دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اراک
شاپا ۴۶۶۸-۲۰۰۸
http://jer.iau-arak.ac.ir

فصلنامه تخصصی تحقیقات حشره‌شناسی
(علمی- پژوهشی)
جلد ۷ ، شماره ۳، سال ۱۳۹۴، (۲۱۹-۲۳۱)

بررسی کارایی گاز ازن در کنترل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات

زهرا تاجیک[۱]، عارف معروف[۲]، الهام صنعتگر[۳]*

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، رشته حشره‌شناسی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اراک
۲- استادیار، بخش تحقیقات گیاه‌پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان زنجان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، زنجان، ایران
۳- استادیار، گروه حشره‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اراک

چکیده

سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات، *Callosobruchus maculatus*(Fabricus)، مهم‌ترین آفت انباری حبوبات است که با تغذیه از دانه‌های حبوبات موجب خسارت‌های سنگین می‌شود. تحقیقات نشان داده است که گاز ازن می‌تواند موجب مرگ و میر در حشرات کامل تعدادی از گونه‌های آفات انباری شود. لذا در این تحقیق اثرات کشندگی گاز ازن به صورت استفاده در فضای کاملا عایق علیه مراحل مختلف زیستی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق اثر غلظت‌های ۳۵۰۰، ۵۰۰۰ و ۶۵۰۰ پی‌پی‌ام از گاز ازن علیه مرحله تخم (روی لوبیا چشم بلبلی) و غلظت‌های ۳۵۰۰، ۵۰۰۰ و ۶۵۰۰ پی‌پی‌ام علیه مرحله لاروی (روی لوبیا چشم بلبلی، ماش و نخود) سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات و غلظت‌های ۷۰۰، ۱۲۰۰ و ۱۷۰۰ پی‌پی‌ام گاز ازن علیه حشرات کامل (روی لوبیا چشم بلبلی) سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات مورد آزمایش قرار گرفت. همچنین اثر نفوذ پذیری گاز ازن در عمق‌های ۲۰، ۴۰ و۶۰ سانتی‌متر توده لوبیا چشم بلبلی، ماش و نخود، در زمان‌های مختلف ازن‌دهی (۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه) روی حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات به‌طور جداگانه مورد بررسی قرار گرفتند. علاوه بر این اثرغلظت‌های مختلف گاز ازن (۵۵۰۰، ۶۵۰۰ و ۷۵۰۰ پی‌پی‌ام) روی جوانه‌زنی لوبیا چشم‌بلبلی، ماش و نخود مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج آزمایش‌های انجام شده روی مراحل مختلف رشدی سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات که به‌طور مستقیم در معرض گاز ازن قرار گرفتند نشان داد که، غلظت ۶۵۰۰ پی‌پی‌ام از گاز ازن موجب ۵۴/۸ درصد تلفات در تخم و به‌ترتیب ۱۰۰٪، ۹۳/۲۸ و ۳۶/۱۰ درصد تلفات در لاروهای آفت در لوبیا چشم بلبلی، ماش و نخود گردید. غلظت ۱۷۰۰ پی‌پی‌ام ازگاز ازن نیز موجب ۹۷ درصد تلفات در حشرات کامل شد. آزمایش‌های بررسی میزان نفوذ گاز ازن به عمق توده حبوبات مختلف نشان داد که مدت ۲۰ دقیقه ازن‌دهی روی حشرات کامل *C. maculatus* که در عمق ۶۰ سانتی‌متری توده ماش، لوبیا چشم بلبلی و نخود قرار داشتند به‌ترتیب موجب ۷۶/۲۵، ۹۲/۵۰ و ۱۰۰ تلفات گردید. ازن‌دهی به مدت ۳۰ دقیقه موجب مرگ و میر ۱۰۰٪ حشرات کامل *C. maculatus* در عمق ۶۰ سانتی‌متری تمامی حبوبات شد. همچنین غلظت‌های مختلف گاز ازن اثر نا مطلوبی روی جوانه‌زنی بذور حبوبات نداشته است.

واژه‌های کلیدی: حبوبات، *Callosobruchus maculatus*، گاز ازن، آفات انباری

* نویسنده رابط، پست الکترونیکی: *marouf@iripp.ir*

تاریخ دریافت مقاله (۹۲/۲/۴) - تاریخ پذیرش مقاله (۹۳/۱۱/۱۵)

مقدمه

حبوبات با داشتن ۲۰-۳۰ درصد پروتیین، پس از غلات، دومین منبع مهم غذایی بشر محسوب می‌شوند (Kochaki & Banayanaval,1995). حبوبات بخش اصلی رژیم غذایی بسیاری از مردم فقیر جهان را تشکیل می‌دهد(Parsa & Bagheri, 2008). حشره‌کش‌های مصنوعی از دهه ۱۹۵۰ برای کنترل آفات محصولات انباری استفاده گردیده‌اند (Subramanyam & Hagstrum, 1995). امروزه برای کنترل آفات انباری بیشتر از سموم شیمیایی گازی استفاده می‌شود که مشکلاتی از قبیل آلودگی‌های زیست محیطی، بروز مقاومت آفات در برابر سموم و مسمومیت انسان و سایر پستانداران را به همراه دارد (Haque *et al*., 2000; Tapondjou *et al*., 2002). متیل بروماید از سموم گازی بوده که طبق قطعنامه مونترال کشورهای در حال توسعه موظفند تا سال ۲۰۱۵ مصرف این سم را به‌علت اثر نامطلوب روی لایه ازن قطع نمایند (Anonymous, 1999). همچنین، مقاومت آفات انباری نسبت به گاز فسفین از ۴۵ کشور دنیا گزارش شده است (Shaaya *et al*.,1997). از این رو جستجو جهت جایگزینی برای سموم شیمیایی فوق امری اجتناب ناپذیر است (Talukder & Hawse, 1995).

سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات *Callosobruchus maculatus* (F.) کلیدی‌ترین آفت لوبیا چشم بلبلی، ماش و نخود در مرحله پس از برداشت می‌باشد. تغذیه لارو آفت موجب ایجاد حفره داخل دانه‌ها شده و علاوه بر کاهش وزنی دانه‌ها، موجب می‌شود تا بازار پسندی دانه‌ها به‌شدت کاهش پیدا کند. در ایران نیز این آفت از مناطق مختلف کشور گزارش شده است (Shahhosseini & Kamali, 1989). بیشترین خسارت آفت مربوط به تغذیه لاروهاست که با تغذیه از مواد غذایی درون دانه خسارت قابل توجهی به محصولات وارد می‌سازند.

