

تأثیر گازهای دی‌اکسیدکربن و آمونیاک روی حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات

Sitophilus granarius و شپشه گندم *Callosobruchus maculatus*

دریافت: ۹۹/۲/۲۵ بازنگری: ۹۹/۵/۲۲ پذیرش: ۹۹/۶/۲۴

هادی شهاب غیور^۱، اروج ولیزادگان^۲✉، شهرام آرمیده^۳

به ترتیب^۱ دانشجوی دکتری،^۲ دانشیار (O.valizadegan@urmia.ac.ir)✉،^۳ استادیار، گروه حشره‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

چکیده

سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات *Callosobruchus maculatus* و شپشه گندم *Sitophilus granarius* از مهمترین آفات انباری هستند که با تغذیه از دانه‌های حبوبات و غلات موجب خسارت‌های سنگین می‌شوند. به دلیل اهمیت اقتصادی آفات انباری و مقاوم شدن آنها نسبت به ترکیبات تدخینی رایج، جایگزین کردن ترکیبات مناسب دیگر در امر کنترل ضروری می‌باشد. تحقیقات نشان داده است که اتمسفر تغییر یافته می‌تواند موجب مرگ و میر تعداد زیادی از گونه‌های آفات انباری شود. لذا در این تحقیق، اثر این روش بر پایه استفاده از گازهای دی‌اکسیدکربن و آمونیاک در داخل شیشه‌های بی‌هوای علیه حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات و شپشه گندم به تنهایی و در ترکیب با هم، مورد بررسی قرار گرفت. میزان مرگ و میر بعد از ۲۴ ساعت ثبت گردید. مقادیر LC₅₀ دی‌اکسیدکربن روی حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات و شپشه گندم به ترتیب برابر با ۱۳۲۲/۵۳ و ۱۲۸۳/۹۶ پی‌پی‌ام به دست آمد. این مقادیر برای گاز آمونیاک روی دو آفت مذکور به ترتیب برابر با ۲۵۰/۲۴ و ۳۶۶/۷۹ پی‌پی‌ام بود. مرگ و میر ناشی از اختلاط گاز دی‌اکسیدکربن و آمونیاک (در مقادیر LC₂₅) روی حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات و شپشه گندم به ترتیب ۸۶/۶۷ و ۹۳/۳۳ درصد برآورد شد. اثر غلظت‌های ۲۲۳۸/۷۲ و ۳۶۳۰/۷۸ پی‌پی‌ام گاز دی‌اکسیدکربن و غلظت‌های ۴۲۶/۵۸ و ۵۴۹/۵۵ پی‌پی‌ام گاز آمونیاک روی جوانه زنی لوبیا چشم بلبلی و گندم نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. در تمامی موارد میزان جوانه‌زنی بذور بالای ۹۸ درصد بود.

کلمات کلیدی: اتمسفر تغییر یافته، جوانه‌زنی بذر، سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات، شپشه گندم

Fumigant effect of carbon dioxide and ammonia gases on adults of *Callosobruchus maculatus* and *Sitophilus granarius*

Received: 14 May 2020

Revised: 12 Aug 2020

Accepted: 14 Sep 2020

Shahab Ghayoor Hadi¹, Valizadegan Orourj²✉, Aramideh Shahram³

Respectively, ¹PhD Student, ²Associate Professor (O.valizadegan@urmia.ac.ir)✉, ³Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran.

Abstract

Callosobruchus maculatus and *Sitophilus granarius* are two of the most important pests of stored products and cause heavy damage. Due to economic importance of stored product pests and resistance potential of them to conventional fumigants, it is necessary to replace these insect control agents with novel and safe compounds. Modified atmosphere is a valuable method to control some stored product pests. In this research effect of this method based on the use of carbon dioxide and ammonia was evaluated against adult stages of *C. maculatus* and *S. granarius* alone and in combination with each other in glass anaerobic jars. Mortality was recorded after 24 h. The LC₅₀ values of carbon dioxide for *C. maculatus* and *S. granarius* were estimated 1322.53 and 1283.96 ppm, respectively. The LC₅₀ values of ammonia for these pests were estimated 250.24 and 366.79 ppm, respectively. The mixture of carbon dioxide and ammonia (in LC₂₅ values) caused a mortality rate of 86.67 and 93.33 % on the adults of *C. maculatus* and *S. granarius* respectively. The effects of carbon dioxide and ammonia were also evaluated against germination rate of cowpea and wheat seeds at 2238.72, 3630.78 and 426.58, 549.55 ppm, respectively. Germination rate was up to 98 percent.

Keywords: Modified atmosphere, Seed germination, *Callosobruchus maculatus*, *Sitophilus granaries*

How to cite:

Shahab Ghayoor H, Valizadegan O, Aramideh Sh, 2020. Fumigant effect of carbon dioxide and ammonia gases on adults of *Callosobruchus maculatus* and *Sitophilus granaries*. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 9(3): 77-86.

