigenous plant extracts against *Trogoderma granarium* (Everts). **Asian J. Exp Sci**. 18 (1&2): 47-51.

- Edde P. A. (2012) A review of the biology and control of *Rhyzopertha dominica* (F.) the lesser grain borer. **J. Stored. Prod. Res**. 48: 1-18.

- El-sufty R., Awash S. A. , Amiri A. M. (2007) Biological control of red palm weevil by the entomoph athogenic fungus *B. bassiana* in united Arab Emarat. **Conference paper acta horticulture**. 736: 399-404.

- Farias – Rivera L. A., Hernandez-Mendosa J. L., Molina-Ocoa J., Pescadro- Robio A. (2003) Effect of leaf extract of thosinte *Zea diploprennis* L. and a Mexican maize variety *Crillo uruapeno* on the growth and survival of the fall army worm (L.Noctuidae). **J. Florida entomol**. 86 (3): 234-243.

- Farooq M., Jabran K., Chemma Z. A., Wahid A., Siddiq K. H. M. (2011) The role of allelopathy in agricultural pest management. **Pest manag. Sci**. 67, 493–506.

- Fasulo T. R., Knox M. A. (2012) Indianmeal Moth, *Plodia interpunctella* (Hübner) (Insecta: Lepidoptera: Pyralidae). University of Florida, 026: 1-5.

- Fătu C., Fătu V., Andrei A. M. (2010) Temperature requirements in *Beauveria bassiana – Plodia interpunctella* laboratory bioassay. **Plant Prot**. 3: 65-68.

- Feng M. G., Poprawski T. J., Khachatourians G. G. (1994) Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status. **Biocontrol sci. Technol**. 4, 3–34.

- Fouad A. H., Faroni L. R. D., Tavares W. S. (2014) Botanical extracts of plants from the Brazilian Cerrado for the integrated management of *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae) in stored grain. **J. Stored. Prod. Res**. 57: 6-11.

- Gahukar R. T. (2014) Potential and utilization of plant products in pest control. **J. Integr Pest Manag**. 8: 125-139.

- Gemechu F., Sori W., Santiago D. R. (2013) Efficacy of botanical powders and cooking oils against angoumois grain moth, *Sitotroga cereallela* O. (Lepidoptera: Gelechiidae) in stored maize. **Afr J. Biotechnol**. 12 (16): 1978-1986.

- Ghimire M. N., Phillips T. W. (2010) Mass rearing of *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) on larvae of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae): effects of host density, parasitoid density, and rearing containers. **J. Stored. Prod. Res**. 46: 214-220.

- Ghimire M. N., Phillips T. W. (2010) Mass rearing of *Habrobracon hebetor* Say (Hymenoptera: Braconidae) on larvae of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae): effects of host density, parasitoid density, and rearing containers. **J. Stored Prod Res**. 46: 214-220.

- Gilbert L. I., Gill S. S. (2010) Insect control: biological and synthetic agents. Academic press. London. 470 pp. Rath, A. C. (2000); The use of entomopathogenic fungi for control of termites. **Biocontrol Sci Technol**. 10: 563-581.
- Goettel M. S., Inglis G. D., Wraight S. P. (2000) Fungi. In: Lacey L. A, Kaya H. K. (Eds.), Field manual of techniques in invertebrate pathology. **Kluwer academic publishers, dordrecht, NL**, pp. 255–282.
- Gupta V. K., Ahlawat S. P., Kumar R.V., Datta A. (2010) Effect of season and year on azadirachtin A and oil content in neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) seeds and relationship of azadirachtin A and oil content with rainfall, temperature and humidity. **Curr. Sci**. 99, 953–956.
- Hagstrum D. W., Subramanyam B. (2000) ‘ Monitoring and decision tools ’, in Subramanyam B and Hagstrum D W , Alternatives to pesticides in stored-product IPM . **Kluwer academic publishers** , 1 - 28.
- Hasheminia S. M., Jalali Sendi J., Talebi Jahromi K. (2011) The effects of *Artemisia annua* L. and *Achillea millefolium* L. crude leaf extracts on the toxicity, development, feeding efficiency and chemical activities of small cabbage *Pieris rapae* L. (Lepidoptera: Pieridae). **Pestic Biochem Physiol**. 99: 244–249.
- Hong-Xing X., Xu-Song Z., Ya-Jun Y. (2015) Methyl eugenol bioactivities as a new potential botanical insecticide against major insect pests and their natural enemies on rice *Oriza sativa*, **Crop Prot**. 72: 144-149.
- Huang S-q., Zhang Z-x., L. I Y-z. (2010) Anti-Insect activity of the methanol extracts of fern and gymnosperm. **Agr Sci China**. 9(2): 249-256.
- Islam M.T., Omar D. B., Latif M. A., Morshed M. M. (2011) The integrated use of entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* with botanical insecticide, neem against *Bemisia tabaci* on eggplant. **J. Microbiol. Res**. 5, 3409–3413.
- Isman M. B. (2002) Insect antifeedants. **Pestic. Outlook** 13, 152–157.
- Isman M.B. (2006) Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annu Rev Entomol**. 51: 45-66
- James E. T., Jeffrey C. L. (2003) Tritrophic interactions and storage pest control: interaction of the fungus *Beauveria bassiana* with resistant oat varieties for control of *Oryzaephilus surinamensis*. **Insect Pathol Microb Control**. 4: 153-170.