گاز ازن یکی از ترکیباتی است که در دو دهه اخیر مورد توجه محققین بوده ونتایج آزمایش‌های مقدماتی نشان داده است که این گاز از پتانسیل مناسبی برای کنترل آفات انباری برخوردار است. اولین گزارش از کاربرد ازن برای حشرات آفت انباری مربوط به سال ۱۹۸۰ میلادی می‌باشد. بر اساس این گزارش مرگ و میر کامل بالغین *Tribolium confusum* J. du Val و *T. castaneum* (Herbst) پس از قرار گرفتن در معرض غلظت ۴۵ پی‌پی‌ام از گاز ازن به مدت ۳/۵ تا ۶/۵ ساعت، حاصل شده است(Erdman, 1980). هم‌چنین تلفات ۱۰۰٪ حشرات کامل *T. confusum* بعد از ۵ روز ازن‌دهی با غلظت ۵ پی‌پی‌ام و تلفات کامل حشرات بالغ *Oryzaephilus surinamensis* بعد از ۳ روز ازن‌دهی با غلظت ۵ پی‌پی‌ام گاز ازن مشاهده شده است (*Mason et al*., 1997). آزمایش‌های انجام شده توسط Strait در سال ۱۹۹۸ نشان داده است که پس از ازن‌دهی یک مخزن ذرت آلوده به *T. castaneum* ، گاز ازن در مخزن ذرت در سراسر توده پراکنده شده و غلظت ۵۰ پی‌پی‌ام گاز به مدت ۳ روز، منجر به ۱۰۰ درصد تلفات بالغین سوسک‌های قرمز آرد شده است (Strait, 1998). نتایج ازن‌دهی علیه *T.confusum* در فضای خالی، مرگ و میر خیلی کم بالغین، شفیره و تخم‌ها در محدوده ۴/۲ تا ۱۴/۱ درصد را به‌دنبال داشته است، در حالی‌که لاروها مرگ و میر بالای ۷۴ درصد را نشان دادند (Isikber & Oztekin, 2009) .

گاز ازن نیمه عمر کوتاهی داشته و به سرعت تجزیه می‌شود. لذا در صورت امکان نفوذ به داخل توده و ایجاد تلفات در آفات انباری این گاز می‌تواند در برنامه‌های کنترل آفات انباری مورد استفاده قرار گیرد. گاز ازن را می‌توان به‌وسیله ژنراتورهای ازن که با استفاده از هوای معمولی و یا اکسیژن خالص کار می‌کنند در محل مورد نیاز تولید نمود و این یکی از مزایای گاز ازن برای کنترل آفات انباری است. همچنین نیمه عمر کوتاه این گاز باعث می‌شود تا در محصول ضد عفونی شده باقی مانده‌ای از گاز ازن بر جای نماند. نحوه تاثیر گاز بدین ترتیب است که اتم‌های آزاد اکسیژن با غشا

دیواره سلولی باکتری، قارچ و یا سلول‌های بدن حشره واکنش نشان داده و موجب تخریب بافت‌های داخل سلول می‌شود (Mason *et al.*, 2006).

این تحقیق با هدف بررسی اثر کشندگی غلظت‌های مختلف گاز ازن روی مراحل مختلف زیستی *C. maculatus* انجام شد.

مواد و روش‌ها

پرورش آفت

سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات (*Callosobruchus maculates* F.) مورد استفاده در آزمایش‌ها از آزمایشگاه بخش تحقیقات حشره‌شناسی کشاورزی موسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور دریافت شد. این حشرات به مدت دو سال در آن آزمایشگاه روی لوبیا چشم بلبلی پرورش داده می‌شدند. برای پرورش سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات، از ۲۰۰ گرم لوبیا چشم بلبلی به‌عنوان ماده غذایی استفاده شد. ظروف پرورش از جنس پلاستیک شفاف به ابعاد ۷×۱۴×۱۹ سانتی‌متر دارای دو عدد سوراخ به قطر ۳ سانتی‌متر با پوشش پارچه توری ظریف بودند. پرورش آفت داخل انکوباتور با دمای ۱±۲۸ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد در شرایط تاریکی کامل انجام شد.

تجهیزات مورد استفاده

دستگاه مولد (ژنراتور) اکسیژن مورد استفاده، ساخت کارخانه VISIONAIRE کشور امریکا با ظرفیت تولید ۵ لیتر اکسیژن در دقیقه بود. دستگاه تولید کننده (ژنراتور) ازن مورد استفاده، ساخت مرکزتحقیقات مهندسی استان آذربایجان شرقی مدل BOM-002 باظرفیت تولید دو گرم ازن درساعت بود. محفظه عایق به عبور هوا که عملیات ازن‌دهی داخل آن انجام شد عبارت بود از یک محفظه شیشه‌ای به ابعاد ۶۲×۴۵×۲۷ سانتی‌متر که روی آن دریچه‌ای برای قرار دادن تیمارهای مورد آزمایش به داخل محفظه تعبیه شده بود و در قسمت پشت محفظه نیز محل‌هایی برای ورود و خروج گاز تعبیه شده بود. لوله‌ای ازجنس P.V.C به قطر ۱۳ و ارتفاع ۱۰۰ سانتی‌متر برای انجام آزمایش مربوط به میزان تاثیر گاز ازن بر آفات موجود در عمق توده در نظر گرفته شد. لوله مورد نظر از انتها کاملا مسدود شد و روی آن خروجی و ورودی گاز ازن تعبیه شد.

