

اثرات بازدارندگی رشد، ضد تغذیه‌ای و کشندگی عصاره متانولی مغز دانه چریش روی کرم قوزه پنبه (*Helicoverpa armigera* (Hubner) در مقایسه با دو ترکیب تجاری نیم‌آزال و نیم‌پلاس

پریسا هروی، خلیل طالبی جهرمی*، قدرت اله صباحی و علیرضا بندانی^۱

(تاریخ دریافت: ۱۳۸۷/۴/۱۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۸۷/۱۰/۲۴)

چکیده

تأثیرات گوناگون غلظت‌های مختلف عصاره متانولی مغز دانه گیاه چریش (آزاد درخت) بومی کشور، روی لاروهای کرم قوزه پنبه *Helicoverpa armigera* بررسی شد و با تأثیر دو فرمولاسیون تجاری نیم‌آزال و نیم‌پلاس مقایسه گردید. آفت از مزارع پنبه گرگان جمع‌آوری و در آزمایشگاه روی جیره مصنوعی پرورش یافت. دانه چریش از بندرعباس تهیه و عملیات استخراج عصاره در آزمایشگاه صورت گرفت. تعیین آثار ضد تغذیه‌ای ترکیبات چریش در دو حالت با و بدون امکان انتخاب توسط حشره انجام شد که در حالت اول کمترین میزان تغذیه لارو از حلقه فیبری تیمار شده با عصاره ۵٪ صورت گرفت در حالی که بیشترین میزان تغذیه در تیمار نیم‌پلاس مشاهده گردید. بین غلظت‌های مختلف عصاره دانه (به جز عصاره ۱٪) با شاهد اختلاف معنی‌دار وجود داشت ($P < 0/05$). مقایسه میانگین سرعت تغذیه نشان داد که بیشترین و کمترین سرعت تغذیه به ترتیب در تیمارهای نیم‌پلاس و نیم‌آزال بوده که اختلاف بین این تیمارها نیز معنی‌دار بود. بیشترین میزان شاخص ضد تغذیه‌ای در تیمار با عصاره ۵٪ و کمترین آن در نیم‌پلاس مشاهده شد که اختلاف بین آنها نیز معنی‌دار بود ولی اختلاف بین نیم‌پلاس با عصاره‌های ۱ و ۲/۵٪ معنی‌دار نشد. بیشترین تأثیر دورکنندگی در تیمار با عصاره ۵٪ و کمترین آن در عصاره ۱٪ مشاهده شد که از نظر آماری غلظت‌های ۵ و ۲/۵٪ در یک گروه و غلظت ۱٪ و نیم‌آزال و نیم‌پلاس در گروه دیگری قرار گرفتند. تیمار با عصاره ۵٪ به کمترین وزن لارو منجر گردید که از نظر آماری با سایر تیمارها اختلاف داشت ولی از این نظر بین عصاره ۲/۵ و ۱٪ اختلاف معنی‌دار نشد.

واژه‌های کلیدی: چریش، مغز دانه، عصاره متانولی، نیم‌آزال، نیم‌پلاس، کرم قوزه پنبه

مقدمه

دهه ۱۳۴۰ موجب شد که با آفت از طریق سمپاشی هوایی مبارزه شود. برای کنترل کرم قوزه از حشره‌کش‌های مختلفی استفاده می‌شود که حشره به اغلب این ترکیبات مقاوم شده است که از مهم‌ترین آنها می‌توان به منوکروتوفوس و اتیون اشاره کرد (۱۰).

کرم قوزه پنبه (*Helicoverpa armigera* (Hubner) یکی از آفات اصلی مهم کشور می‌باشد که تنها در استان‌های شمالی کشور به‌طور میانگین حدود ۲۰٪ و در سال‌های طغیانی تا ۷۵٪ خسارت به پنبه وارد سازد (۲۹). شدت خسارت در سال‌های

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استاد، استادیار و دانشیار گیاه‌پزشکی، پردیس کشاورزی، دانشگاه تهران

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Khtalebi@ut.ac.ir

توصیف نموده و آن را نسبت به ترکیبات شیمیایی ارجح یافته‌اند.

صادقی (۷) که حساسیت و خصوصیات رفتاری مراحل مختلف زندگی عسلک پنبه (*Bemisia tabaci* Gennadius) را نسبت به عصاره آبی دانه و روغن چریش و حشره‌کش‌های دکامترین (امولسیون غلیظ ۵/۲ درصد) پیریمفوس متیل (امولسیون غلیظ ۵۰ درصد) اکسی دمتون متیل (امولسیون غلیظ ۲۵ درصد) اتوفین پروکسی (امولسیون غلیظ ۲۰ درصد) و تیمتون (امولسیون غلیظ ۲۵ درصد) بررسی و مقایسه کرده، معتقد است که حشره کامل از همه مراحل حساس‌تر و تخم از همه مقاوم‌تر است. مطالعات وی نشان داده که روغن ۵ درصد چریش در مقایسه با شاهد اثر دورکنندگی شدیدی روی حشرات کامل دارد.

باقری (۴) عصاره هندی و آلمانی مغز دانه چریش و سموم پیریمفوس متیل و فن پروپاترین در کنترل عسلک پنبه *Bemisia tabaci* را در شرایط گلخانه‌ای با یکدیگر مقایسه کرده است. در بین ترکیبات مورد استفاده، فن پروپاترین دارای بیشترین تأثیر و چریش دارای کمترین تأثیر روی مراحل زندگی حشره بوده است.