مقدمه

غلات مهمترین منبع انرژی انسان هستند. طبق تحقیقات صورت گرفته این دسته از مواد در کشورهای در حال توسعه تمام رژیم غذایی را در بر می‌گیرند. غلات عمدتاً حاوی هیدرات کربن، پروتئین، چربی، مواد معدنی و انواع ویتامین بوده و بیشترین شکل انرژی خود را به‌صورت نشاسته عرضه می‌کنند. استفاده از دانه کامل غلات منبع بسیار خوبی برای اسیدهای چرب ضروری و فیبر گیاهی می‌باشد (Sepasgozarian 1978). همچنین طبق برآوردهای موجود، حبوبات با داشتن ۲۰-۳۰ درصد پروتئین، پس از غلات دومین منبع غذایی مهم بشر محسوب می‌شوند (Tajik et al. 2015). غلات و حبوبات مهمترین منابع تغذیه‌ای انسان را تشکیل می‌دهند و این محصولات پس از برداشت تا زمان مصرف در انبارها نگهداری می‌شوند (Talukder 2009). یکی از مهمترین مشکلات در نگهداری این محصولات در انبارها، وجود آفات مختلف انباری است. آفات انباری به‌دلیل پراکنش گسترده، قدرت تکثیر بالا و چندخوار بودن، خسارت بالایی را به محصولات انباری وارد می‌کنند به‌طوری‌که در انبارهای سنتی میزان خسارت آنها تا ۱۰۰ درصد نیز گزارش شده است (Arthur 1992). سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae) آفتی چندخوار بوده که از دانه‌های بقولات مختلف مانند لوبیا و وارپته‌های آن، نخود، ماش، عدس، باقلا و غیره تغذیه می‌کند (Bagheri Zenouz, 1997). بیشترین خسارت آفت مربوط به مرحله لاروی است که با تغذیه از مواد غذایی درون دانه، علاوه بر کاهش وزنی دانه‌ها بازارپسندی محصول را به‌میزان زیادی کاهش می‌دهد (Ali et al. 2004). شپشه گندم *Sitophilus granarius* L. (Coleoptera: Curculionidae) یکی از مهمترین و عمومی‌ترین آفات انباری غلات می‌باشد که سالانه خسارت‌های هنگفتی را در سراسر دنیا سبب می‌شود. مهمترین مرحله خسارت‌زای این آفت مرحله لاروی است که از دانه‌های غلات خصوصاً گندم و جو تغذیه می‌کند. حشره ماده داخل دانه‌های غلات تخم‌گذاری می‌کند (Keyhanian 2002; Rahman et al. 2003) و لاروها پس از خروج وارد دانه شده و تغذیه را شروع می‌کنند. در خسارت شدید از دانه‌ها فقط پوست آنها باقی می‌ماند.

به‌منظور اجتناب از خسارت آفات انباری، اغلب از ترکیبات شیمیایی مصنوعی استفاده می‌شود (Talukder 2009). استفاده از این ترکیبات مشکلاتی از قبیل مقاومت، آلودگی‌های زیست

محیطی، مسمومیت در انسان و سایر موجودات غیر هدف را به دنبال دارد (Golestani Kalat et al. 2014). در میان روش‌های مدیریت آفات انباری، استفاده از ترکیبات شیمیایی تدخینی (فومیگانت‌ها) متداولترین و کارآمدترین روش شناخته شده می‌باشد. فسفین (تهیه شده از فسفید آلومینیوم، با فرمولاسیون قرص) و متیل بروماید (قابل دسترس به صورت درون کپسول و قوطی‌های فلزی) دو سم تدخینی عمومی برای حفاظت از محصولات انباری در سرتاسر جهان می‌باشند (Benhalima et al. 2004). مطابق پروتکل مونترال استفاده از متیل بروماید به‌دلیل از بین بردن لایه اوزون جو زمین می‌بایست تا سال ۲۰۱۵ در سراسر دنیا متوقف می‌شد. گاز فسفین به‌دلیل هزینه پایین و کاربرد آسان به‌عنوان جایگزین کلیدی متیل بروماید، به‌طور گسترده‌ای برای از بین بردن آفات انباری مورد استفاده قرار گرفته است. متأسفانه وجود گزارشاتی از مقاومت برخی گونه‌ها نسبت به فسفین، بیانگر امکان شکست کنترل آفات انباری توسط فسفین است (Emekci 2010; Nayak et al. 2003). امروزه استفاده از اتمسفر تغییر یافته (Modified atmosphere) بر مبنای افزایش مقدار حجمی گاز دی‌اکسید کربن و نیتروژن و کاهش گاز اکسیژن در محیط، مورد آزمایش قرار گرفته است و در کنترل تعداد زیادی از آفات انباری محصولات مختلف غذایی، غلات و خشکبار نتایج مطلوبی به‌همراه داشته است. اتمسفر تغییر یافته از نظر فنی جایگزین مناسبی برای فومیگانت‌های رایج محسوب می‌گردد (Adler et al. 2002). گاز دی‌اکسید کربن برای کنترل آفات انباری محصولات مختلفی از قبیل گندم، میوه‌جات و آجیل مورد مطالعه قرار گرفته است. این فومیگانت باعث افزایش فعالیت تنفسی حشره شده و متعاقب این عمل، گاز بیش‌تری وارد سیستم تراشه‌ای و بدن حشره می‌گردد، در نتیجه حشره سریعتر از بین می‌رود (Sekhon et al. 2010). استفاده از گاز آمونیاک به‌عنوان یک فومیگانت، بیش از پنجاه سال پیش معرفی و مورد ارزیابی قرار گرفته است، اما به‌دلایل متعددی از جمله نیاز به آموزش‌های لازم برای استفاده از آن، مورد تصویب قرار نگرفته است. استفاده از این ترکیب به‌عنوان ابزار مهمی در کنترل پاتوژن‌های (قارچی) مقاوم معرفی شده است و در بررسی‌های مختلف استفاده از آن، گزارش شده است که این ترکیب هیچ باقیمانده‌ای روی ترکیبات غذایی ندارد و حتی ممکن است به‌عنوان یک ترکیب ارگانیک بدون باقیمانده مضر معرفی شود (Montesinos et al. 2011). در این تحقیق کارایی

تهویه مناسب و عدم خروج حشرات به اتاق پرورش، در قسمت سرپوش ظروف پلاستیکی دریچه‌ای ایجاد و با پارچه توری ظریف پوشانیده شد. در هفته اول پرورش برای جلوگیری از کپک‌زدگی محیط کشت، روزانه گندم‌ها به آرامی زیر و رو گردیدند. بعد از سه سل خالص‌سازی، برای انجام آزمایشات از حشرات کامل استفاده شد.

بررسی اثر گازهای دی اکسیدکربن و آمونیاک روی حشرات کامل شیشه گندم و سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات

برای تامین گاز دی اکسیدکربن مورد نیاز از کپسول ۵۰ کیلویی و گاز آمونیاک مورد نیاز از کپسول ۳۰ کیلویی تحت فشار که توسط اداره آتش نشانی ارومیه شارژ شده بود، استفاده گردید. آزمایشات طبق روش (Gilberg 1989) با اندکی تغییرات انجام شدند.