ازن‌دهی مراحل مختلف زیستی

در این تحقیق، اثرغلظت‌های مختلف گاز ازن روی تخم‌های ۳ روزه، لاروهای ۳-۵ روزه و حشرات کامل ۱ تا ۳ روزه سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات مورد بررسی قرار گرفت. برای آزمایش روی مرحله تخم، ۲۰ عدد دانه لوبیا چشم بلبلی که روی هر کدام یک عدد تخم ۳ روزه بود، برای انجام آزمایش روی مرحله لاروی، ۲۰ عدد بذر (ماش، لوبیا چشم بلبلی و نخود) حاوی یک لارو و برای مرحله رشدی حشرات کامل، ۲۰ عدد حشره‌ای کامل ، به‌طور جداگانه داخل ظروف پتری قرار داده شدند. سپس ظروف پتری به داخل محفظه عایق منتقل شدند. ازن‌دهی با غلظت‌های ۳۵۰۰، ۵۰۰۰ و ۶۵۰۰ پی‌پی‌ام گاز ازن روی مرحله تخم ولارو انجام شد. با توجه به نتایج حاصل از آزمایش‌های مقدماتی و حساسیت بیشتر حشرات کامل نسبت به گاز ازن، غلظت‌های ۷۰۰، ۱۲۰۰، ۱۷۰۰ پی‌پی‌ام همراه با تیمار شاهد علیه حشرات کامل انجام شد. مدت زمان ثابت ۱۵ دقیقه ازن‌دهی برای تمام تیمارها اعمال شد. تمامی آزمایش‌ها در ۵ تکرار انجام شد. پتری‌های

محتوی تخم‌ها پس از ازن‌دهی در انکوباتور با دمای ۱±۲۸ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۶۰ درصد قرار داده شدند. پس از گذشت هفت روز تخم‌ها با استفاده از استریو میکروسکوپ بررسی شدند و تعداد تلفات در این مرحله ثبت شد. میزان تلفات لاروها پس از تکمیل دوره زیستی آن‌ها و تبدیل آن‌ها به حشره کامل (۱۵ تا ۱۷ روز) و بر اساس تعداد سوراخ خروجی حشرات کامل روی بذور و مقایسه با شاهد به‌دست آمد. همچنین حشرات کامل پس از ازن دهی از محفظه عایق خارج گردید و پس از گذشت یک ساعت نسبت به شمارش تلفات و ثبت نتایج اقدام شد.

بررسی میزان نفوذ گاز ازن به عمق توده به ابعاد زمان‌های مختلف برای کنترل حشرات کامل *C. maculatus*

برای انجام این آزمایش از لوله استوانه‌ای با ارتفاع ۱۰۰ و قطر ۱۳ سانتی‌متر استفاده شد. به این منظور تعداد ۲۰ عدد حشره کامل (مخلوط نر و ماده) سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات درون ظروف دایره‌ای به قطر ۳ و ارتفاع ۲/۵ سانتی‌متر که روی درب و کف آن‌ها سوراخ ایجاد شده و با توری پوشانده شده بودند، قرار داده شدند. ظروف محتوی حشرات کامل در اعماق ۲۰، ۴۰ و ۶۰ سانتی‌متری داخل لوله قرار گرفتند و سپس و برای هر آزمایش، داخل لوله استوانه‌ای با یکی از حبوبات ذکر شده (لوبیا چشم بلبلی، ماش و نخود) پر شد. ازن‌دهی حشرات کامل در زمان‌های ۱۰ و ۲۰ دقیقه با شدت جریان ۲ گرم در ساعت و در چهار تکرار انجام شد و سپس تعداد تلفات حشرات کامل ثبت شد.

آزمون جوانه‌زنی

به منظور انجام آزمون جوانه‌زنی دانه‌های لوبیا چشم بلبلی، ماش و نخود از روش استاندارد (ISTA, 2009) استفاده‌شد. دانه‌های مورد آزمایش ابتدا با غلظت‌های ۵۵۰۰، ۶۵۰۰ و ۷۵۰۰ پی‌پی‌ام ازن‌دهی شدند. سپس ظرف‌های پتری به قطر ۲۰ سانتی‌متر آماده گردید و یک لایه کاغذ صافی واتمن استریل شده در کف آن‌ها قرار گرفت و سپس توسط آب مقطر استریل به مقدار ۷ میلی‌لیتر مرطوب شد. تعداد ۱۰۰ عدد دانه ازن‌دهی شده از هر یک از ارقام به‌طور تصادفی انتخاب و در چهار ردیف ۲۵ تایی بر روی کاغذ صافی داخل پتری‌ها گذاشته شد و در نهایت یک لایه دیگر کاغذ صافی روی آن‌ها قرارگرفت و به مقدار لازم مرطوب شد. این آزمایش در چهار تکرار انجام شد و پتری‌های مربوط در داخل ظروف پلاستیکی به‌طور جداگانه قرار گرفتند و مجموعه آن‌ها همراه با حبوبات شاهد (بدون ازن‌دهی)، در داخل انکوباتور با شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای ۱±۲۰ درجه سلسیوس به مدت ۸ روز قرار داده شدند. سپس شمارش دانه‌های جوانه زده انجام و داده‌ها ثبت گردید.

تعیین جرم حجمی حبوبات مورد آزمایش

به این منظور از حبوبات کاملا تمیز شده (عاری از هر گونه مواد خارجی از جمله سنگ ریزه و کلوخ و بقایای گیاهی) استفاده شد. از هر یک از حبوبات مورد آزمایش مقدار ۲۰ گرم وزن شد. سپس در یک استوانه مدرج ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شد. مقدار وزن شده از حبوبات هر کدام به‌طور جداگانه داخل استوانه مدرج حاوی ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر ریخته شدند و میزان افزایش حجم آب ثبت گردید. برای هر کدام از حبوبات این عمل سه مرتبه تکرار شد. بر اساس میزان افزایش حجم آب و وزن (۲۰ گرم) حبوبات و استفاده از رابطه $\rho = \frac{m}{v}$ (که در آن m مقدار وزن و v حجم آب افزوده شده می‌باشد) جرم حجمی لوبیا چشم بلبلی، ماش و نخود محاسبه گردید.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

تمامی آزمایش‌ها در قالب طرح کاملا تصادفی طراحی شدند و تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS 16.0 انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی و در سطح اطمینان ۹۵٪ صورت پذیرفت. به‌منظور حذف اثر مرگ و میر طبیعی (تلفات تیمار شاهد) از فرمول آبوت (Abbott, 1925) استفاده شد. هم‌چنین در صورت نیاز به منظور نرمال کردن توزیع داده‌ها، تبدیل داده‌ها از روابط log x و $\sqrt{x+0.5}$ استفاده شد. رسم نمودار با استفاده از نرم افزار Microsoft Excel 2007 انجام شد.