- Jaros-Su J., Groden E., Zhang J. (1999) Effects of selected fungicides and the timing of fungicide application on *Beauveria bassiana*-induced mortality of Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). **Biol. Control** 15, 259–269.
- Jian-Hua L., Ya-Qiang H. (2010) Fumigant toxicity of *Ailanthus altissima* Swingle, *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. and *Elsholtzia stauntonii* Benth extracts on three major stored-grain insects. **Ind Crops Prod**. 32: 681-683.
- Kassa A., Brownbridge M., Parker B. L., Skinner M., Gouli V., Gouli S. (2008) Whey for mass production of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. **Mycol. Res**. 112, 583–591.
- Kaur S., Thakur A., Rajput M. (2014) A laboratory assessment of the potential of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin as a biocontrol agent of *Corcyra cephalonica* Stainton (Lepidoptera: Pyralidae). **J. Stored. Prod. Res**. 59: 185-189.
- Kaur V. D., Singh G., Singh D. (2005) Effect of feeding *Melia* extracts from different locations to adults of *Plutella xylostella* (Linnaeus) on their fecundity. **J. Entomol. Sci**. 18, 81–82.
- Khachatourians G. G., Sohail S. Q. (2008) Entomopathogenic fungi. In: Brakhage, A. A., Zipfel, P.F. (Eds.), Biochemistry and molecular biology, human and animal relationships, 2nd edn. The mycota VI. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg.
- Khaliq A., Javed M., Ahmad M. H. (2014) Biocidal and repellent effect of *Saccharopolyspora spinosa* and *Nerium oleander* extract against stored product pests. **Agr Sci Rev**. 3(6) pp. 49-54.
- Koul O., Walia S. (2009) Comparing impacts of plant extracts and pure allelochemicals and implications for pest control. CAB Rev. no. 49, CAB international, London.
- Latifian M. (2004) Date palm stored pests control technology. Hang galam publicher. Mashad. 100pp.
- Leathers T. D., Gupta S. C. (1993) Susceptibility of the eastern tent caterpillar malacosomam, to the entomogenus fungus *B. bassiana*. **J. Invertebr Pathol**. 217-219.
- Levinson H., Levinson A. (1998) Control of stored food pests in the ancient orient and classical antiquity. **J. Appl Entomol**., 22: 127-144.
- Lynn O. M., Kim J. E., Lee K.W. (2012) Effects of azadirachtin on the development and gene expression of fifth instar larvae of Indianmeal moth, *Plodia interpunctella*.