قاسمخانی و حدادچی (۸) که مطالعه‌ای مقایسه‌ای بر تأثیر عصاره‌های روغنی برگچه‌ها، و میوه‌ای درخت چریش *A. indica* و زیتون تلخ *Melia azedarach* L. بر علیه حشرات بالغ شپشه گندم *Sitophilus gnanaxiua* L. داشته‌اند، اظهار کرده‌اند که هر کدام از عصاره‌های روغنی ۱۰٪ میوه‌های چریش و زیتون تلخ و گل چریش به ترتیب سبب ۹۶، ۵۶ و ۵۰ درصد مرگ و میر در حشرات شده‌اند. حسینی نیا، و همکاران (۶) تأثیر روغن دانه چریش را در ترکیب با سیتوت روی کنه قرمز اروپایی *Panonychus ulmi* (Koch) در شرایط آزمایشگاهی مطالعه کرده‌اند معتقدند که این ترکیب در غلظت ۵۶۵۲ پی.پی.ام همراه با ۲۵۰ پی.پی.ام سیتوت روی کنه ماده بالغ ۹۰ درصد مرگ و میر و غلظت ۸۳۰۹ پی.پی.ام روغن چریش مخلوط با ۲۵۰ پی.پی.ام سیتوت روی تخم تابستانه ۹۰/۴

به دنبال شناسایی ساختمان هرمون پوست اندازی یا اکدیسون در بندپایان، ترکیباتی با ساختمان و تأثیرات مشابه از گیاهان نیز استخراج و به اکدیستروئید گیاهی موسوم گردید. گیاهان این مواد را برای مقابله با بندپایان آفت از گذشته‌های دور به‌کار می‌برده‌اند. تحقیقات نشان داده که تغذیه حشرات از این مواد به بروز تأثیرات عمده فیزیولوژیک منجر می‌شود (۲۷) این ویژگی سبب کاهش تغذیه، طول عمر و زادآوری حشره شده و به اختلالات رشدی و نهایتاً مرگ حشره می‌انجامد (۱۵).

آزاد درخت یا چریش با نام علمی (*Azadirachta indica* (L.) درختی است که به‌صورت بومی در کشورهای جنوب و جنوب غرب آسیا از جمله ایران (استان هرمزگان) می‌روید و حاوی ماده اکدیستروئیدی به نام آزادیراختین بوده که قادر است در فرآیندهای فیزیولوژیک بندپایان اختلال ایجاد نماید. آثار ضدتغذیه‌ای قوی و توانایی ایجاد اختلال در رشد و نمو تولید مثل حشره توسط این ترکیب ثابت شده، هر چند اثر بیوشیمیایی آن در سطح سلولی هنوز به‌خوبی مشخص نیست (۲۰). این ماده تاکنون روی حدود ۴۰۰ گونه از حشرات آزمایش شده است (۳۴). خواص تخم‌کشی، ضدتغذیه‌ای و دورکنندگی عصاره چریش در اختلاط با جیره غذایی و به‌صورت پاشیدن روی اندام‌های گیاهی در حشرات مورد ارزیابی قرار گرفته است (۱۸).

در بین محققین ایرانی ارومچی و لورا (۱) تأثیر عصاره آبی و سه فرمولاسیون تجاری چریش را روی سرخرطومی برگ یونجه آزمایش کرده و برای این ترکیبات آثار ضدتغذیه، دورکننده و کشنده مشاهده نموده‌اند. اردبیلی و همکاران (۳) تأثیرات عصاره چریش و نیم‌آزال را روی سوسک کلرادو بررسی و تلفات حاصله را بیش از ۸۰٪ دانسته‌اند. ارومچی و ارمیل (۲) میزان آزادیراختین و روغن موجود در دانه درختان چریش در استان هرمزگان را به ترتیب بین ۳/۸-۴/۳۶ و ۴۷/۳-۴۶/۶٪ ذکر کرده‌اند. بیات اسدی و پورقاز (۵) در مقایسه‌ای که روی چهار عصاره گیاهی از نظر تأثیر روی عسلک پنبه داشته‌اند این مواد از جمله عصاره چریش را مؤثر

درصد مرگ و میر ایجاد می‌نماید.

در بین محققین خارجی اولین بار پرادان و همکاران (۲۶) نشان دادند که گیاهان تیمار شده با سوسپانسیون آبی دانه‌های چریش از حمله ملخ‌ها مصون می‌مانند. باترورث و مورگان (۱۳) آزادیراختین را از دانه‌های چریش جدا کردند و اثر ضدتغذیه‌ای آن را در غلظت کمتر از ۰/۰۰۴ ppm روی ملخ صحرایی ثابت نمودند. هیده و همکاران (۱۹) در ارزیابی تأثیر روغن چریش روی سه گونه زنجرفک در برنج مشاهده کردند که با افزایش غلظت روغن پاشیده شده روی گیاه، میزان استقرار دو گونه از این حشرات کاهش می‌یابد. بلانی و همکاران (۱۱) آثار ضدتغذیه‌ای ۴۰ ترکیب گیاهی از جمله آزادیراختین و مشتقات آن را روی چهار گونه پروانه از دو جنس *Spodoptera* و *Helicoverpa* آزمایش کرده و دریافتند که آزادیراختین و دی هیدرو آزادیراختین از بقیه ترکیبات تأثیر بیشتری داشته است. آرمز و همکاران (۱۲) نشان دادند که سمیت این ترکیبات از طریق تماس با جلد حشره بسیار کم است حال آن‌که به صورت گوارشی تأثیر قابل توجهی دارند و این تأثیر به‌ویژه در لاروهای خانواده نوکتوئیده مشهود بوده است. سینها (۳۲) گزارش نمود که عصاره دانه چریش می‌تواند باعث ۴۰٪ کاهش جمعیت کرم قوزه روی گیاه لوبیا شود. رائو و همکاران (۲۸) اثر نیم‌آزال- تی اس را روی کرم قوزه بررسی نموده و غلظت ۰/۰۴ از فرمولاسیون ۱۰۰۰۰ ppm آن را موجب ۱۰۰٪ مرگ و میر در لاروهای نئونات ذکر نموده‌اند. زی و همکاران (۳۵) تأثیر عصاره چریش را با آزادیراختین خالص روی سه آفت انباری مقایسه کرده و با توجه به تأثیر بیشتر عصاره آزادیراختین خالص چنین نتیجه‌گیری کرده‌اند که آزادیراختین تنها جزء فعال در عصاره چریش نیست. گوجار (۱۳) تأثیرات بیولوژیک آزادیراختین و پلومباگین را روی کرم قوزه پنبه مطالعه نموده و آزادیراختین را مؤثرتر از ترکیب دیگر دانسته که در دز یک میکروگرم بر هر حشره از رشد و نمو لارو سن دو جلوگیری نموده و به مرگ آن منجر شده است. مورگان و همکاران (۲۳) آثار ضدتغذیه‌ای و بازدارندگی رشد