نتایج

اثر غلظت‌های مختلف گاز ازن روی تخم

نتایج به‌دست آمده از تجزیه آماری اثر غلظت‌های مختلف گاز ازن روی تخم سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات نشان داد که، بین اثر غلظت‌های مختلف گاز ازن اختلاف معنی‌دار وجود دارد($F=249.54; df=2,12; P<0.000$). به‌طوری‌که کم‌ترین غلظت (۳۵۰۰ پی‌پی‌ام) گاز موجب ۱۳/۷ درصد تلفات در تخم‌های سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات شد و با افزایش غلظت گاز به میزان تلفات افزوده شده و حداکثر به ۵۴/۸ درصد رسید (جدول ۱).

جدول ۱- میانگین درصد تلفات تخم‌های *C. maculatus* در اثر غلظت‌های مختلف گاز ازن

Table 1- Mean mortality of eggs, of *C. maculatus* exposed to different concentrations of ozone

Ozone concentration (ppm)	Mortality (%) ±SE	*Ranking
3500	13.7±0.64	C
5000	34.7±1.46	B
6500	54.8±2.38	A

* The different letters are significantly different at 5% level (Tukey test)

اثر غلظت‌های مختلف گاز ازن روی لارو

نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر سه غلظت۳۵۰۰، ۵۰۰۰ و ۶۵۰۰ پی‌پی‌ام گاز ازن روی مرحله لارو سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات نشان داد که، بین اثر غلظت‌های مختلف گاز ازن اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($F=278.57; df=8,36; P<0.000$). بر این اساس بیشترین تلفات مربوط به لاروهای داخل لوبیا چشم بلبلی در غلظت ۶۵۰۰ پی‌پی‌ام با ۱۰۰ درصد تلفات وکمترین میزان تلفات (۱۹/۷۰ درصد) در لاروهایی که داخل دانه‌های نخود فعالیت داشتند و با غلظت ۳۵۰۰ پی‌پی‌ام ازن‌دهی شده بودند، مشاهده شد (جدول ۲). در عین حال غلظت ۵۰۰۰ پی‌پی‌ام از گاز ازن نیز موجب ایجاد تلفات بالاتر از ۹۵ درصد در لاروهای سوسک چهار نقطه‌ای داخل دانه‌های لوبیا چشم بلبلی گردید. نتایج به‌دست آمده از گروه‌بندی میانگین نشان می‌دهد که بیشترین تلفات مربوط به لاروهای فعال در دانه‌های لوبیا چشم بلبلی و کمترین میزان تلفات، حتی در بالاترین غلظت از گاز ازن (۶۵۰۰ پی‌پی‌ام) مربوط به لاروهای فعال در دانه‌های نخود بوده است، به‌طوری‌که میزان تلفات لاروها در غلظت ۳۵۰۰ پی‌پی‌ام گاز ازن در دانه‌های ماش ۷۰/۴۵ درصد ولی میزان تلفات لاروها در غلظت ۶۵۰۰ پی‌پی‌ام در دانه‌های نخود ۳۶/۱۰ درصد بوده است (جدول ۲).

جدول ۲- میانگین درصد تلفات لاروهای *C.maculatus* در اثر غلظت‌های مختلف گاز ازن در حبوبات مختلف

Table 2- Mean mortality of larvae of *C. maculatus* exposed to different ozone concentrations in different pulse

Ozone concentration (ppm)	Pulse	Mortality (%) ±SE	*Ranking
3500	Cowpea	82.49±2.69	C
	Green gram	70.45±2.99	BC
	Chickpea	19.70±0.76	F
5000	Cowpea	98.83±1.16	A
	Green gram	91.78±2.67	AB
	Chickpea	25.60±2.22	E
6500	Cowpea	93.28±1.14	AB
	Green gram	100	A
	Chickpea	36.10±1.22	D

* The different letters are significantly different at 5% level (Tukey test)

بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که نوع حبوبات در میزان نفوذ گاز به داخل بافت دانه موثر بوده است و در مجموع نتایج این بخش از آزمایش‌ها، میزان نفوذ پذیری بالا برای لوبیا چشم‌بلبلی وماش و نفوذ پذیری پایین برای نخود به گاز ازن را نشان می‌دهد.

اثر غلظت‌های مختلف گاز ازن روی حشرات کامل

همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود بین اثر غلظت‌های مختلف گاز ازن روی حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (F=38.93; df=2,12; P<0.000) گروه‌بندی میانگین درصد تلفات حشرات کامل در اثر غلظت‌های مختلف گاز ازن نشان می‌دهد که بیشترین تلفات (۹۷ درصد) متعلق به غلظت ۱۷۰۰ پی‌پی‌ام و کمترین تلفات مربوط به تیمار ۷۰۰ پی‌پی‌ام است (۵۵ درصد) بوده است (جدول ۳).

جدول ۳- میانگین درصد تلفات حشرات کامل *C.maculatus* در اثرغلظت‌های مختلف گاز ازن

Table 3- Mean mortality of *C. maculatus* adults exposed to different concentrations of ozone

Ozone concentration (ppm)	Mortality (%) ±SE	*Ranking
700	55±3.16	C
1200	79±4.29	B
1700	97±2.00	A

* The different letters are significantly different at 5% level (Tukey test)

بنابراین ملاحظه می‌شود که حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات نسبت به سایر مراحل رشدی آن با غلظت‌های کمتری از گاز ازن قابل کنترل هستند.

بررسی میزان نفوذ گاز ازن به عمق توده در زمان‌های مختلف برای کنترل حشرات کامل *C. maculatus* در سه نوع حبوبات

بررسی میزان نفوذ گاز ازن به عمق توده لوبیا چشم بلبلی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به میزان نفوذ گاز ازن به عمق توده لوبیا چشم بلبلی نشان می‌دهد بین درصد تلفات حشرات کامل که در اعماق مختلف توده لوبیا چشم بلبلی قرار داشتند در مدت ۱۰ و ۲۰ دقیقه ازن‌دهی اختلاف معنی‌دار وجود دارد (F=19.95; df=5, 18; P<0.000). بیشترین میزان مرگ ومیر حشره کامل (۱۰۰ درصد) در عمق ۲۰ سانتی‌متری از سطح توده و در مدت زمان ۲۰ دقیقه ازن‌دهی و کمترین میزان آن (۶۷/۵ درصد) در عمق ۶۰ سانتی‌متری از عمق توده لوبیا چشم بلبلی و مدت زمان ۱۰ دقیقه ازن‌دهی مشاهد شد (جدول ۴). همچنین نفوذ گاز ازن به عمق توده لوبیا چشم‌بلبلی در مدت زمان ۳۰ دقیقه موجب تلفات ۱۰۰ درصد حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات در هر سه عمق مورد آزمایش شده است.