تعداد ۳۰ عدد حشره کامل یک تا دو روزه از هر یک از آفت‌های مورد بررسی، به‌طور جداگانه داخل پتری‌های پلاستیکی هشت سانتی‌متری و حاوی دو گرم از مواد غذایی حشرات قرار گرفتند. گازدهی روی حشرات در داخل شیشه‌های بی‌هوازی سه لیتری انجام شد. پتری‌ها داخل شیشه‌های بی‌هوازی قرار داده شدند. شیشه‌های بی‌هوازی دارای یک درب مخصوص فلزی بودند که روی آنها شیرهای ورود و خروج به‌طور جداگانه تعبیه شده بود. از این دریچه‌ها برای ایجاد شرایط خلا و همچنین تزریق گاز استفاده شد. قبل از عمل گازدهی هوای داخل شیشه توسط پمپ خلا (مدل Varian DSE 42, Germany) خارج گردید و بلافاصله عمل گازدهی انجام شد.

کپسول گاز به شیر شیشه بی‌هوازی محکم شده و سپس با باز کردن شیر ورودی، گاز به داخل شیشه تزریق شد. برای محاسبه وزن گاز خروجی از کپسول در واحد زمان بر حسب ثانیه، از تزریق حجم معینی از گاز به‌داخل کیسه‌های پلاستیکی استفاده شد. اندازه‌گیری زمان تزریق توسط زمان‌سنج با دقت یک صدم ثانیه کنترل شد. در آزمایشات مقدماتی این عمل در مدت زمان پنج، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ ثانیه و در سه تکرار انجام گرفت. پس از محاسبه میانگین تکرارهای تزریق، وزن گاز بر حسب گرم طبق زمان‌های مختلف تزریق، محاسبه و غلظت آن در حجم شیشه بی‌هوازی بر مبنای پی‌پی‌ام محاسبه شد.

با توجه به نتایج حاصل از آزمایشات مقدماتی، جهت برآورد مقادیر LC₅₀، غلظت‌های به دست آمده بین ۲۵ تا ۷۵ درصد

حشره‌کشی آمونیاک روی حشرات کامل دو گونه مهم آفات فراورده‌های انباری، شیشه گندم و سوسک چهار نقطه‌ای به تنهایی و در ترکیب با گاز دی اکسید کربن مورد ارزیابی قرار گرفت. همچنین اثر استفاده از این فومیگانت‌ها روی جوانه‌زنی دانه‌های گندم و لوبیا چشم بلبلی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

پرورش سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات

سوسک چهار نقطه‌ای مورد استفاده در آزمایش‌ها از اتاق پرورش حشرات انباری دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه دریافت شد. قبل از شروع آزمایش‌ها، ابتدا آفت به‌مدت دو نسل روی لوبیا چشم بلبلی پرورش داده شد. دانه‌های لوبیا قبل از استفاده به‌مدت ۲۴ ساعت در فریزر قرار داده شدند تا آلودگی‌های احتمالی به آفات حذف شوند. برای پرورش ظروف پلاستیکی به قطر ۱۰ و ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر مورد استفاده قرار گرفتند. وزن ماده غذایی درون هر ظرف پلاستیکی ۲۰۰ گرم در نظر گرفته شد. سپس تعداد ۵۰ عدد حشره کامل (بدون توجه به جنسیت) به‌داخل ظروف رهاسازی شد. در قسمت سرپوش ظروف جهت تامین تهویه، دریچه‌ای ایجاد و با پارچه توری پوشانده شد. ظروف پرورش در اتاق رشد با دمای 27 ± 2 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد و تاریکی مطلق قرار داده شدند. حشرات کامل پس از تخم‌ریزی و مرگ، به کمک آسپیراتور جداسازی شدند و دانه‌های لوبیا حاوی تخم آفت به‌درون ظروف پرورش برگردانده شدند.

پرورش شیشه گندم

برای پرورش این حشره از دانه‌های سالم گندم استفاده گردید. دانه‌های گندم قبل از استفاده به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای فریزر قرار داده شدند تا در صورت وجود مراحل زیستی آفات دیگر، این آلودگی‌ها حذف شوند. برای بالا بردن رطوبت دانه‌ها، آن‌ها به مدت دو دقیقه در آب خیسانده شدند و سپس به مدت ۱۲ ساعت در هوای اتاق بصورت پهن شده قرار گرفتند. در ادامه حدود یک کیلوگرم از این ماده غذایی آماده به‌ظروف پلاستیکی دهان گشاد منتقل گردید و تعداد ۱۰۰ عدد حشره کامل (بدون توجه به جنسیت) به‌ظروف حاوی گندم انتقال یافتند. ظروف پرورش در اتاق رشد با دمای 27 ± 2 درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد و تاریکی مطلق قرار داده شدند. به‌منظور

زیست سنجی، از رگرسیون پروبیت با نرم افزار SPSS version 17.0 استفاده شد. برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی در سطح احتمال آماری یک درصد با روش ANOVA یک طرفه استفاده شد. محاسبه اثر سینرژیستی طبق فرمول $\% C_{exp} = A - (AB/100) + B$ انجام گرفت، که در آن A و B میزان درصد مرگ و میری هستند که توسط هر یک از گازها به تنهایی به دست آمده‌اند. AB درصد مرگ و میر حاصل از ترکیب دو گاز را نشان می‌دهد. $\% C_{exp}$ نیز بیانگر درصد مرگ و میر مورد انتظار (Expected mortality) می‌باشد (Gisi 1996). طبق این روش هر گاه حاصل نسبت بین درصد مرگ و میر مشاهده شده (Observed mortality) $(\% C_{obs})$ و درصد مرگ و میر مورد انتظار $(Ratio = \frac{C_{obs}}{C_{exp}})$ بیشتر از یک باشد، اثر سینرژیستی بین دو ترکیب را نشان می‌دهد و اگر مقدار آن کمتر از یک باشد، بیانگر اثر آنتاگونیستی می‌باشد. رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel 2013 انجام شد.

نتایج و بحث

اثر غلظت‌های مختلف گاز دی اکسید کربن و آمونیاک روی حشرات کامل شپشه گندم و سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات
با تجزیه پروبیت داده‌های به‌دست آمده از گازدهی حشرات کامل دو آفت، غلظت‌های کشنده ۵۰ درصد این حشرات برآورد گردید. با توجه به نتایج به‌دست آمده حساسیت حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات و شپشه گندم به گاز دی اکسید کربن اختلاف زیادی با هم نداشتند و مقدار LC_{50} آنها به‌ترتیب برابر با $1322/53$ و $1283/96$ پی‌پی‌ام بود. اما در مورد گاز آمونیاک حساسیت بیشتری در سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات نسبت به شپشه گندم مشاهده شد. مقدار LC_{50} آمونیاک برای این دو آفت به‌ترتیب $242/01$ و $462/15$ پی‌پی‌ام به دست آمد (جدول ۱).