- Machado A. C. R., Monteiro A. C., Belasco de Almeida A. M., Martins M. I. E. G. (2010) Production technology for entomopathogenic fungus using a biphasic culture system. **Pesq. Agropec. Bras**. 45, 1157–1163.
- Malekan M., Hatami B., Ebadi R., Akhavan A., Radjabi R. (2012) The singular and combined effects of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* (Bals) and *Lecanicillium muscarium* (Petch) with insecticide imidacloprid on different nymphal stages of *Trialeurodes vaporariorum* in the laboratory conditions. **Adv. Environ. Biol**. 6 (1), 423.
- Masoumzadeh A., Hosseininaveh V., Ghamari M. (2014) Digestive a-amylase inhibition negatively affects biological fitness of the Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Hub.) (Lep: Pyralidae). **J. Stored. Prod. Res**. 59: 167-171.
- Mbata G. N., Shapiro-Ilan D. I. (2010) Compatibility of *Heterorhabditis indica* (Rhabditida: Heterorhabditidae) and *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) for biological control of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae). **Biol Control**. 54: 75-82.
- McFrederick Q. S., Kathilankal J. C., Fuentes J. D. (2008) Air pollution modifies floral scent trails. **Atmos. Environ**. 42, 2336–2338.
- Meyling N. V., Schmidt N. M., Eilenberg J. (2012) Occurrence and diversity of fungal entomopathogens in soils of low and high arctic greenland. **Polar. Biol**. 35, 1439–1445.
- Meyling N. V., Thorup-Kristensen K., Eilenberg J. (2011) Below- and above ground abundance and distribution of fungal entomopathogens in experimental conventional and organic cropping systems. **Biol Control**. 59: 180-186.
- Meyling N. V., Thorup-Kristensen K., Eilenberg J. (2011) Below- and aboveground abundance and distribution of fungal entomopathogens in experimental conventional and organic cropping systems. **Biol Control**. 59: 180-186.
- Mikhaiel A. A. (2011) Potential of the combined use of inherited sterility and four botanical extracts for the control of *Sitotroga cerealella* (Olivier). J Radiat Res Appl Sci. 2(B): 599-614.
- Modarres najafabadi S., Fanaei H., Gholamian Gh. (2004) Study on *Eucalyptus* product uses (seed and leaf powder) on stored product pests of wheat and barley in sistan region – Iran. Proceedings of the 16th Iranian plant protection congress, Tabriz University, Tabriz, Iran.

- Nagar A., Singh S. P., Singh Y. P., Singh R., Meena H., Nagar R. (2012) Bioefficacy of vegetable and organic oils, cakes and plant extracts against mustard aphid, *Lipaphis erysimi* (Kalt.). **Indian J. Entomol**. 74, 114–119.

- Nazemi-Rafie J., Moharamipour S. (2008) Repellency of *Nerium oleander* L., *Lavandulla officinalis* L. and *Ferula assafoetida* L. extracts on *Tribolium castaneum* (Herbst), **Iran J. Med Aromat Plants**. 23(4): 443-452.

- Negahban M., Moharramipour S. (2007) Fumiugant toxicity of *Eucalyptus intertxta*, *Eucalyptus sargentii* and *Eucalyptus camaldulensis* against stored product beetles. **J. Appl Entomol**. 131(4): 256-261.

- Nenaah G. (2011) Toxicity and growth inhibitory activities of methanol extract and the b-carboline alkaloids of *Peganum harmala* L. against two coleopteran stored-grain pests. **J. Stored. Prod. Res**. 47: 255-261.

- Nenaah G. E. (2013) Potential of using flavonoids, latex and extracts from *Calotropis procera* (Ait.) as grain protectants against two coleopteran pests of stored rice, **Ind Crops Prod.** 45: 327-334.

- Nenaah G. E. (2013) Potential of using flavonoids, latex and extracts from *Calotropis procera* (Ait.) as grain protectants against two coleopteran pests of stored rice. **Ind Crop Prod**. 45: 327-334.

- Neves P. M. O. J., Hirose E., Tchujo P.T., Moino J. r. A. (2001) Compatibility of entomopathogenic fungi with neonicotinoid insecticides. **Neotrop. Entomol**. 30, 263–268.

- Oerke E. C. (2006) Crop losses to pests. **J. Agric. Sci**. 144, 31–43.

- Padin S. B., G. M. Dal Bello, Vasicek L. (1994) Bioinsecticide potential of entomopathogenic fungi in stored grain pests. **Rev. Fac. Agron. Univ. Nac. La Plata**.

- Papachristos D. P., Stampolous D. C. (2004) Fumigant toxicity of three essential oils on the eggs of *Acanthoscelides obtectus* (say) (Coleopteran: Bruchidae). **J. Stored. Prod. Res**. 40(5), 517-528.