لیمونوئیدهای چریش را در زیست‌سنجی دیسک برگگی و با کاربرد موضعی روی کرم قوزه پنبه، با یکدیگر مقایسه کرده و آزادیراختین را قوی‌ترین جزء در مقایسه با سالانین، استیل جدونین، جدونین و هیدروکسی آزادیراختین ذکر نموده‌اند. لینگ و همکاران (۲۲) اثر یک فرمولاسیون عصاره چریش را روی لاروهای نئونات و سن دوم کرم قوزه آزمایش کرده و علاوه بر ایجاد مرگ و میر بالا، آثاری مانند کندی رشد، کاهش وزن و طولانی شدن دوره رشد و نمو آفت تیمار شده را گزارش نموده‌اند. تحقیقات ودرزی و تانگ (۳۴) نشان داده که فعالیت ضدتغذیه‌ای ترکیبات چریش در بسیاری از حشرات در غلظت‌های بالا پدید می‌آید در حالی که در غلظت‌های پایین، اختلالات رشدی بیشتر مشاهده می‌شود. اوپندر و همکاران (۲۵) تأثیرات ماده بتاهیدروکسی‌جدونین استخراجی از چریش را با لیمونوئیدهای غیرآزادیراختینی روی چند لارو از راسته بال‌پولک‌داران از جمله کرم قوزه مقایسه کرده‌اند.

سلجیسون و میدو (۳۰) نیم آزال تی و عصاره آبی بذر چریش را روی شب‌پره کلم (*Mamestra brassicae* (L)) آزمایش کرده‌اند. این محققین دریافته‌اند که در گیاهان تیمار شده با چریش، تخم‌گذاری حشره به نصف کاهش می‌یابد. هرچند این تیمار تأثیری بر درصد تفریح تخم نداشته ولی لاروهای تفریح شده دچار کاهش تغذیه شده، ناهنجاری در رشد آنها پدید آمده و کلیه لاروها قبل از پوست اندازی از بین رفته‌اند. این محققین غلظت لازم برای مؤثر بودن عصاره چریش را ۸ µg/ml ذکر کرده‌اند. نیم‌آزال تی نیز توانسته گیاه را به مدت سه هفته در برابر حشره محافظت نماید.

نئولیا و همکاران (۲۴) که لاروهای سن آخر کرم قوزه پنبه را با محلول‌هایی به غلظت ۱۰ پی‌پی‌ام از سه فرمولاسیون چریش، Nim Jeevan و Nimbicidine، Achook تیمار نموده‌اند، دریافته‌اند که بعد از ۰، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، این ترکیبات به صورت معنی‌داری باعث کاهش پروتئین‌های موجود در سر لارو می‌گردد. در مقایسه با Nimbicidine و شاهد،

قرار داده شد. نوارهای بستر در فواصل یک روزه برداشته و تا زمان ظهور لارو نئونات نگه‌داری گردید. لارو پس از خروج از تخم با قلم‌موی ظریف به قوطی فیلم منتقل گردید. قطعاتی از جیره مصنوعی به هر قوطی منتقل و در هر ظرف تا ۵۰ لارو سن یک پرورش یافت. لاروها بعد از پنج یا شش روز منتقل و برای جلوگیری از همخواری تا زمان تبدیل به شفیره به صورت انفرادی در ظروف مشابه نگه‌داری شدند و چرخه پرورش مجدداً تکرار شد. از لاروهای همسن در آزمایش‌های زیست‌سنجی استفاده گردید.

جمع‌آوری چریش و عصاره‌گیری

تهیه میوه و آماده‌سازی اولیه در بندرعباس انجام گرفت. دانه پس از جداسازی و خشک کردن در سایه، درون پاکت کاغذی به آزمایشگاه منتقل شد. در آنجا پوسته‌ی دانه جدا و مغز دانه آسیاب گردید. ۵۰ گرم پودر مغز با ۲۵۰ میلی‌لیتر متانول به کمک دستگاه هموژنایزر مخلوط شد. پس از ته‌نشین شدن پودر، محلول رویی در ارلن یک لیتری ریخته شد. این کار سه بار دیگر با پودر ته‌نشین شده صورت گرفت و محلول حاصله در دور ۲۵۰۰ به مدت ۴۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. محلول رویی حاصل از سانتریفوژ در دستگاه تبخیرکننده دوار متصل با پمپ خلاء ریخته شد و در دمای ۴۰ درجه و با سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه تغلیظ گردید. عمل تغلیظ تا تبخیر کامل متانول ادامه یافت و عصاره حاصل جهت تهیه غلظت‌های مختلف به کار رفت (۲). ۱۰ میلی‌لیتر عصاره غلیظ به‌دست آمده پس از اختلاط با جیره غذایی در مقادیر مورد نظر، در آزمایش‌های زیست‌سنجی به کار رفت.

زیست‌سنجی

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و پنج تیمار شامل جیره حاوی عصاره ۱، ۲/۵ و ۵٪ (غلظت‌هایی که بر اساس آزمایش‌های اولیه مؤثر تشخیص داده شد) و فرمولاسیون‌های تجاری نیم‌آزال- تی‌اس و نیم‌پلاس به میزان ۲

Achook بعد از ۲۴ ساعت و Neem Jeevan بعد از ۴۸ ساعت باعث کاهش بیشتری در مقدار پروتئین شده است. آزادپراختین که از طریق تزریق روی لارو سن سوم آزمایش شده نیز به صورت معنی‌داری مقدار پروتئین سر را کاهش داده است. در این بررسی تلاش شده تا تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌های مختلف چریش با منشأ ایران، بر رشد و نمو کرم قوزه پنبه مطالعه و با دو فرمولاسیون خارجی نیم‌آزال- تی‌اس و نیم‌پلاس مقایسه گردد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و پرورش آفت

لاروهای کرم قوزه پنبه از روی غنچه، گل و قوزه گیاه پنبه در سطح مزارع شهرستان گرگان جمع‌آوری شد. آفت درون قوطی فیلم عکاسی به صورت انفرادی به آزمایشگاه گروه گیاه‌پزشکی حمل شد. پرورش لاروها بر اساس روش پیشنهادی شوری و هیل (۳۱) و آرمز و همکاران (۱۱) روی غذای مصنوعی حاوی پودر لوبیای چشم بلبلی، پودر جوانه گندم، روغن آفتابگردان، آگار و آب مقطر انجام شد. به ترکیب مخمر نانوائی، اسید سوربیک، اسید اسکوربیک، هیدروکسید بنزوات و فرمالدئید اضافه گردید. پرورش در اتاق رشد در شرایط کنترل شده $27 \pm 2^\circ C$ ، RH $5 \pm 60\%$ و L:D ۱۶:۸ انجام گرفت.