نتایج به دست آمده از تجزیه آماری اثر غلظت‌های مختلف گاز دی اکسید کربن و آمونیاک روی حشرات کامل شپشه گندم نشان داد که بین غلظت‌های مختلف گاز دی اکسید کربن ($F = 179.41, df = 4, P < 0.001$) و گاز آمونیاک ($F = 163.93, df = 4, P < 0.001$) اختلاف معنی‌دار وجود دارد. در مورد هر دو گاز با افزایش میزان غلظت گاز به‌میزان تلفات حشرات کامل شپشه گندم افزوده شد (جدول ۲).

تلفات از گازهای دی اکسید کربن و آمونیاک علیه حشرات کامل شپشه گندم و سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات به دست آمد. تمامی آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شدند. شیشه‌های بی‌هوازی پس از انجام عمل گازدهی، در اتاق رشد حشرات قرار گرفتند. مرگ و میر پس از گذشت ۲۴ ساعت ثبت شد.

بررسی اثر ترکیب گازهای دی اکسید کربن و آمونیاک روی حشرات کامل شپشه گندم و سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات
به منظور بررسی اثر تلفیق گازهای آمونیاک و دی اکسید کربن مطابق با روش (Ashtari et al. 2012) و (Gisi 1996) مقادیر LC_{25} دو گاز با هم ترکیب و تاثیر ترکیب حاصل مشابه روش شرح داده شده در قسمت قبلی روی مرحله حشرات کامل دو آفت شپشه گندم و سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات مورد بررسی قرار گرفت. در شاهد عمل گازدهی انجام نشد. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. مرگ و میر حشرات بعد از گذشت ۲۴ ساعت شمارش و ثبت شد.

آزمون جوانه‌زنی

به‌منظور انجام آزمون جوانه‌زنی، دانه‌های گندم و لوبیا چشم بلبلی، از روش استاندارد (ISTA 2009) استفاده شد. دانه‌های مورد آزمایش در ابتدا با بالاترین غلظت به کار برده شده از گازهای آمونیاک و دی اکسید کربن، گازدهی شدند. سپس از ظرف‌های پتری به قطر ۲۰ سانتی‌متر استفاده شد. کف ظرف‌ها یک لایه کاغذ صافی واتمن استریل شده قرار گرفت. کاغذهای صافی توسط آب مقطر استریل به‌مقدار هفت میلی لیتر مرطوب شدند. تعداد ۱۰۰ عدد دانه گازدهی شده به‌طور تصادفی انتخاب و در چهار ردیف ۲۵ تایی داخل پتری‌ها گذاشته شدند. در نهایت یک لایه دیگر کاغذ صافی روی آنها قرار گرفت و به‌مقدار لازم مرطوب شد. آزمایش در سه تکرار انجام شد. پتری‌ها در داخل انکوباتور با شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی و دمای 23 ± 1 درجه سلسیوس به‌مدت هشت روز قرار داده شدند. سپس دانه‌های جوانه‌زده شمارش گردیدند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شدند. برای تعیین مقادیر LC_{50} و LC_{25} داده‌های مربوط به

جدول ۱. نتایج تجزیه پروبیت اثر گازهای دی اکسید کربن و آمونیاک روی حشرات کامل *Sitophilus granarius* و *Callosobruchus maculatus* پس از گذشت ۲۴ ساعت.

Table 1. Results of probit analysis of effect of carbon dioxide and ammonia gases on adults of *Sitophilus granarius* and *Callosobruchus maculatus* after 24 h.

Gas	Insect	N	$\chi^2(df)$	Slope $\pm$ SE	LC ₂₅ (ppm)	LC ₅₀ (ppm)
CO ₂	<i>S. granaries</i>	450	2.78(3)	2.76 $\pm$ 0.36	739.92 (585.72-843.99)	1283.96 (1158.42-1427.88)
	<i>C. maculatus</i>	450	2.09 (3)	1.48 $\pm$ 0.19	462.15 (306.73-603.85)	1322.53 (1091.53-1612.62)
NH ₃	<i>S. granarius</i>	450	4.16(3)	3.74 $\pm$ 0.50	242.01 (201.01-269.29)	366.79 (339.97-396.72)
	<i>C. maculatus</i>	450	4.93(3)	3.37 $\pm$ 0.45	157.89 (131.25-177.79)	250.24 (230.04-272.90)

(F = 328.32, df = 4, P<0.001) اختلاف معنی دار وجود دارد. در مورد هر دو گاز با افزایش میزان غلظت گاز به میزان تلفات حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات افزوده شد (جدول ۳).

نتایج به دست آمده از تجزیه آماری اثر غلظت‌های مختلف گاز دی اکسید کربن و گاز آمونیاک روی حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات نشان داد که بین غلظت‌های مختلف گاز دی اکسید کربن (F = 349.90, df = 4, P<0.001) و گاز آمونیاک

جدول ۲. میانگین درصد تلفات حشرات کامل *Sitophilus granarius* در اثر غلظت‌های مختلف گاز دی اکسید کربن و آمونیاک.

Table 2. Mean percent mortality of adults of *Sitophilus granarius* exposed to different concentrations of carbon dioxide and ammonia gases.

Gas	Concentration (ppm)	Mortality (%) $\pm$ SE	Ranking*
CO ₂	700.12	28.66 $\pm$ 0.11	D
	958.99	39.81 $\pm$ 1.17	C
	1258.92	43.28 $\pm$ 0.01	C
	1659.59	52.75 $\pm$ 1.21	B
	2200.32	61.16 $\pm$ 1.37	A
NH ₃	229.19	30.17 $\pm$ 1.51	D
	309.02	40.39 $\pm$ 0.58	C
	363.08	43.85 $\pm$ 0.57	C
	426.58	52.70 $\pm$ 1.20	B
	549.55	63.43 $\pm$ 0.01	A

*The different letters are significantly different at 1% level (Tukey test).