- Pascual - Villalobos M. J., Robledo A. (1998) Screening for anti-insect activity in meditrranean plants. **J. Ind crop prod**. 8: 183 – 194.

- Paul U. V., Lossini J. S., Edwards P. J. (2009) Effectiveness of products from four locally grown plants for the management of *Acanthoscelides obtectus* (Say) and *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (both Coleoptera: Bruchidae) in stored beans under laboratory and farm conditions in Northern Tanzania. **J. Stored. Prod. Res**. 45: 97-107

- Periera J., Wohlgemuth R. (1982) Neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) of west african origin as a protectant of stored maize. **Z. Ang. Ent**. 24(2): 208-214.
- Phillips T. W., Berbert R. C., Cuperus G.W. Post-harvest integrated pest management. In: Francis, F. J. (Ed.), Encyclopedia of food science and technology. 2nd ed. Wiley Inc., New York, 2000. pp. 2690–2701.
- Pogetto M., Wilcken F. (2012) The effect of *Beauveria bassiana* on Brazilian poplar moth *Condylirrhiza vestigialis* (Lepidoptera:Crambidae). **J. Plant Prot**. 52(1):10-14.
- Prakash A., Rao J. (1997) Botanical pesticides in agriculture. CRC press, inc., 2000 corporate Bld, N.W., Boca Raton, FL, USA.
- Rajashekar Y., Vijay Kumar H., Ravindra K. V. (2013) Isolation and characterization of biofumigant from leavesof Lantana camara for control of stored grain insect pests. **Ind Crop Prod**. 51: 224-228.
- Rath A. C. (2000) The use of entomopathogenic fungi for control of termites. **Biocontrol Sci Tech**. 10: 563-581.
- Rehner S. A. (2005) Phylogenetics of the insect pathogenic genus *Beauveria*. In: Vega, F. E., Blackwell, M. (Eds.), Insect-Fungal associations: Ecology and evolution. Oxford University Press, pp. 3–27.
- Rozman V., Kalinovic I., Korunic Z. (2007) Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. **J. Stored. Prod. Res**. 43: 349-355.
- Safavi S. A. (2013) *In Vitro* and *In Vivo* Induction, and Characterization of Beauvericin Isolated from *Beauveria bassiana* and Its Bioassay on *Galleria mellonella* Larvae. **J. Agr. Sci. Tech**. 15: 1-10.
- Safavi S. A., Kharrazi Gh., Rasoulian R. (2010) Virulence of some isolates of entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* on *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae) Larvae. **J. Agr. Sci. Tech**. 12: 13-21.
- Sahayaraj K., Antony N. (2006) Impact of five plant extracts on the digestive and detoxification enzymes of *Spodoptera litura* (Fab.) (Lepidoptera: Noctuidae). **Hexapoda** 13, 53–57.
- Sahayaraj K., Namasivayam S. K. R. (2008) Mass production of entomopathogenic fungi using agricultural products and by products. **Afr. J. Biotechnol**. 7, 1907–1910.
- Sahayaraj K., Shoba J. (2012) Toxic effects of *Tephrosia purpurea* (Linn.) and *Acalypha indica* (Linn.) aqueous extracts impact on the mortality, macromolecules,