لاروهای جمع‌آوری شده تا زمان تبدیل به شفیره در شرایط فوق و در ظروف پلاستیکی مکعبی به ابعاد $20 \times 15 \times 8$ سانتی‌متر حاوی قطعاتی از جیره مصنوعی نگه‌داری شدند. سوراخ‌های موجود در کف و درپوش ظرف امکان تهویه را فراهم می‌ساخت. شفیره‌ها پس از تشکیل به ظروف پلاستیکی $15 \times 15 \times 8$ سانتی‌متر حاوی ماسه نرم استریل منتقل و امکان ظهور حشره کامل فراهم گردید. حشرات نر و ماده بالغ به ظروف تخم‌ریزی پلاستیکی گرد به قطر ۱۴ و ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر که جهت تأمین بستر مناسب، سطح داخلی آن با نوار سلولزی پوشیده شده بود، منتقل شدند. در داخل ظروف تخم‌ریزی محلول آب و عسل ۱۰٪ جهت تغذیه حشره کامل

کاملاً تصادفی با پنج تیمار و سه تکرار انجام گرفت. تجزیه آماری به کمک نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین به کمک آزمون Wilcoxon Signed Ranks انجام شد. میزان DC_{50} (غلظتی از عصاره که سبب بازدارندگی تغذیه در ۵۰٪ جمعیت تیمار شده گردید) به کمک نرم‌افزار Polo-PC تعیین شد. برای محاسبه شاخص دورکنندگی از فرمول $100 \times [(C-T)/(C+T)]$ (۲۱) استفاده گردید.

C تعداد لاروها روی دیسک شاهد و T تعداد لاروها روی دیسک تیمار شده است.

نتایج

آثار ضد تغذیه‌ای ترکیبات چریش

تعیین اثرات ضد تغذیه‌ای ترکیبات چریش در دو حالت با امکان انتخاب و بدون آن صورت گرفت. در حالت اول تجزیه آماری وزن دیسک‌های تیمار شده نشان داد که کمترین میزان تغذیه لارو از دیسک تیمار شده با عصاره ۵٪ صورت گرفته در حالی که بیشترین میزان تغذیه در تیمار نیم‌پلاس مشاهده گردید. بین غلظت‌های مختلف عصاره دانه (به جز عصاره ۱٪) با شاهد اختلاف معنی‌دار شد ($P < 0/05$). هم‌چنین بین تیم آزال و شاهد نیز در همین سطح اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید در حالی که بین نیم‌پلاس و شاهد اختلاف معنی‌دار نشد. هم‌چنین بین غلظت ۵٪ عصاره با نیم آزال و نیم‌پلاس اختلاف معنی‌دار نبود (جدول ۱). در حالت بدون امکان انتخاب کمترین میزان تغذیه در تیمار با عصاره ۵٪ و بیشترین میزان آن در شاهد دیده شد. عصاره ۵ و ۲/۵٪ و نیم آزال باعث کاهش معنی‌دار در میزان تغذیه لاروها گردیدند ولی بین این تیمارها اختلاف معنی‌دار نبود. بین شاهد، غلظت ۱٪ و نیم‌پلاس نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲). این آزمایش نشان داد که همسو با افزایش غلظت عصاره اثر ضد تغذیه‌ای آن افزایش می‌یابد.

سرعت تغذیه

مقایسه میانگین سرعت تغذیه نشان داد که بیشترین و کمترین

در هزار (میزان توصیه شده توسط شرکت‌های سازنده) انجام شد. از جیره مخلوط با متانول به‌عنوان شاهد استفاده گردید. لارو چهار روزه آفت (ابتدای سن سوم) که به مدت شش ساعت تغذیه نشده بود با مقدار یک گرم جیره تیمار شده تغذیه شد. سپس از جیره معمولی (بدون تیمار) برای ادامه رشد حشره استفاده گردید. لاروها در شروع تیمار و پس از گذشت چهار روز توسط ترازوی الکترونیک با دقت یک میلی‌گرم توزین شدند. میزان EC_{50} (غلظتی که باعث بازدارندگی رشد در ۵۰٪ افراد جمعیت تیمار شده می‌شود) و LT_{50} (دوره زمانی که ۵۰٪ جمعیت تیمار شده از بین می‌رود) با کمک فرمول Abbott (۹) و نرم‌افزار Polo-PC محاسبه گردید و نمودار مربوطه ترسیم شد.

برای تعیین تأثیرات ضد تغذیه‌ای چریش به روش بلانی و همکاران (۱۲) عمل شد. در این آزمایش لاروهای سن ماقبل آخر که به مدت شش ساعت تغذیه نشده بودند، ۲۴ تا ۳۶ ساعت قبل از تغییر جلد به پتری‌های هشت سانتی‌متری منتقل شدند. هر پتری بسته به نوع تیمار حاوی یک یا دو دیسک فیبری Whatman GF50 به قطر ۲۵ میلی‌متر بود که ابتدا با ۱۰۰ میکرولیتر محلول آبی ساکارز ۵۰ میلی‌مول و سپس با ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره متانولی ۱، ۲/۵ و یا ۵٪ چریش و یا غلظت ۲ در هزار فرمولاسیون‌های نیم آزال و نیم پلاس تیمار شد. از کاغذ آغشته به متانول به‌عنوان شاهد استفاده گردید. مدت یک ساعت برای خشک شدن دیسک‌ها در نظر گرفته شد و پس از خشک شدن دیسک‌ها توزین گردید. آزمون در دو گروه صورت گرفت که در گروه اول لارو دارای امکان انتخاب بین فیبر تیمار شده و شاهد برای تغذیه و در گروه دوم لارو بدون امکان انتخاب بود. در گروه اول در هر پتری دو کاغذ صافی (شاهد و تیمار) و در گروه دوم یک کاغذ صافی (شاهد یا تیمار) قرار گرفت. در هر پتری یک لارو به مدت ۲۴ ساعت رها شد. سرعت تغذیه با فرمول $([C+T]/H)$ و اثرات ضد تغذیه‌ای با استفاده از فرمول $(C-T/C+T)$ (C مقدار خورده شده از دیسک شاهد، T مقدار خورده شده از دیسک تیمار شده، H زمان لازم برای تغذیه) (۱۲) تعیین شد. آزمون در قالب طرح