مورد بررسی به میزان زیادی بالا برد. به عبارت دیگر، طبق نتایج حاصل در مورد هر دو آفت، نسبت بین درصد مرگ و میر مشاهده شده و درصد مرگ و میر مورد انتظار بیشتر از یک به دست آمد و بیانگر اثر سینرژیستی بود (جدول ۴). تلفات ناشی از غلظت کشنده ۵۰ درصد گاز آمونیاک و گاز دی اکسید کربن روی آفت *S. granarius* به ترتیب برابر با ۴۳/۳۳ و ۴۶/۶۷ درصد بود. این مقادیر در مورد آفت *C. maculatus* به ترتیب برابر با ۴۲/۳۳ و ۴۲/۶۷ درصد بودند.

بررسی اثر تلفیق گاز دی اکسید کربن و گاز آمونیاک روی حشرات کامل *S. granarius* و *C. maculatus*

در این آزمایش غلظت‌های مورد استفاده (مقادیر LC₂₅) در مخلوط دو گاز برای حشرات کامل *S. granarius* (۲۴۲/۰۱) و *C. maculatus* (۱۵۷/۸۹) + ۷۳۹/۹۲ دی اکسید کربن) پی‌پی‌ام و برای حشرات کامل *C. maculatus* (۱۵۷/۸۹) + ۴۶۲/۱۵ دی اکسید کربن) پی‌پی‌ام برآورد شد. نتایج آزمایش نشان داد که ترکیب مقادیر زیر کشنده این دو گاز، اثر کشندگی را در هر دو آفت

جدول ۳. میانگین درصد تلفات حشرات کامل *Callosobruchus maculatus* در اثر غلظت‌های مختلف گاز دی اکسید کربن و آمونیاک.

Table 3. Mean percent mortality of adults of *Callosobruchus maculatus* exposed to different concentrations of carbon dioxide and ammonia gases.

Gas	Concentration (ppm)	Mortality (%) $\pm$ SE	Ranking*
CO ₂	446.68	27.96 $\pm$ 0.69	D
	707.95	39.22 $\pm$ 1.01	C
	1258.93	43.28 $\pm$ 0.01	C
	2238.72	51.36 $\pm$ 0.58	B
	3630.78	62.04 $\pm$ 0.71	A
NH ₃	151.37	32.58 $\pm$ 0.63	E
	199.53	40.40 $\pm$ 0.58	D
	251.19	44.43 $\pm$ 0.57	C
	316.23	51.66 $\pm$ 0.59	B
	371.53	62.17 $\pm$ 0.69	A

*The different letters are significantly different at 1% level (Tukey test).

جدول ۴. تلفات حشرات کامل *Sitophilus granarius* و *Callosobruchus maculatus* تحت تاثیر ترکیب دو گاز دی اکسید کربن و آمونیاک بعد از گذشت ۲۴ ساعت.

Table 4. Adults mortality of *Sitophilus granaries* and *Callosobruchus maculatus* exposed to mixture of carbon dioxide and ammonia gases after 24 h.

Insect	n	Concentration (ppm) (CO ₂ +NH ₃)	Expected mortality (%) $\pm$ SE	Observed mortality (%) $\pm$ SE	Ratio*
<i>S. granarius</i>	450	739.92 + 242.01	89.06 $\pm$ 0.11	93.33 $\pm$ 0.58	>۱
<i>C. maculatus</i>	450	462.15 + 157.89	84.13 $\pm$ 0.33	86.67 $\pm$ 0.56	>۱

*Ratio: ratio between observed and expected mortality (%).

اثر غلظت‌های مختلف گاز دی اکسید کربن روی قدرت جوانه

زنی دانه‌های گندم و لوبیا چشم بلبلی

غلظت‌های ۳۶۳۰/۷۸ و ۲۲۳۸/۷۲ پی‌پی‌ام از گاز دی اکسید

کربن برای بررسی اثر گاز بر قدرت جوانه‌زنی گندم و لوبیا چشم

بلبلی به کار برده شدند. طبق نتایج به‌دست آمده، بین درصد

جوانه‌زنی دانه‌های گندم و دانه‌های لوبیا که در معرض بالاترین

غلظت به کار رفته از گاز دی اکسید کربن قرار داشتند در مقایسه

با شاهد، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($F = 1.43$; $df = 4, 10$;

$P = 0.294$) (نمودار ۱). در تمامی نمونه‌های گازدهی شده، درصد

جوانه‌زنی بالای ۹۸ درصد به‌دست آمد.

اثر غلظت‌های مختلف گاز آمونیاک روی قدرت جوانه زنی

دانه‌های گندم و لوبیا چشم بلبلی

غلظت‌های ۵۴۹/۵۵ و ۴۲۶/۵۸ پی‌پی‌ام از گاز آمونیاک برای

بررسی اثر گاز بر قدرت جوانه‌زنی گندم و لوبیا چشم بلبلی به کار

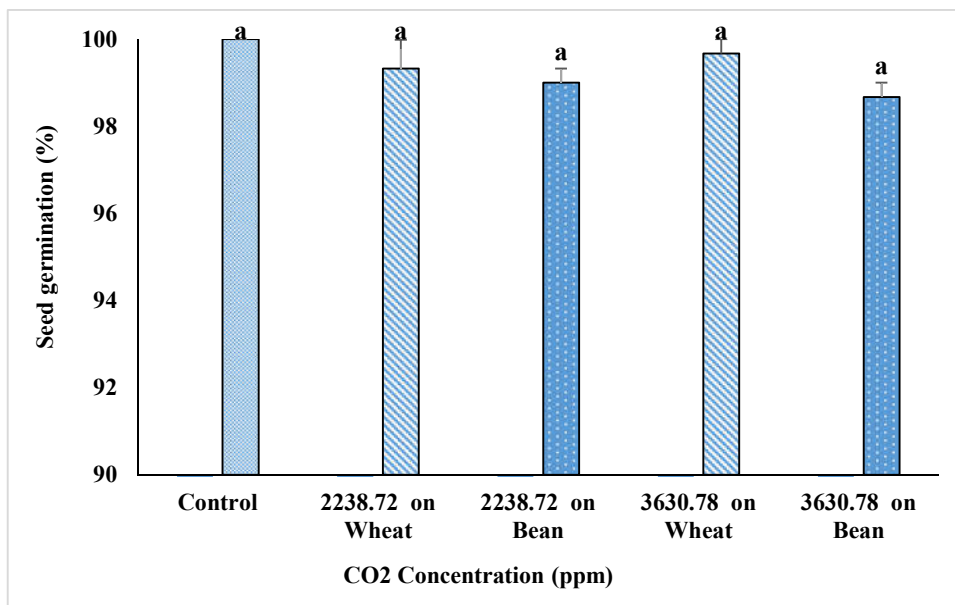
برده شدند. نتایج نشان داد که بین درصد جوانه‌زنی بذره‌های لوبیا