- Santon J. P., Prates H. T. Waquil J. M., Olivera A. B. (1997) Evalution of plant-origin substance on the control of stored product pests. **J. Agric Entomol**. 86(10): 185-194.
- Schmutterer H. (1990) Properties and potential of natural pesticides from the neem tree *Azadirachta indica*. Ann. Rev. Entomol. 35, 271-297.
- Scholte E- J., Knols B. G. J., Samson R. A., Takken W. (2004) Entomopathogenic fungi for mosquito control: a review. **J. Insect Sci**. 4, 19.
- Shaaya E., Kostjukovski M., Eilberg J., Sukprakarn C. (1997) Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of storedproduct insects. **J. Stored Prod Res**. 33, 7-15.
- Sharififard M., Mossadegh M. S., Vazirianzadeh B., Zarei-Mahmoudabadi A. (2011) Interactions between entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* and sublethal doses of spinosad for control of house fly, *Musca domestica*. **Iran J. Arthropod-Borne Dis**. 5, 28–36.
- Shaurub E. S. H., Gharsa G. M. (2012) Food consumption and utilization by *Tribolium confusum* du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae and their susceptibility to the acetone extract of *Nerium oleander* L. (Apocynaceae) leaves in relation to three types of flour. **J. Stored. Prod. Res**. 51: 56-60.
- Shazly E. (1996) Toxic effect of ethanoic extract of *Nerium oleander* (Apocynaceae) Leaves against different development stages of *Muscina stabulans* (Diptera: Muscidae). **J. Egypt Soc Parasitol** .26:461-473.
- Shelton A. M., Vandenberg J. D., Ramos M., Wilsey W. T. (1998) Efficacy and persistence of *Beauvaria bassiana* and other fungi for control of diamondback moth on cabbage seedlings, **J. Entomol. Sci**. 33: 142-151.
- Sidhu O. P., Vishal K., Behl H. M. (2004) Variability in triterpenoids (nimbin and salanin) composition of neem among different provenances of India. **Ind. Crops prod**. 19, 69–75.
- Skinner M., Parker B. L., Kim J. S. (2014) Role of entomopathogenic fungi in integrated pest management. **J. Integr Pest Manag**. 10: 169-191.
- Sporleder M., Lacey L. A. (2013) Biopesticides. **Manage Approach**. 4: 463-497.
- Sterk G., Heuts F., Merck N., Bock J. (2003) Sensitivity of non-target arthropods and beneficial fungal species to chemical and biological plant protection products: Results of laboratory and semi-field trials. First international symposium on biological control

of arthropods. USDA forest service FHTET-03-05. <www. insectscience.org/4.19>; <http://www.bugwood.org/ arthropod/day4/sterk.pdf>.

- Tanada Y., Kaya H. K. (1993) Fungal infections. In: Tanada, Y., Kaya, H.K. (Eds.), Insect pathology. Academic press, NY, USA, pp. 318–387.

- Tatun N., Vajarasathira B., Tungjitwitayakul J. (2014) Inhibitory effects of plant extracts on growth, development and α-amylase activity in the red flour beetle *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Eur. J. Entomol**. 111(2): 181–188.

- Thomas C. J., A. Callaghan (1999) The use of Garlic *Allium sativa* and Lemon peel *Citrus limon* extract as *Culex pipiens* larvicide and interaction with an organophosphate resistance mechanism. **J. Chemopher**. 39(14): 2489 – 2496.

- Trissi A. N., El Bouhssini M., Al-Salti N., Abdulhai M., Skinner M., Parker B.L. (2012) Virulence of *Beauveria bassiana* against sunn pest, *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae) at different time periods of application. **J. Entomol. Nematol**. 4, 49–53.

- Vir S. (2007) Neem genetic diversity in India and its use as biopesticide and biofertilizer. **Indian J. Plant Prot**. 35, 185–193.

- Wang S., Wang Z., Zhang Y. (2013) Pesticide residues in market foods in Shaanxi province of China in 2010. **Food Chem**. 138: 2016-2025.

- White J. F., Bacton C.W., Hywel-Jones N. L., Spatafora J.W. (2003) Clavicipitalean fungi, evolution biology, chemistry, biocontrol and cultural impacts. Marcel Dekker.

- Wraight S. P., Ramos M. R. (2002) Application parameters affecting field efficacy of *Beauveria bassiana* foliar treatments against Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemilineata*. **Biol. Control**. 23, 164–178.

- XIE Y. S., Fields P. G., Isman M. B. (1995) Insecticidal activity of *Melia toosendan* extracts and toosendanin against three stored-product insects. **J. Stored. Prod. Res**. 3: 259-265.

- Xu H. X., Zheng X. S., Yang Y. J. (2015) Methyl eugenol bioactivities as a new potential botanical insecticide against major insect pests and their natural enemies on rice *Oriza sativa*. **Crop Prot**. 72: 144-149.

15:1-7.

bassiana to control *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) in the laboratory, **J. Stor. Prod. Res**. 32, 105–113.