جدول ۱. میانگین درصد تغذیه لارو کرم قوزه ($mg \pm SE$) از دیسک‌های فیبری تیمار شده با عصاره مغز دانه چریش و دو فرمولاسیون تجاری در آزمون‌های با امکان و بدون امکان انتخاب برای لارو

با انتخاب		بدون انتخاب	
میانگین درصد تغذیه در تیمارهای مختلف	میانگین درصد تغذیه در شاهد	میانگین درصد تغذیه در تیمارهای مختلف	تیمارها
$14/28 \pm 6/15^*$	$22/2 \pm 1/11^*$	الف $5/28 \pm 1/60$	عصاره ۵٪
$13/09 \pm 3/15^*$	$5/63 \pm 1/15^*$	الف ب $7/38 \pm 1/40$	عصاره ۲/۵٪
$14/81 \pm 2/14$	$9/11 \pm 1/23$	ب ج $14/4 \pm 5/17$	عصاره ۱٪
$11/9 \pm 3/15^*$	$3/45 \pm 0/06$	الف ب $7/06 \pm 2/12$	نیم آزال
$18/75 \pm 2/88$	$13/68 \pm 2/09$	ب ج $17/32 \pm 2/19$	نیم پلاس
-	-	ج $23/38 \pm 6/11$	شاهد

حروف مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در $P < 0/05$ هستند.

*: در هر ردیف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در $P < 0/05$ است.

جدول ۲. سرعت تغذیه (mg/h)، شاخص ضدتغذیه‌ای (%)، شاخص دورکنندگی غذایی (%،) و کاهش وزن (گرم) لارو کرم قوزه

در تیمار با ترکیبات مختلف چریش

تیمار	شاخص دورکنندگی ($\pm SE$)	شاخص ضدتغذیه‌ای ($\pm SE$)	سرعت تغذیه (mg/h)	کاهش وزن لارو (g)
عصاره ۵٪	الف $50/12 \pm 3/03$	الف $78/33 \pm 11/67$	الف $0/19$	الف $0/003$
عصاره ۲/۵٪	الف $37/00 \pm 6/05$	الف ب $36/26 \pm 3/27$	الف $0/22$	ب $0/002$
عصاره ۱٪	ب $16/03 \pm 4/50$	ب $19/73 \pm 3/10$	الف $0/27$	ب $0/001$
نیم آزال	ب $30/95 \pm 6/81$	الف ب $49/67 \pm 9/53$	الف $0/18$	ج $0/000$
نیم پلاس	ب $25/30 \pm 3/12$	ب $13/90 \pm 1/59$	ب $0/39$	ج $0/001$

حروف مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در $P < 0/05$ هستند.

در نیم‌پلاس دیده شد. اختلاف بین عصاره ۵٪ و نیم‌پلاس معنی‌دار بود ولی بین سه تیمار دیگر اختلاف معنی‌دار نشد. کلیه تیمارها در دو گروه مختلف آماری قرار گرفتند (جدول ۲).

آثار دورکنندگی

بیشترین تأثیر دورکنندگی در تیمار با عصاره ۵٪ و کمترین آن در عصاره ۱٪ مشاهده شد. از نظر آماری غلظت‌های ۵ و ۲/۵٪ در یک گروه و غلظت ۱٪، نیم-آزال و نیم-پلاس

سرعت تغذیه به ترتیب در تیمارهای نیم‌پلاس و نیم‌آزال بوده که اختلاف بین این تیمارها در $P < 0/05$ معنی‌دار بوده است. اختلاف بین نیم‌پلاس با غلظت‌های مختلف عصاره معنی‌دار نبود. همسو با افزایش غلظت عصاره سرعت تغذیه کاهش یافت، هر چند اختلاف بین تیمارها معنی‌دار نبود (جدول ۲).

شاخص ضدتغذیه‌ای

بیشترین میزان این شاخص در تیمار با عصاره ۵٪ و کمترین آن

در گروه دیگری قرار گرفتند (جدول ۲).

بحث

ظهور ترکیبات بی‌خطر برای محیط زیست از جمله ترکیبات بازدارنده تغذیه، چشم‌اندازی نوین را در امر مبارزه با آفات پدید آورده است. از کاربردهای این مواد می‌توان به کنترل رفتار آفات بندپا، پایش جمعیت‌ها و مطالعه آن، ایجاد اختلال در رفتار تولید مثلی، مبارزه مستقیم با آفات و مصارف بهداشتی در انسان و دام اشاره کرد. در این تحقیق تلاش شد تا تأثیرات عصاره‌های مختلف دانه چریش بر کرم قوزه تعیین و با تأثیرات فرمولاسیون‌های خارجی آن مقایسه شود. آثار ضدتغذیه‌ای ترکیبات چریش در دو حالت با امکان انتخاب و بدون آن صورت گرفت. آزمون با امکان انتخاب تمایل حشره مورد آزمایش را به تغذیه از جیره غذایی تیمار شده با یک ترکیب خاص مشخص می‌سازد و در صورت عدم تمایل حشره به تغذیه، با فرض یکسان بودن ارزش تغذیه‌ای تیمار با شاهد، می‌توان نتیجه گرفت که آن ترکیب بازدارنده بوده که همین نتیجه در آزمایش ما با ترکیبات چریش به‌دست آمد. انجام آزمون ضدتغذیه‌ای در شرایط با امکان انتخاب جهت ادراک بهتر سازوکارهای حسی انتخاب غذا ضروری است (۱۲). انجام آزمون‌های ضدتغذیه‌ای بدون داشتن انتخاب نیز از این مزیت برخوردار است که با استفاده از آن می‌توان کلیه ترکیبات و عصاره‌های خالص و ناخالص با میزان قطبیت متفاوت را مورد بررسی قرار داد (۱۴).