چشم بلبلی و دانه‌های گندم که در معرض بالاترین غلظت به کار

رفته از گاز آمونیاک قرار داشتند، اختلاف معنی‌داری مشاهده

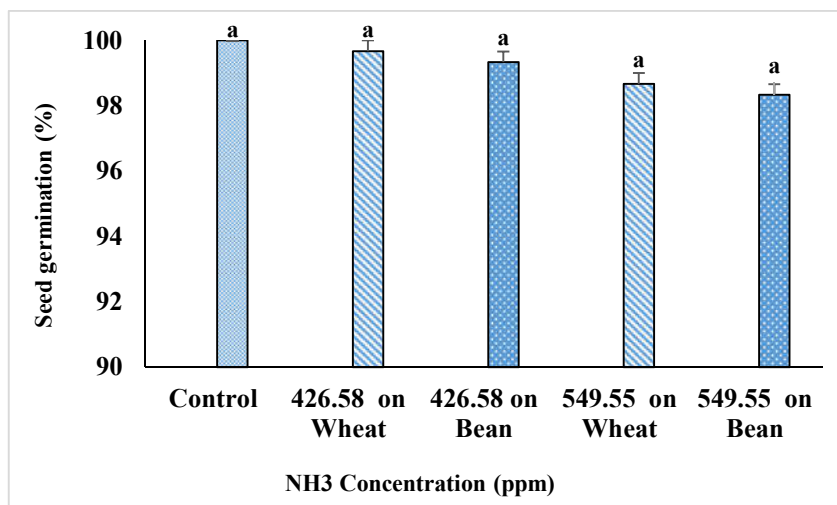
نشد ($F = 5.37$; $df = 4, 10$; $P = 0.014$) (نمودار ۲). در تمامی

نمونه‌های گازدهی شده درصد جوانه‌زنی بالای ۹۸ درصد بود.



شکل ۱. اثر غلظت‌های مختلف گاز دی اکسید کربن روی جوانه‌زنی بذور لوبیا چشم بلبلی و گندم.

Figure 1. Effect of different carbon dioxide concentrations on germination of cowpea and wheat seeds.



شکل ۲. اثر غلظت‌های مختلف گاز آمونیاک روی جوانه‌زنی لوبیا چشم بلبلی و گندم.

Figure 2. Effect of different ammonia concentrations on germination of cowpea and wheat seeds.

بحث

سوسک توتون *Lasioderma serricorne* Fabricius، شب‌پره هندی *Plodia interpunctella* Hubner بود، نشان داد که گاز دی‌اکسید کربن می‌تواند در کنترل آفات انباری و محصولات غذایی به‌عنوان یک فومیگانت مناسب مورد استفاده قرار گیرد (Cao *et al.* (2015a, b). بررسی‌های (Riudavates *et al.* 2009). نشان دادند که میزان تلفات سوسک نان *Stegobium paniceum* L. و شپشه دندانه دار *O. surinamensis* با افزایش غلظت گاز

طبق نتایج به‌دست آمده از این تحقیق گاز دی اکسید کربن و گاز آمونیاک نتایج کنترلی خوبی روی حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات و شپشه گندم نشان دادند. نتایج حاصل از آزمایش تزریق گاز دی‌اکسید کربن به محیط پرورش استاندارد که شامل مراحل تخم، لارو، شفیره و افراد کامل گونه‌های شپشه دندانه دار *Oryzaephilus surinamensis* L.

ذخیره گندم بکار برد و تلفات کامل شپشه گندم *S. granarius* را بعد از مدت زمان ۲۴ ساعت گزارش کرد.

در بررسی تاثیر گاز دی اکسید کربن و آمونیاک روی جوانه‌زنی بذور گندم و لوبیا چشم بلبلی نتایج تحقیق حاضر نشان داد که گازهای به کار برده شده هیچ تاثیری روی جوانه‌زنی بذور نداشتند و در تمامی موارد درصد جوانه‌زنی بذور بالای ۹۸ درصد گزارش شد.

نتایج تحقیق Reddy Shekar et al. (2018) نشان داد که دانه‌های ذرت گازدهی شده با گاز دی اکسید کربن جهت کنترل آفت شپشه برنج *S. oryzae*، در غلظت‌های ۸۰ درصد و ۶۰ درصد از دی اکسید کربن که بالاترین غلظت به کار برده شده در تحقیق آنها بودند، درصد جوانه‌زنی دانه‌های ذرت بالای ۹۰ درصد بود. همچنین بررسی‌های انجام شده توسط (Rathi 2000) و نتایج تحقیقات Jays & Jeyamkondan (2002) نشان دادند که گاز دی اکسید کربن در کنترل آفات انباری، جوانه‌زنی بذور را تحت تاثیر قرار نمی‌دهد. نتایج این محققین با تحقیق حاضر مطابقت دارد.