جدول ۴- میانگین درصد تلفات حشرات کامل *C.maculatus* در اثر نفوذ گاز ازن به عمق توده لوبیا چشم بلبلی در مدت زمان‌های مختلف

Table 4- Mean mortality of *C. maculatus* adults due to ozone penetration in mass of cowpea in different times

Duration of ozone treatment (min.)	Depth of mass (cm)	Mortality (%) ±SE	*Ranking
10	20	72.5±5.94	B
	40	70.0±4.07	B
	60	67.5±3.23	B
20	20	100	A
	40	97.5±1.43	A
	60	92.5±1.43	A

* The different letters are significantly different at 5% level (Tukey test)

بررسی میزان نفوذ گاز ازن به عمق توده ماش

بین درصد تلفات حشرات کامل که در اعماق مختلف توده ماش قرار داشتند در مدت زمان‌های ۱۰ و ۲۰ دقیقه ازن‌دهی اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (F=31.25; df=5, 18; P<0.000). بیشترین میزان مرگ و میر حشره کامل (۹۷/۵ درصد) در عمق ۲۰ سانتی‌متری از سطح توده و مدت زمان ۲۰ دقیقه ازن‌دهی و کمترین میزان آن (۶۵ درصد) در عمق ۶۰ سانتی‌متری از عمق توده ماش و مدت زمان ۱۰ دقیقه ازن‌دهی مشاهده شد (جدول ۵). همچنین نفوذ گاز ازن به عمق توده ماش در مدت زمان ۳۰ دقیقه موجب تلفات ۱۰۰ درصد حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات در هر سه عمق مورد آزمایش شد.

جدول ۵- میانگین درصد تلفات حشرات کامل *C.maculatus* در اثر نفوذ گاز ازن به عمق توده ماش در مدت زمان‌های مختلف

Table 5- Mean mortality of adults of *C. maculatus* due to ozone penetration in mass of green gram in different times

Duration of ozone treatment (min.)	Depth of mass (cm)	Mortality (%) ±SE	*Ranking
10	20	71.25±1.25	BC
	40	68.75±4.27	BC
	60	65±2.03	C
20	20	97.5±1.43	A
	40	90±2.03	A
	60	76.25±1.25	B

* The different letters are significantly different at 5% level (Tukey test)

بررسی میزان نفوذ گاز ازن به عمق توده نخود

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان می‌دهد که بین درصد تلفات حشرات کامل که در اعماق مختلف توده نخود قرار داشتند در مدت ۱۰ دقیقه ازن‌دهی اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (F=0.167; df=2, 9; P=0.85). بیشترین میزان مرگ و میر حشره کامل (۹۳/۷۵ درصد) در عمق ۲۰ سانتی‌متری از سطح توده و کمترین میزان آن (۹۲/۵ درصد) در عمق ۶۰ سانتی‌متری از عمق توده نخود مشاهد شد. لازم به ذکر است که ازن‌دهی به مدت ۲۰ دقیقه، موجب تلفات ۱۰۰ درصد حشرات کامل *C.maculatus* در اعماق مختلف توده نخود گردید.

جدول ۶- میانگین درصد تلفات حشرات کامل *C. maculatus* در اثر نفوذ گاز ازن به عمق توده نخود در مدت زمان ۱۰ دقیقه

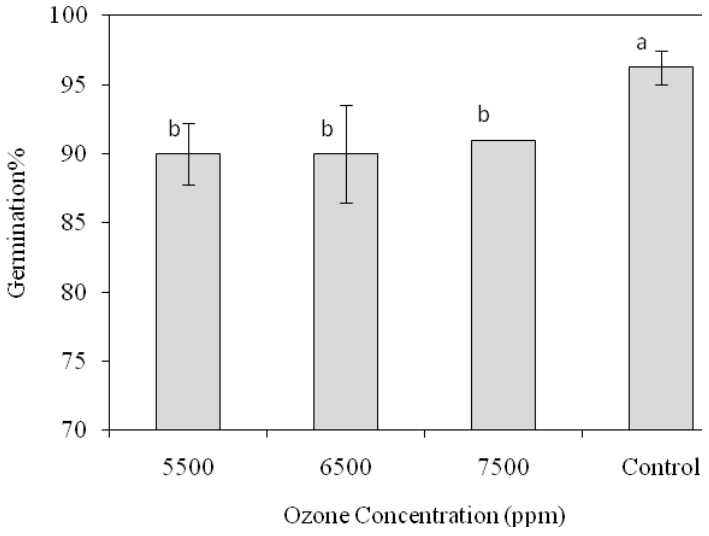
Table 6- Mean mortality of adults of *C. maculatus* due to ozone penetration in mass of chickpea after 10 minutes

Depth of mass (cm)	Mortality (%) ±SE	*Ranking
20	93.75±2.38	A
40	93.75±1.25	A
60	92.5±1.43	A

* The different letters in each row are significantly different at 5% level (Tukey test)

اثر غلظت‌های مختلف گاز ازن روی جوانه‌زنی لوبیا چشم‌بلبلی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که بین درصد جوانه‌زنی دانه‌های لوبیا چشم بلبلی که در معرض غلظت‌های مختلف گاز ازن قرار داشتند و تیمار شاهد اختلاف معنی‌دار وجود دارد (F=6.42; df=3,15; P<0.005). ولی همان‌طور که در شکل ۱ دیده می‌شود، غلظت‌های مختلف گاز ازن از نظر تاثیر روی درصد جوانه‌زنی دانه‌های لوبیا چشم بلبلی در یک گروه آماری قرار گرفته‌اند و در تمام تیمارها درصد جوانه‌زنی بیش از ۹۰ درصد می‌باشد.