در این بررسی اثرات ضدتغذیه‌ای ترکیبات چریش روی لارو کرم قوزه دیده شد که با نتایج کار محققین دیگر روی *Plutella xylostella*، *H. virescens*، *Helicoverpa armigera*، *Cnaphalocrocis medinalis*، *Crocidolomia biotalis* و *Mamestra brassicae* مطابقت دارد (۳۳ و ۳۰). این اثر موجب کاهش تغذیه و در نتیجه موجب کاهش وزن لاروها شد به‌طوری که لاروهای تیمار شده حتی بعد از این‌که با غذای فاقد این ترکیبات تغذیه شدند، تعویق رشد در آنها متوقف نشده و در اثر اختلال در رشد و نمو، هیچ‌یک از لاروها به شفیره تبدیل نشدند. این نتایج با تحقیقات رائو و همکاران (۲۸)

اثر ترکیبات بر رشد و نمو لاروها

مقایسه میانگین وزن لاروها پس از چهار روز تغذیه از تیمارهای مختلف نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0/05$ بود. تیمار با عصاره ۵٪ به کمترین وزن لارو منجر گردید که از نظر آماری با سایر تیمارها اختلاف داشت. بین عصاره ۲/۵٪ و ۱٪ اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. تیمار با نیم‌آزال تغییری در وزن لارو در پی نداشت و در تیمار با نیم‌پلاس حتی افزایش وزن لارو دیده شد که بین دو تیمار اخیر نیز اختلاف معنی‌دار نبود. کلیه تیمارها در سه گروه مختلف آماری قرار گرفتند. در هیچ کدام از تیمارها لاروها نتوانستند به مرحله شفیرگی برسند (جدول ۲).

LT₅₀

همان‌طور که انتظار می‌رفت مقادیر LT₅₀ در تیمار با غلظت‌ها و ترکیبات مختلف متفاوت بود. این آزمایش نشان داد که کمترین دوره زمانی (روز) برای ایجاد ۵۰٪ مرگ و میر در تیمار با غلظت ۵٪ عصاره و بیشترین آن در تیمار نیم‌پلاس بوده است. تیمارهای نیم‌آزال، عصاره ۲/۵٪ و ۱٪ در بین دو تیمار فوق قرار گرفتند. از نظر آماری در سطح $P < 0/05$ کلیه تیمارها در سه گروه آماری قرار گرفتند که اختلاف بین عصاره‌های ۵٪ و ۲/۵٪ با فرمولاسیون نیم‌آزال معنی‌دار نبود. (جدول ۳).

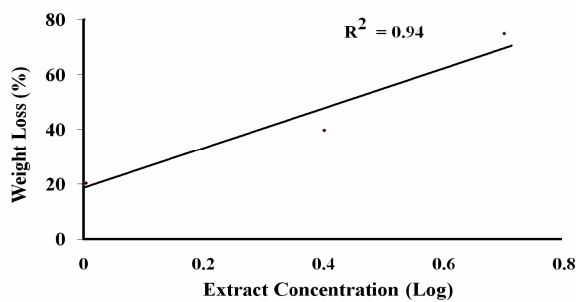
EC₅₀ و DC₅₀

محاسبه DC₅₀ بر اساس شاخص دورکنندگی غذایی در غلظت‌های مختلف عصاره موجود در جیره نشان داد که با فاصله اطمینان ۹۵٪، غلظت ۴/۷۳٪ (log = ۰/۶۷) می‌تواند سبب دورکنندگی ۵۰٪ جمعیت لاروهای آفت شود. (شکل ۱). همچنین محاسبه EC₅₀ بر اساس درصد کاهش وزن لارو در این غلظت‌ها نشان داد که در همین فاصله اطمینان، غلظت ۲/۷۳٪ (log = ۰/۴۴) عصاره می‌تواند سبب کاهش وزن در ۵۰٪ جمعیت لاروهای آفت گردد (شکل ۲).

جدول ۳. مقادیر LT_{50} و فاصله اطمینان ۹۵٪ در تیمار کرم قوزه با ترکیبات مختلف چریش

حدود اطمینان (۹۵٪)	LT_{50}	تیمار
۳/۱۲-۴/۵	الف ۳/۸۴	عصاره ۵٪
۴/۰۳-۴/۹۰	الف ۴/۵۰	عصاره ۲/۵٪
۴/۹۵-۵/۷۹	ب ۵/۳۸	عصاره ۱٪
۳/۳۹-۴/۸۴	الف ۴/۱۳	نیم آزال
۶/۷۹-۸/۵۲	ج ۷/۶۸	نیم پلاس

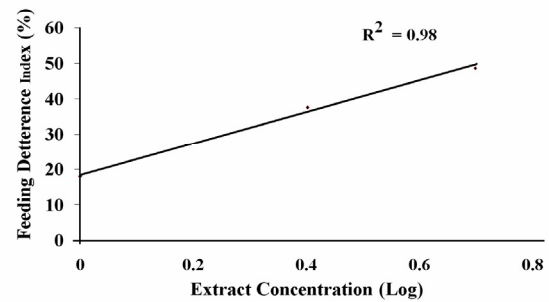
حروف مختلف نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در $P < 0.05$ هستند.



شکل ۲. درصد کاهش وزن در لاروهای کرم قوزه پنبه در ارتباط با غلظت عصاره موجود در جیره غذایی

لارو پدید آورد و دوره ایجاد مرگ و میر در این تیمار طولانی‌تر از بقیه تیمارها بود.

به نظر می‌رسد که عمده‌ترین دلیل بروز این ناهنجاری پوست‌اندازی ناقص در حشره بوده است زیرا پس از هر پوست‌اندازی کپسول سر و قسمتی از جلد بدن ثابت می‌ماند و با توجه به این‌که ماهیچه‌های آرواره‌ها طی این فرآیند ناقص می‌شوند، حشره دیگر قادر به ادامه تغذیه نبوده و به تدریج در اثر گرسنگی از بین می‌رود. چنین نتیجه‌گیری توسط فیسک و رایت (۱۶) نیز صورت گرفته است. با این وجود بلانی و همکاران (۱۲) معتقدند که ترکیبات چریش در حساسیت نرون‌های چشایی موجود در موه‌های حسی مخروطی آرواره پایین لاروهای بال‌پولکداران تغییراتی ایجاد می‌نماید که می‌تواند در تحریک شدن حشره به تغذیه اختلال ایجاد کند و در نتیجه



شکل ۱. رابطه بین شاخص دورکنندگی غذایی و غلظت‌های مختلف عصاره مغز دانه چریش در لارو کرم قوزه پنبه

هم‌خوانی دارد.