-Damalas A. C. (2011) Potential uses of turmeric *Curcuma longa* products as alternative means of pest management in crop production, **Plant omics**. 4(3):136-141.

intestinal electrolytes and detoxification enzymes of *Dysdercus cingulatus* (Fab.). **Asian J. Biochem**. 7, 112–122.

J. Asia Pac Entomol. 15: 101-105.

-Tapondjou A. L., Adler C., Fontem D. A., Bouda H., Reichmuth C. (2005) Bioactivities of cymol and essential oils of Cupressus sempervirens and Eucalyptus saligna against Sitophilus zeamais Motschulsky and Tribolium confusum du Val. **J. Stored. Prod. Res**. 41: 91-102.

-Tkaczuk C., Król A., Majchrowska-Safaryan A. (2014) The occurrence of entomopathogenic fungi in solids from fields cultivated in a conventional and organic system. **Ecol Eng**. 15: 137-144.

tree, *Azadirachta indica*. **Ann. Rev. Entomol**. 35, 271e297.

Abstract

The insecticidal effects of extracts of four plant species including *Melia azedarach* L., *Eucalyptus citriodora* Hook , *Nerium oleander* L., *Rosmarinus officinalis* L. and three isolates of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* Balsamo were evaluated on third instar larvae of *Plodia interpunctella* Hubner at 26 ± 1 ° C , 70 ± 3% RH and 16:8 h photoperiod. Experiments were conducted using a completely randomized design (CRD) with four replications. Acetone was used as a control. The mortality of larvae, the number of larvae become pupae, the number of healthy adult insects and longevity of adult insects were recorded. Results of herbal extracts showed that 36 hours after treatment, oleander 90% and rosemary 80% with a mean mortality 90% and chinaberry 15% with 0% mortality had the highest and lowest mortaliy effect on Indian meal moth larvae, respectively. Rosemary had the lowest LC_{50} of 41.22% and chinaberry had the highest LC_{50} of 77.4% .In the experiment of 48 hours after treatment, eucalyptus 85% with mean of 92.5%, oleander 90% and rosemary 80% with mean of 90% had the highest, and chinaberry 15% with an average of 0% had the lowest effect on the mortality rate of the larvae. In this experiment rosemary had the lowest LC_{50} of 33.47% and chinaberry had the highest LC_{50} of 59.69%. The highest number of pupae observed in eucalyptus 15% treatment with mean of 92.5% and the lowest number of pupae was observed in eucalyptus 85% treatment with a mean of 0%. The highest number of adult insects was obtained from chinaberry 15% treatment with an average of 85% and the lowest adult insects was obtained from eucalyptus 85% treatments and rosemary 80% with a mean of 0%. Maximum insect lifespan observed in treatments oleander 30% and chinaberry 15% with an average of 6.5 days and rosemary 15% with an average of 6.25 days and the lowest of it observed in eucalyptus 85% and rosemary 80% with an average of 0%.

The results of fungal isolates showed that the highest larvae mortality found in Bb_3 isolates with an average of 82.5% and the lowest larvae mortality observed in Bb_1 with an average of 45%. The highest number of pupae observed in Bb_2 treatment with a mean of 42.5% and the lowest number of pupae observed in Bb_3 treatment with an average of 17.5%. The highest number of healthy adult insects observed in Bb_2 treatment with 32.5% and the lowest number in Bb_3 treatment with a mean of 12.5%.

The highest adult lifespan was observed in Bb_1 treatment with an average of 4.25 days and the lowest in Bb_3 treatment with an average of 3.25 days.

The lowest LT_{50} in Bb_3 treatment was 3.3 days and the highest in *Bb*1 treatment was 9.4 days.

Keywords: ***B. bassiana*, plant extract, Indian meal moth, *Nerium oleander*, *Eucalyptus citriodora*, *Rosmarinus officinalis*, *Melia azedarach***

Shahrood University of Technology

Faculty of Agriculture

M.Sc. Thesis in Entomology

Study on the effects of extracts of several botanical specieses and entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* Balsamo for controlling stored-product pest of Indian meal moth *Plodia interpunctella* Hubner in vitro.

By: Jamileh kesalkheh

Supervisor:
Dr. Ali Derakhshan Shadmehri

Advisor:
Dr. Maryam Ajam Hasani

July, 2017