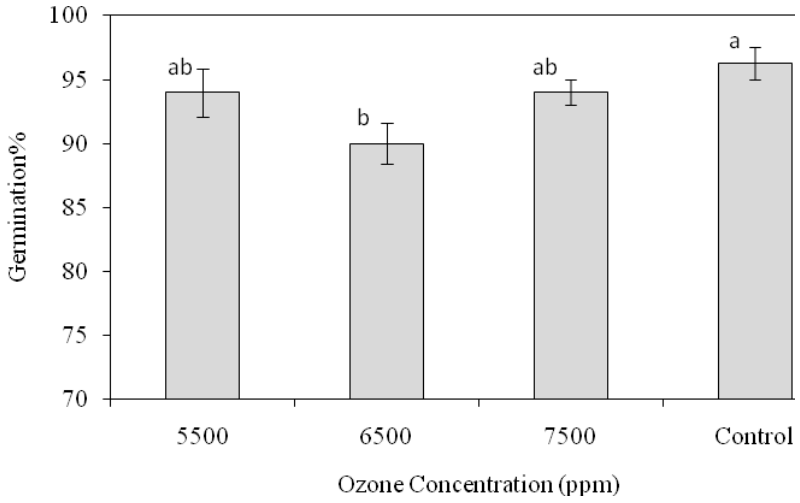
شکل ۱- اثر غلظت‌های مختلف گاز ازن روی جوانه‌زنی بذور لوبیا چشم بلبلی

Fig. 1- Effect of different ozone concentrations on germination of cowpea seeds

* به‌علت مساوی بودن درصد جوانه‌زنی در تمامی تکرارهای تیمار ۷۵۰۰ پی‌پی‌ام گاز ازن خطای استاندارد برابر با صفر شد.

اثر غلظت‌های مختلف گاز ازن روی قدرت جوانه‌زنی بذور ماش

بین درصد جوانه‌زنی دانه‌های ماش که در معرض غلظت‌های مختلف گاز ازن قرار داشتند اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (F=2.95; df=3,15; P=0.05).

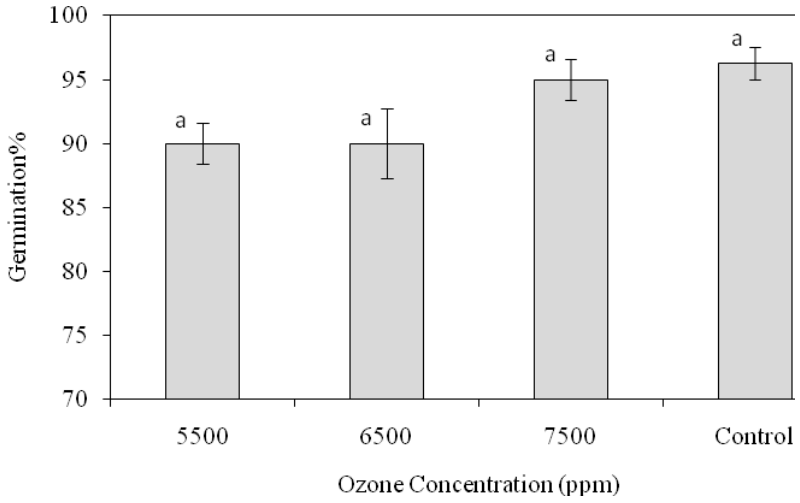


شکل۲- اثر غلظت‌های مختلف گاز ازن روی جوانه‌زنی بذور ماش

Fig. 2- Effect of different ozone concentrations on germination of green gram seeds

اثر غلظت‌های مختلف گاز ازن روی قدرت جوانه‌زنی بذور نخود

بین درصد جوانه‌زنی دانه‌های نخود که در معرض غلظت‌های مختلف گاز ازن قرار داشتند اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (F=2.78; df=3,15; P=0.07).



شکل ۳- اثر غلظت‌های مختلف گاز ازن روی جوانه‌زنی بذور نخود

Fig. 3- Effect of different ozone concentrations on germination of chickpea seeds

بحث

غلظت‌های ۳۵۰۰ تا ۶۵۰۰ پی‌پی‌ام از گاز ازن روی مراحل مختلف رشدی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات که به‌طور مستقیم به‌مدت ۱۵ دقیقه در معرض گاز قرار داشتند موجب تلفات گردید و در بین مراحل مختلف رشدی آفت، حشرات کامل حساس‌ترین و مرحله رشدی تخم مقاوم‌ترین مرحله در برابر گاز ازن بودند. به‌طوری‌که در تمام غلظت‌های مورد استفاده همین روند ادامه داشته است (میزان تلفات لاروهایی که داخل دانه‌های نخود فعالیت داشتند کمتر از میزان تلفات تخم‌های آفت بود که این یک مورد استثنا بود). بر اساس نتایج بیشترین میزان تلفات لاروهای آفت به‌ترتیب در لوبیا چشم بلبلی، ماش و سپس نخود مشاهده شد. به نظر می‌رسد تفاوت در سختی و تراکم بافت این سه نوع حبوبات با یکدیگر عامل تفاوت در نفوذ گاز ازن باشد. جرم حجمی (چگالی) لوبیا چشم بلبلی، ماش و نخود با یکدیگر تفاوت معنی‌دار داشته به نحوی‌که بیشترین جرم حجمی مربوط به نخود (۱/۳۹±۰/۰۳ گرم بر میلی‌متر مکعب) و سپس ماش (۱/۲۷±۰/۰۷ گرم بر میلی‌متر مکعب) بوده و کمترین جرم حجمی (۱/۱۱±۰/۰۱ گرم بر میلی‌متر مکعب) مربوط به دانه‌های لوبیا چشم بلبلی بوده است. این نتایج با یافته‌های Söusa *et al*., 2008; Kells *et al*., 2001 مطابقت دارد، نامبردگان نیز در آزمایش‌های خود به این نتیجه رسیدند که برای کنترل مراحلی از آفت که داخل دانه فعالیت (تخم و لارو) دارند مثل *Sitophilus spp*. و *Rhyzopertha dominica*، غلظت ۱۳۵ پی‌پی‌ام گاز ازن در مدت ۸ روز موفق عمل می‌کند.

همچنین مقایسه نفوذپذیری گاز ازن به عمق توده روی حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات در مدت‌های زمان‌های ۱۰ و ۲۰ دقیقه روی حبوبات مختلف نشان می‌دهد که بیشترین نفوذ به‌ترتیب از میان بذور نخود، لوبیا چشم‌بلبلی و ماش صورت گرفته است (جداول ۴ تا ۶).