عصاره متانولی به صورت وابسته به غلظت باعث کاهش وزن لاروها شد. لاروها در کلیه تیمارهایی که با ترکیبات چریش انجام گرفت، کم تحرک و کم تغذیه شده و نهایتاً در حالتی بین لارو و شفیره باقی ماندند. در این مرحله نصف بدن حشره (سر و پاهای قفسه سینه‌ای) ویژگی‌های لاروی و نصف دیگر (ناحیه شکم) ویژگی‌های شفیرگی را نشان داد و در بدن آثار نکروز مشاهده شد. بیست روز پس از شروع آزمایش کلیه حشرات تیمار شده از بین رفتند در حالی که لاروهای شاهد در روز هجدهم به شفیره تبدیل شدند. شدت بروز ناهنجاری در کلیه تیمارها به جز تیمار با نیم‌پلاس یکسان بود. فرمولاسیون نیم‌پلاس با داشتن مقادیر کمتر ماده مؤثره آزادیراختین نسبت به بقیه تیمارها اختلال کمتری در رشد و نمو

موجب ظهور آثار ضدتغذیه‌ای شود.

مشاهده گردید. این نکته نشان از توان بالقوه کشور برای تولید ترکیبات گیاهی آفت‌کش دارد که متأسفانه تاکنون از قوه به فعل در نیامده و کمتر مورد توجه برنامه‌ریزان بوده است. می‌توان به‌جای واردات فرمولاسیون‌های تجاری، برای تولید این ترکیبات در داخل کشور سرمایه‌گذاری نمود و حتی نسبت به صادرات این ترکیبات اقدام کرد.

این تحقیق نشان داد که نژاد مورد بررسی کرم قوزه نسبت به ترکیبات چریش حساسیت دارد. با این وجود به‌دلیل این‌که کار ما در شرایط آزمایشگاهی صورت گرفته توصیه می‌شود تحقیقات بیشتری در این زمینه در شرایط مزرعه‌ای نیز انجام گیرد. امید است که با توسعه کاربرد ترکیبات چریش در مبارزه با این آفت مهم که تهدیدی جدی برای مزارع پنبه کشور به شمار می‌رود، طرحی نو در این عرصه پدید آمده و با توجه به منشأ گیاهی داشتن، بومی‌بودن، خطر کمتر برای محیط زیست و سازوکار متفاوت اعمال سمیت، که در پیشگیری از بروز مقاومت نقشی به‌سزا خواهد داشت، بتواند جایگاه مناسب خویش را در مدیریت آفات کشور بیابد.

نداشتن اثر کشندگی سریع از جمله ایراداتی است که می‌توان به ترکیبات چریش وارد نمود. این ویژگی ممکن است در امر پذیرش این ترکیبات توسط کشاورزان که معمولاً به دنبال ترکیبات با تأثیر کنترل‌کنندگی سریع و مشهود هستند تأثیر منفی بر جای بگذارد. یک راه حل می‌تواند کاربرد این مواد در اختلاط با مواد دارای خاصیت ناک‌دانی باشد که با بروز تأثیر آنی کشاورز را راضی نماید که البته این موضوع خود می‌تواند موضوع تحقیقات جداگانه‌ای باشد. راه دیگر انجام فعالیت‌های ترویجی به‌منظور اعتلای فرهنگ کشاورزان و فهماندن این حقیقت به کاربران است که کاربرد این ترکیبات با توجه به آثار زیست‌محیطی کمتر نهایتاً به نفع کشاورز تمام می‌شود.

آزمایش‌های ما نشان داد که در بسیاری از تیمارها بین عصاره استخراجی از دانه‌های درختان بومی با فرمولاسیون‌های تجاری از نظر تأثیر بر آفت اختلاف معنی‌داری وجود ندارد و حتی در مواردی از عصاره‌های استخراجی تأثیرات بهتری

منابع مورد استفاده

۱. ارومچی، س. و ک. لورا. ۱۳۷۴. ارزیابی تأثیرات عصاره آبی و سه فرمولاسیون تجاری چریش به‌عنوان سموم با منشأ طبیعی در کنترل سرخرطومی برگ یونجه. دوازدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران، کرج.
۲. ارومچی، س. و ک. ارمل. ۱۳۷۴. تعیین میزان آزادیراختین و روغن دانه درخت چریش ایرانی و اثر دو عصاره آبی و متانولی آن روی سوسک مکزیکی لوبیا. دوازدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران، کرج.
۳. اردبیلی، ژ. س. ارومچی و ک. لورا. ۱۳۷۴. بررسی تأثیر ترکیبات حشره‌کش بر پایه مواد مؤثره درخت چریش روی سوسک کلرادو در استان اردبیل. دوازدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران، کرج.
۴. باقری ع. ۱۳۷۹. بررسی مقایسه‌ای عصاره هندی و آلمانی مغز دانه چریش و سموم پیریمفوس متیل و فن پروپاترین در کنترل عسلک پنبه *Bemisia tabaci* در شرایط گلخانه‌ای پایان نامه کارشناسی ارشد گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه.
۵. بیات اسدی، ه. و ع. پورقاز. ۱۳۷۹. مقایسه تأثیر چهار عصاره گیاهی با حشره اکتیلیک در میزان مرگ و میر جمعیت عسلک پنبه *Bemisia tabaci*. چهاردهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران، اصفهان.
۶. حسینی نیا، ا. ع. ا. پور میرزا، م. ح. صفرعلیزاده و س. ارومچی. ۱۳۸۵. مقایسه تأثیر روغن دانه چریش و سموم هگزی تیاژوکس و پروپارژیت روی کنه قرمز اروپایی *Panonychus ulmi* (Acari: Tetranychidae) در شرایط آزمایشگاهی. دانش کشاورزی ۳: ۲۳۷-۲۴۵.