در تحقیقی Hood & Ensminger (1964) دریافتند که میزان جوانه‌زنی بذرهای غلات که قبل از کاشت در خاک، در محلول‌های هیدروکسید آمونیوم و سولفات آمونیوم خیسانده شده بودند ۸۰ درصد و بالاتر بود. در تحقیق آنها بهترین نتیجه برای جوانه‌زنی بذور زمانی بود که pH محلول‌ها در حدود سه تا هشت بود. همچنین، در رابطه با گازدهی خاک با آمونیاک قبل از کاشت بذور مختلف، Openshaw (1970) بیان داشته است که میزان غلظت گاز آمونیاک و pH خاک نقش بسیار مهمی در درصد جوانه‌زنی بذور دارند. نتایج تحقیق Hunter & Rosenau (1966) نشان داد در مورد بذر ذرت، میزان آسیب به درصد جوانه‌زنی بذور مرطوب و یا بذرهای جوانه‌زده به غلظت گاز آمونیاک بستگی دارد. در غلظت‌های بالای آمونیاک (تزریق یک میلی گرم آمونیاک به فلاسک‌های سر بسته یک لیتری) رنگ دانه‌ها به سرعت تیره رنگ شده و هیچکدام قادر به جوانه‌زنی نبودند. در غلظت‌های پایین‌تر از این مقدار نیز وضعیت جوانه‌زنی بذرها تقریباً طبیعی بود، اما در جوانه‌های حاصل علایمی مانند زرد شدن طولی جوانه، تیره شدن نوک جوانه و ترشح مایع زرد رنگ از ریشه‌چه وجود داشت. نتایج کلی تحقیق آنها نشان داد که آمونیاک جوانه‌زنی بذور ذرت را کاهش می‌دهد اما اثر جزئی بر روی دانه‌های جوانه‌زده دارد. در تحقیق دیگری Allerd & Ohlrogge (1964) نیز به اثرات سمی آمونیاک بر درصد

دی اکسید کربن افزایش پیدا کرد. در تحقیق دیگری Sauer & Shelton (2002) نشان دادند ترکیب اتمسفری حاوی ۸۰ درصد دی اکسید کربن و ۲۰ درصد نیتروژن، طی مدت زمان ۱۲ ساعت موجب مرگ ۱۰۰ درصد شفیره‌های شب پره هندی *P. interpunctella* می‌شود. نتایج تحقیق Husain et al. (2017) در بررسی کارایی دی اکسید کربن خالص (۹۹/۹ درصد) روی حشرات شب پره خشکبار *Cadra cautella* Walker و شپشه قرمز آرد *Tribolium castaneum* Herbst نشان دادند که میزان مرگ و میر حشرات کامل این دو آفت پس از گذشت ۲۴ ساعت به ترتیب برابر با ۸۶ و ۱۰۰ درصد بود. نتایج این محققین با نتایج تحقیق حاضر در کارایی بالای گاز دی اکسید کربن در کنترل آفات مختلف انباری مطابقت دارد.

ایده استفاده از گاز آمونیاک به عنوان یک فومیگانت از بین برنده آلوده‌کننده‌های مواد غذایی خصوصاً آفات انباری، اولین بار در سال ۱۹۱۴ توسط Fink ارائه شد. نتایج تحقیق نشان داد که با افزایش غلظت گاز آمونیاک در محیط آزمایش که از یکسری کیسه‌های به حجم یک لیتر تشکیل شده بود، تلفات آفت (سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات) بیشتر می‌شود. ایشان استفاده از گاز آمونیاک در سطح وسیع‌تر را توصیه کردند. با بررسی منابع صورت گرفته، از آن زمان تاکنون تحقیق دیگری در رابطه با ارزیابی کارایی آمونیاک به عنوان یک فومیگانت علیه آفات انباری انجام نشده است. در تحقیق حاضر کارایی این گاز روی دو آفت شپشه گندم و سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات انجام شد که نتایج کنترل چشمگیری از آن دیده شد. همچنین نتایج تحقیق برای اولین بار نشان داد که از آمونیاک می‌توان در ترکیب اتمسفر تغییر یافته همراه با درصد بیشتر گاز دی اکسید کربن، استفاده کرد.

در تحقیقی Steyaert & Grisse (1985) شپشه برنج *L. Sitophilus oryzae* را در شرایط آزمایشگاهی تحت شرایط اتمسفری ۳۰ درصد دی اکسید کربن و ۷۰ درصد نیتروژن و همچنین تحت شرایط ۴۰ درصد دی اکسید کربن و ۶۰ درصد نیتروژن گازدهی کردند. نتایج تحقیق آنها نشان داد حشرات کامل آفت پس از مدت زمان یک هفته، تلفات ۱۰۰ درصد را نشان می‌دهند. میزان تلفات مشاهده شده در تحقیق آنها در مقایسه با کاربرد تنهایی هر یک از گازها، بیشتر بود. در تحقیق دیگری Bell (1987) ترکیب اتمسفری یک درصد اکسیژن و ۱۵ درصد دی اکسید کربن را همراه با ۸۴ درصد نیتروژن در مخازن

جوانه‌زنی ذرت تاکید داشته‌اند. در تحقیقات دیگری میزان باقیماندگی گاز آمونیاک پس از گازدهی به منظور از بین بردن مراحل قارچ‌های آلوده کننده اندازه‌گیری شده و محققین به این نتیجه رسیده‌اند در میوه‌های گازدهی شده آمونیاک هیچگونه باقیماندگی نداشته است (Roistacher *et al.* 1957; Gunther *et al.* 1959).