تلفات بالاتر حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات که در اعماق مختلف نخود بوده‌اند نسبت به لوبیا چشم‌بلبلی و ماش می‌تواند به علت شکل دانه‌های این حبوبات باشد، زیرا وقتی دانه‌های نخود به‌صورت توده روی هم ریخته می‌شود فضاهای خالی در بین دانه‌ها نسبت به لوبیا چشم‌بلبلی و ماش بیشتر است. لازم به‌ذکر است افزایش مدت زمان ازن‌دهی، کاهش نفوذ گاز به عمق توده را جبران می‌کند. مطالعات سایر پژوهشگران نیز، مطابق با یافته‌های پژوهش حاضر، نشان داده است که افزایش مدت زمان ازن‌دهی زمانی که از غلظت‌های ثابت گاز ازن استفاده می‌شود می‌تواند موجب افزایش تلفات شود (Mason *et al*. 2006; Bongour *et al*., 2011).

برای تعیین اثرات نامطلوب گاز ازن روی قدرت جوانه‌زنی، دانه‌ها با غلظت حداکثر گاز ازن (۷۵۰۰ پی‌پی‌ام)، ازن‌دهی شدند. درصد جوانه‌زنی هیچکدام از دانه‌های مورد آزمایش به زیر ۹۰٪ تقلیل پیدا نکرد. در عین حال که اختلاف معنی‌داری نیز بین درصد جوانه‌زنی دانه های ازن‌دهی شده با غلظت‌های مختلف مشاهده نشد. در مطالعات انجام شده، غلظت ۳۳ میلی‌گرم بر گرم در دقیقه گندم موجب کاهش قدرت جوانه‌زنی گندم شده است، این غلظت، بالاتر از آستانه غلظت مورد نیاز برای آلودگی زدایی قارچی گندم بوده است (Tiwari *et al*., 2010). مطالعات Strait (1998) نشان داده است که غلظت ۵۰ پی‌پی‌ام از گاز ازن به مدت ۳ روز، اثر نامطلوبی روی درصد جوانه‌زنی دانه‌های ذرت ازن‌دهی شده نداشته است. هم‌چنین مطالعات Violleaul *et al*. (2007) نشان داده است که ازن‌دهی دانه‌های ذرت با غلظت ۲۰ گرم بر مترمکعب گاز ازن به مدت ۶/۸ تا ۲۰/۵ دقیقه موجب افزایش جوانه‌زنی دانه‌ها شده است.

با توجه به محدودیت‌های ذکر شده در کاربرد گاز متیل بروماید و معایب آن و هم‌چنین گزارش‌های مرتبط با مقاومت برخی گونه‌های حشرات آفت انباری به گاز فسفین، در حال حاضر چندین ترکیب شیمیایی با هدف یافتن جایگزین برای متیل بروماید مورد آزمایش قرار گرفته‌اند. در بین این ترکیبات تعدادی از جمله متیل یدید، کربونیل سولفاید و سولفوریل

فلوراید (Zettler *et al*., 1997) و پروپیلن اکساید (Navarro *et al*., 2004; Isikber *et al*., 2006) از پتانسیل بیشتری برای جایگزینی متیل بروماید برخوردار هستند. در عین حال گاز ازن با توجه به مجموعه خصوصیات مثبت آن، از جمله توانایی ایجاد تلفات در آفات (Erdman, 1980; Kells *et al*., 2001; Mendez *et al*., 2003; Leesch, 2003)، عدم اثر نامطلوب روی اسیدهای چرب و انواع اسیدهای آمینه موجود در غلاتی نظیر گندم، ذرت و یا سویا (Mendez *et al*., 2003)، هم‌چنین اثر مطلوب کنترلی گاز ازن روی فلور قارچ‌های محصولات انباری از جمله قارچ‌های *Alternaria* (Fr.) *alternate*، *Penicilium citinum*، *Fusarium oxysporum* Schlecht، *Aspergillus flavus* و *Paecilomyces divaricata* (Al Ahmadi *et al*., 2009)، امکان تولید گاز ازن در محل انبار، عدم باقی‌مانده مضر روی محصول ازن‌دهی شده، ایمنی هنگام کار با گاز ازن برای کاربران و تجزیه سریع آن در محیط (Hansen *et al*., 2012)، موجب می‌شود تا استفاده از گاز ازن به‌عنوان یکی از گزینه‌های مناسب در کنترل آفات محصولات انباری مورد توجه قرار گیرد.

References

Abbott, WS. 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology, 18: 265–267.

Al-Ahmadi, S. S., Ibrahim, R. A. and Ouf, S. A. 2009. Application of ozone to control insect pests & moulds of date fruits. Biotechnology Research Asia, 6: 435-446.

Anonymous, 1999. Food & environmental protection newsletter. International Atomic Energy Agency, 2(2): 12-13.

Bagheri-Zenouz, E. 1997. Storage Pests & Their Control Vol. 1. Sepehr Press, 309pp. [In Persian]

Bonjour, E. L., Opit, G. P., Hardin, J., Jones, C. L., Payton, M. E. and Beeby, R. L. 2011. Efficacy of ozone fumigation against major grain pests in stored wheat. Journal of Economic Entomology, 104(1): 308-316.

Erdman, H. E. 1980. Ozone toxicity during ontogeny of two species of flour beetle, *Tribolium confusum* & *T.castaneum*. Environmental Entomology, 9: 16-17.

Hansen, L. S., Hansen, P. and Jensen, K. M. 2012. Lethal doses of ozone for control of all stages of internal & external feeders in stored products. Pest Management Science, 68: 1311-1316.

Haque, M. A., Nakakita, H., Ikenaga, H. and Sota, N. 2000. Development-inhibiting activity of some tropical plants against Sitophilus zeamais Motschulsky (Col.: Curculionidae). Journal of Stored Product Research, 36: 281-287.

Isikber, A. A. and Oztekin, S. 2009. Comparsion of Susceptibility of two Stored-product insects, Ephestiakuehniella Zeller & Triboliumcofusum du Val to gaseous ozone. Journal of Stored Product Research, 45: 159-164.

Isikber, A. A., Oztekin, S., Zorlugenc, B., Zorlugenc, F., Evliya, I. and Karci, A. 2006. Potential use of ozone at high concentration for rapid insect & microbial disinfestations of durable commodities. In: Proceedings of the Annual International Research Conference on Methyl Bromide Alternatives & Emissions Reductions, Orlando, FL, 6 to 9 November 2006. Available at: http://www.mbao.org/2006/06_Proceedings/mbrpro06.html. Accessed 15 June 2013.

ISTA, 2009. Proceeding of International Seed Testing Association Annual Meeting June 15 to 18 , Glattbrugg (Zurich), Switzerland, 70 PP.