۷. صادقی، ا. ۱۳۷۵. حساسیت عسلک پنبه *Bemisia tabaci* به سموم شیمیایی و چریش و بررسی خصوصیات رفتاری آن نسبت به چریش و تله‌های رنگی. پایان نامه (کارشناسی ارشد) گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه.
۸. قاسم‌خانی م. و غ. حدادچی. ۱۳۸۰. مطالعه مقایسه‌ای تأثیر عصاره‌های روغنی برگچه‌ها، و میوه‌ای درخت چریش *Azadirachta indica* و زیتون تلخ *Melia azedarach* بر علیه حشرات بالغ شیشه گندم *Sitophilus granarius* L. پژوهش و سازندگی ۵۱: ۵۴ - ۵۶.

9. Abbott, W. S. 1925. A method of computing effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.
10. Ahmad, M., M. Arif and Z. Ahmad. 1999. Pattern of resistance to organophosphate insecticides in field populations of *Helicoverpa armigera* in Pakistan. Pesticide Sci. 55: 626-632.
11. Armes, N., G. S. Bond and R. J. Cooter. 1992. The laboratory culture and development of *Helicoverpa armigera*. Natur. Resour. Instit. Bull. 57: 22.
12. Blaney, W. M., M. S. J. Simmonds, S. V. Ley, J. C. Anderson and P. L. Toogood. 1990. Antifeedant effects of azadirachtin and structurally related compounds on lepidopterous larvae. Entomol. Experiment. Appl. 55: 149-160.
13. Butterworth, J.H. and E.D. Morgan. 1968. Isolation of a substance that suppresses feeding in locust. Chemic. Commun. 35: 23-24.
14. Cole, M. D. 1994. Systematic review paper: Key antifungal, antibacterial and antiinsect assays, acritical review. Biochem. Syst. Ecol. 22: 837-856.
15. Dinan, L. 2001. Phytoecdysteroids: Biological aspects. Phytochemistry 57: 325-339.
16. Fisk, T. and J. Wright. 1992. Speed of action and toxicity of acylurea insect growth regulators against *Spodoptera exempta* (Walk.) and *Spodoptera littoralis* (Boisd.) larvae : effect of inter-moult age Pestic. Sci. 35: 175-182.
17. Gujar, G. T. 1997. Biological effects of azadirachtin and plumbagin on *Helicoverpa armigera*. Ind. J. Entomol. 59: 415-422.
18. Hassan, E. 1999. The insecticidal effects of neem seed kernel extract on eggs and larvae of *Helicoverpa armigera* (Hubner). Z. Pflanzenk.Pflanzensch 106: 523-529.
19. Heyde, J.V.D., R.C. Saxena and H. Schmutterer. 1984. Neem oil and neem extracts as. potential insecticides for control of hemipterous rice pests. Schrifteureiche GTZ 161: 377-390.
20. Hoffmann, K.H. and M.W. Lorenz. 1998. Recent advances in hormones in insect pest control. Phytoparasitica 26: 323-330.
21. Isman, M. B., O. Koul, A. Lucynski and J. Kaminski. 1990. Insecticidal and antifeedant bioactivities of neem oils and their relationship to azadirachtin content. J. Agric. Food Chem. 38: 1406-1411.
22. Ling, M. A., G. Gordon and M. Zalucki. 2000. Biological effects of azadirachtin on *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera, Noctuidae) fed on cotton and artificial diet. Aust. J. Entomol. 39: 301-304.
23. Murugan, K., D. Jeyabalan, N. Senthil-Kumar, R. Babu, S. Sivaramkrishnan and S. Senthil-Nathan. 1998. Antifeedant and growth-inhibitory properties of neem limonoids against the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Hubner). Insect Sci. Applic. 18: 157-162.
24. Neoliya, N. K., D. Singh and R. S.Sangwan. 2007. Azadirachtin-based insecticides induce alteration in *Helicoverpa armigera* Hub. head polypeptides. Current Sci. 92: 94-99.
25. Opende, K., M. Singh and G. Singh. 2003. 6 beta-hydroxygedunin from Azadirachtin indica. Its potentiation effects with some non-azadirachtin limonoids in neem against lepidopteran larvae. J. Agric. Food Chem. 51: 2942-2947.
26. Pradhan, S., M. G. Jotwani and B. K. Rai. 1962. The neem seed. deterrent to locusts. Indian Farm. 12: 7 - 11.
27. Rao, P. J., K. M. Kumar and S. Singh. 1999. Effect of *Artemisia annua* oil on development and reproduction of *Dysdercus koenigii* F.(Hem.,Pyrrhocoridae) J. Appl. Entomol. 123:315-318.
28. Rao, B. R., P. Rajasekhar, M. Venkataiah and N. V. Rao. 1995. Bioefficacy of NeemAzal (Azadirachtin 10000 ppm) against cotton boll worm, *Helicoverpa armigera* Hubner. J. Entomol. Res. 19: 329- 333.
29. Rassipour, A. 1997. Report of Islamic Republic of Iran. PP. 29-45. In: Lyon, B. (Ed.), Cotton Pest and Its Control in the Near East. FAO, Rome, Italy.
30. Seljasen, R. and R. Meadow. 2006. Effects of neem on oviposition and egg and larval development of *Mamestra brassicae* L., Dose response, residual activity, repellent effect and systemic activity in cabbage plants. Crop Prot. 25: 338-345.
31. Shorey H. H. and R. L. Hale. 1965. Mass rearing of the larvae of nine noctuid species on a simple artificial medium. J. Econ. Entomol. 58: 522-524.
32. Sinha, S. N. 1993. Control of *Helicoverpa armigera* Hb. infesting chickpea: field efficacy of neem products and insect growth regulators. Indian J. Plant Protec. 21: 80-84.

33. Verkerk, R. H. J. and D. J. Wright. 1993. Biological activity of neem seed kernel extracts and of synthetic azadirachtin against larvae of *Plutella xylostella* L. *Pestic. Sci.* 37: 83-91.
34. Wheathersbee, A.A. and Y.Q.Tang. 2002. Effect of neem seed extract on feeding, growth, survival and reproduction of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) *J. Econ. Entomol.* 95: 661-667.
35. Xie, Y.S., P.G. Fields and M.B. Isman. 1995. Repellency and Toxicity of Azadirachtin and Neem Concentrates to Three Stored-Product Beetles. *J. Econ. Entomol.* 88: 1024-1031.