References

- Adler C, Navarro S, Scholler M, Hansen LS, 2002. Working group "Integrated protection in stored products" proceedings of the meeting in Libson (Portugal). *IOBC/Wprs Bulletin* 25 (3): 267.
- Ali SM, Mahgoub SM, Hamed MS, Gharib MSA, 2004. Infestation potential of *Callosobruchus chinensis* and *Callosobruchus maculatus* on certain broad bean seed varieties. *Egyptian Journal of Agricultural Research* 82(3):1127–1135.
- Allred SE, Ohlrogge AJ, 1964. Principles of nutrient uptake from fertilizer bands. VI. germination and emergence of corn as affected by ammonia and ammonium phosphate 1. *Agronomy Journal* 56(3): 309–313.
- Arthur FH, 1992. Residual of chlorpyrifos-methyl for control of maize weevils (Coleoptera: Curculionidae) and red flour beetles (Coleoptera: Tenebrionidae) in mixture of treated and untreated corn. *Journal of Economic Entomology* 85: 554–560.
- Ashtari S, Pourmirza AA, Safar Alizadeh MH, 2012. Studies on susceptibility of different developmental stages of *Bemisia tabaci* Gennadius (Hem: Aleyrodidae) to pyriproxyfen and citowett oil. *Journal of Entomological Research* 3(4): 267–276 (in Persian with English abstract).
- Bagheri Zenouz A, 1997. Storage pests and their control. Sepehr Press. 309 pp. (in Persian).
- Bell CH, 1987. Effect of grain moisture content on the establishment and maintenance of a low oxygen atmosphere containing carbon dioxide. *Monograph-British Crop Protection Council* 37: 237–246.
- Benhalima H, Chaudhry MQ, Mills KA, Price NR, 2004. Phosphine resistance in stored-products insects collected from various grain storage facilities in morocco. *Journal of Stored Products Research* 40: 241–249.
- Cao Y, Wu XY, Lu LH, Deng J, Li C, 2015a. Toxicity of CO₂ to *Stegobium paniceum* and comparison of its energy metabolism. *Chinese Journal of Biological Control* 31: 57–63.
- Cao Y, Yan YF, Yang WJ, Xiong ZL, Wang LJ, *et al.*, 2015b. Influence of carbon dioxide controlled atmosphere on *Oryzaephilus surinamensis* Linne and its utilization of energy substances. *Journal of Zhejiang University* 41: 631–640.
- Emekci M, 2010. Fumigation modified atmospheres and hermetic storage, *10th International Working Conference on Stored Product Protection*, Julius-Kühn-Archiv, Pp. 303–313.
- Fink DE, 1914. Ammonia gas as a fumigant. *Journal of Economic Entomology* 7(1): 149–150.
- Gilberg M, 1989. Inert atmosphere fumigation of museum objects. *Studies in Conservation* 34: 80–84.
- Gisi U, 1996. Synergistic interaction of fungicides in mixtures. *The American Phytopathological Society* 86(11): 1273–1279.
- Golestani Kalat Z, Moravvej G, Azizi Arani M, 2014. Repellent effects of the essential oils of *Lavandula angustifolia* Mill. and *Zataria multiflora* Boiss. on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) with reference to their chemical compositions. *Iranian Journal of Pulses Research* 5(2): 131–138 (in Persian with English abstract).
- Gunther FA, Blinn RC, Kolbezen MJ, Conkin RA, Wilson CW, 1959. Fungicides for package foods, sorption of ammonia by fruits, vegetables, eggs, and fiberboard in dynamic systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 7: 496–502.
- Hood JT, Ensminger LE, 1964. The effect of ammonium phosphate and other chemicals on the germination of cotton and wheat seeds. *Soil Science Society of America Proceedings* 28: 251–253.
- Hunter AS, Rosenau WA, 1966. The effects of urea, biuret and ammonia on germination and early growth of corn (*Zea mays*). *Soil Science Society of America Proceedings* 30: 77–81.

- Husain M, Sukirno S, Mehmood K, Tufail M, Rasool KG, *et al.*, 2017. Effectiveness of carbon dioxide against different developmental stages of *Cadra cautella* and *Tribolium castaneum*. *Environmental Science and Pollution Research* 24(14): 12787–12795.
- ISTA, 2009. Proceeding of International Seed Testing Association Annual Meeting June 15 to 18, Glattdbrugg (Zurich), Switzerland, 70 Pp.
- Jayas DS, Jeyamkondan S, 2002. Modified atmosphere storage of grains, meats, fruits and vegetables. *Biosystems Engineering* 82: 235–251.
- Keyhanian AA, 2002. Study on effect of different wheat varieties on sex ratio and reproduction of granary weevil, *Sitophilus granarius* L. (Col: Curculionidae). *Applied Entomology and Phytopathology* 70(1): 63–72 (in Persian with English abstract).
- Montesinos-Herrero C, Smilanick JL, Tebbets JS, Walse S, Palou L, 2011. Control of citrus postharvest decay by ammonia gas fumigation and its influence on the efficacy of the fungicide imazalil. *Postharvest Biology and Technology* 59(1): 85–93.
- Nayak MK, Collins PJ, Pavic H, Kopittke RA, 2003. Inhibition of egg development by phosphine in the cosmopolitan pest of stored products *Liposcelis bostrychophila* (Psocoptera: Liposcelididae). *Pest Management Science* 59: 1191–1196.
- Openshaw MD, 1970. The effect of ammonia on germination and development of seedlings in soil. PhD thesis. Agronomy., Iowa State University, Michigan.
- Rathi SS, Shah NG, Zambre SS, Kalbande VH, Venkatesh KV, 2000. Respiration, sorption and germination of seeds in controlled atmosphere. *Seed Science and Technology* 28: 341–348.
- Reddy Shekar V, Kumar BA and Shanti APM, 2018. Effect of modified atmosphere with elevated levels of CO₂ on *Sitophilus oryzae* (L.) in stored maize. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 6(4): 693–700.
- Riudavates J, Castane C, Alomar O, Pons MJ, Gabarra R, 2009. Modified atmosphere packaging (MAP) as an alternative measure for controlling ten pests that attack processed food products. *Journal of Stored Products Research* 45: 91–96.
- Roistacher CN, Klotz LJ, Eaks IL, 1957. Ammonia gas used in citrus packing plants as fumigant for control of blue-greenmoldon Valencias, navels and lemons. *California Agriculture* 11: 11–12.
- Sauer JA, Shelton MD, 2002. High temperature controlled atmosphere for post-harvest control of Indian meal moth (Lepidoptera: Pyralidae) on preserved flowers. *Journal Stored Products Research* 95: 1074–1078.
- Sekhon RK, Schilling MW, Phillips TW, Aikins RMJ, Hasan MM, *et al.*, 2010. Effects of carbon dioxide and ozone treatments on the volatile composition and sensory quality of dry-cured ham. *Journal of Food Science* 75: 452–458.
- Sepasgozarian H, 1978. Stored pests of Iran and Their Control. Tehran University Press. 288 pp. (in Persian).
- Steyaert K, Grisse A, 1985. Influence of packaging of rice on the survival of *Sitophilus granarius*. *Mededelingen van de Faculteit Landbouwwetenschappen, Rijksuniversiteit Gent* 50: 113–120.
- Tajik Z, Marouf A, Sanatgar E, 2015. Studying on the efficacy of gaseous ozone to control the cowpea weevil, *Journal of Entomological Research* 7(3): 219–231 (in English with English abstract).
- Talukder F, 2009. Pesticide resistance in stored-product insects and alternative biorational management: a brief review. Sultan Qaboos University Research. *Journal of Agricultural and Marine Sciences* 14: 9–15.