Kells, S. A., Mason, L. J., Maier, D. E. and Woloshuk, C. P. 2001. Efficacy & fumigation characteristics of ozone in stored maize. Journal of Stored Product Research, 37: 371-382.

Kochaki, A. and Banayanaval, M. 1995. Pulse Crops. Academic Center for Education, Culture & Research, Mashhad, 235 pp.

Leesch, J. G. 2003. The mortality of stored product insects following exposure to gaseous ozone at high concentrations. Proceedings of the 8th International Working Conference on Stored Product Protection, York, UK, 22-26 July 2003, PP: 827-831

Mason, L. J., Woloshuk, C. P. and Maier, D. E. 1997. Efficacy of ozone to control insects, molds & mycotoxins. In:Donahaye, E.J., Navarro, S., Varnava, A. (Eds.), Proceedings of the International Conference on ControlledAtmosphere & Fumigation in Stored Products. Nicosia, Cyprus Printer Ltd., Nicosia, pp: 665–670.

Mason, L. J., Woloshuk, C. P., Mendoza, F., Maier, D. E. and Kells, S. A. 2006. Ozone: A new control strategy for stored grain, Proceedings of the 9th International Working Conference on Stored Product Protection, Campinas, Brazil, pp: 904-907.

Mendez, F., Maier, D. E., Mason, L. J. and Woloshuk, C. P. 2003. Penetration of ozone intocolumns of stored grains & effects on chemical composition & processing performance. Journal of Stored Product Research, 39: 33-44.

Navarro, S., Isikber, A. A., Finkelman, S., Rindner, M., Azrieli, A. and Dias, R. 2004. Effectiveness of short exposures ofpropylene oxide alone & in combinationwith low pressure or carbon dioxide against Tribolium castaneum (Herbst) (Coleoptera:Tenebrionidae). Journal of Stored Product Research, 40: 197-205.

Parsa, M. and Bagheri, A. 2008. Pulses. Jahad Daneshgahi Publication, 522p. [In Persian]

Shaaya, E., Kostjukovski, M., Eilberg, J. and Sukprakarn, C. 1997. Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. Journal of Stored Product Research, 33: 7-15.

Shahhosseini, M. J. and Kamali, K. 1989. A checklist of insects, mite & rodents affecting stored products in Iran. Journal of Entomological Society of Iran, Supplementum, pp: 147- 429.

Sousa, A. H., Faroni, L. R. D. A., **Gudes, R. N. C., Total, M. R. and Urrichi, W. I. 2008**. Ozone as a management alternative against phosphin-resistant insect pests of stored products. Journal of Stored Product Research, 44: 379-385.

Strait, C. A. 1998. Efficacy of ozone to control insects & fungi in stored grain. M.S. thesis, Purdue University, West Lafayette, IN. 59pp.

Subramanyam, B. and Hagstrum, D. W. 1995. Resistance measurement & management. In: Subramanyam, B.,Haghstrum, D. W. (Eds), Integrated management of insect in stored products. Marcel Dekker Inc., New York, pp: 331-398.

Talukder, F. A. and Howse, P. E. 1995. Evalution of Aphanamixis polystachya as a source of replelents, antifeedants,toxicants & productants in storage against *Tribolium castaneum*. Journal of Stored Product Research, 31(1): 55-61.

Tapondjou, L. A., Adler, C., Bouda, H. and Fontem, D. A. 2002. Efficacy of powder & essential oil from Chenopodium ambrosioides Leaves as post-harvest grain protectants against six-stored product beetles. Journal of Stored Product Research, 38: 395-402.

Tiwari, B. K., Brennan, C. S., Curran, T., Gallagher, E., Cullen, P. J. and Donnell, C. P. O. 2010. Review: application of ozone in grain processing. Journal of Cereal Science, 51: 248–255.

Violleaul, F., Hadjeba, K., Albet, J., Cazalis, R. and Surel, O. 2007. Increase of corn seeds germination by oxygen & ozone treatment. IOA Conference & Eexhibition, Valencia, pp: 29–31 Oct 2007.

Zettler, J. L., Leesch, J. G., Gill, R. F. and Mackey, B. E. 1997. Toxicity ofcarbonyl siulphide to stored product insects. Journal of Economic Entomology, 90: 832-836.

Journal of Entomological Research

Volume 7, Issue 3, pages: 219-231

Islamic Azad University, Arak Branch
ISSN 2008-4668
http://jer.iau-arak.ac.ir

Studying on the efficacy of gaseous ozone to control the cowpea weevil

Z. Tajik[1], A. Marouf[2*], E. Sanatgar[3]

1- Graduated Student, Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Arak Branch, Arak, Iran
2- Assistant Professor, Plant Protection Research Department, Zanjan Agricultural & Natural Resources Research Center, AREEO, Zanjan, Iran
3- Assistant Professor, Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Arak Branch, Arak, Iran

Abstract

Cowpea weevil (*Callosobruchus maculatus* F.) is the most important pest of pulses & caused heavy damage to them. Based on published documents, gaseous ozone caused to mortality of some stored pest adults. In this study the effect of different concentrations of ozone (3500, 5000, 6500 ppm) gas against eggs of *C. maculatus* on cowpea & in the larvae stage of *C. maculatus* on the cowpea, green gram & chick pea & concentrations of 700, 1200 & 1700 ppm against adults of *C. maculatus* on the cowpea have been tested. Penetration efficacy of ozone gas in depth of 20, 40, 60 cm into the mass of cowpea, green gram & chick pea bulk for exposure times of 10 & 20 minutes onto a *C. maculatus* has been studied separately. Then, effect of different ozone concentrations (5500, 6500, 7500 ppm) on germination of cowpea, green gram & chick pea have been evaluated. Based on results, the concentration of 6500 ppm provided 54.8% mortality to eggs & 100, 93.3 & 36.1 percent to larvae in cowpea, green gram & chickpea respectively. Concentration of 1700 ppm induced 97% mortality to adults. Twenty minutes exposure time for adults in depth of 60 cm of cowpea, green gram & chick pea bulk resulted %72.25, %92.5, %100 mortality respectively. Moreover, 30 minutes exposure time had %100 of mortality of adults in depth of 60 cm. In addition to above results, no negative effects were observed on percentage of germination due to different concentrations of gaseous ozone.

Keywords: pulse, *Callosobruchus maculatus*, gaseous ozone, stored pests

* Corresponding Author, E-mail*: marouf@iripp.ir*
Received: 24 Apr. 2013 – Accepted: 4 Feb. 2015