دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اراک
شاپا ٤٦٦٨-٢٠٠٨
http://jer.iau-arak.ac.ir

فصلنامه تخصصی تحقیقات حشره‌شناسی

جلد ١٤، شماره١، سال ١٤٠١، (٥١-٣٩)

بررسی اثرات کشندگی و زیرکشندگی سموم فلوبندیامید، امامکتین بنزوات+ لوفنورون، تیوسیکلام و اسپینوساد روی زنبور پارازیتوئید *Habrobracon hebetor* (Say) (Hym.,: Braconidae) در شرایط آزمایشگاهی

سلما پاپری[1]، ابوفاضل دوستی[2]، مجید فلاح زاده[2]، نازیلا سقایی[3]*

١- دانشجوی دکترای تخصصی، گروه حشره شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحدجهرم، جهرم، ایران
٢- به ترتیب استادیار و استاد، گروه حشره شناسی،دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، جهرم، ایران
٣- استادیار، گروه حشره شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت، مرودشت، ایران

چکیده

زنبورهای خانواده براکونیده از مهم‌ترین پارازیتوئیدهای آفات می‌باشند. عملکرد پارازیتوئیدها می‌تواند به وسیله کاربرد حشره‌کش‌ها تحت‌تأثیر قرار گیرد. جهت استفاده هم‌زمان عوامل کنترل بیولوژیکی و آفت‌کش‌ها در مدیریت آفات، شناخت اثر آفت‌کش‌ها روی عوامل کنترل بیولوژیکی ضروری است. در این بررسی، اثرات کشندگی و زیرکشندگی سموم فلوبندیامید، امامکتین بنزوات+لوفنورون، تیوسیکلام و اسپینوساد روی زنبور پارازیتوئید *Habrobracon hebetor* (Say) (Hym.,: Braconidae) در شرایط آزمایشگاهی با ٦ تیمار و ٣ تکرار برای هر حشره کش مورد بررسی قرار گرفت. مقدار LC_{50} اسپینوساد روی حشره بالغ زنبور پارازیتویید ١/٢٥ میلی‌گرم ماده مؤثره بر لیتر به دست آمد که نشان داد که این حشره‌کش سمی‌ترین ترکیب برای این حشره می‌باشد. غلظت کشنده حشره‌کش‌های تیوسیکلام، امامکتین بنزوات+لوفنورون، فلوبندیامید به ترتیب ١٩/٩٩، ٧/٥٦ و ٦/٤٥ میلی‌گرم ماده مؤثره بر لیتر محاسبه شد که به ترتیب سمیت بیشتری روی مراحل نابالغ این پارازیتوئید داشتند. غلظت زیرکشنده (LC_{30}) اسپینوساد، فلوبندیامید، امامکتین بنزوات و تیوسیکلام به ترتیب٠/٧١، ٣/٦٧، ٤/٢٦ و ١٤/٤٤ میلی‌گرم ماده مؤثره بر لیتر محاسبه شد. بر اساس طبقه‌بندی سازمان بین‌المللی کنترل بیولوژیک، برای زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* اسپینوساد در گروه حشره‌کش‌های با ضرر بالا، امامکتین بنزوات+لوفنورون و فلوبندیامید در گروه حشره‌کش‌های با ضرر متوسط و تیوسیکلام در گروه حشره کش‌های بی‌ضرر قرار گرفت.

واژه های کلیدی: پارازیتوئید، حشره‌کش‌های شیمیایی، دموگرافی، کنترل بیولوژیکی، *Habrobracon hebetor*

* نویسنده رابط، پست الکترونیکی: *fdousti@yahoo.com*

تاریخ دریافت مقاله:١٤٠٠/١١/١٥ - تاریخ پذیرش مقاله:١٤٠١/٣/٢٣

مقدمه

مدیریت تلفیقی آفات (IPM)، تفکری علمی است که در آن از روش‌های سازگار با هم، جهت کنترل آفات و جمعیت آن‌ها استفاده می‌شود (Gonzalez *et al*. 2013). استفاده از چندین روش به طور هم زمان، برای کنترل آفات، روش مؤثری است که تکیه بر آفت‌کش‌های شیمیایی و عواقب ناشی از آن را کاهش می‌دهد. استفاده هم زمان از کنترل شیمیایی و بیولوژیک توصیه می‌شود. از جمله عوامل کنترل بیولوژیک زنبور پارازیتوید *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae) می باشد (Brower *et al*., 1996; Mbata & Warsi, 2019). زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* به طور طبیعی در مزارعی که کمتر دستخوش سم‌پاشی قرار گرفته‌اند وجود دارند و معمولا لارو پروانه‌ها را پارازیت می‌نماید. در نتیجه آفات بسیاری در اثر فعالیت این زنبور کنترل می‌شوند (Heimpel, 1997; Badran *et al*., 2020). این امکان وجود دارد که ترکیبات سمی به طور غیرمستقیم پارامترهای زیستی و تولیدمثلی دشمن طبیعی را تحت‌تأثیر قرار دهد (Hashemi *et al*., 2014). استفاده بی‌رویه از سموم آفت‌کش باعث ازبین‌رفتن حشرات مفید می‌شود (Schuller *et al*. 1997). یکی از راه‌های مهم برای دوری از مشکلات ناشی از سموم شیمیایی، استفاده از سمومی است که به علت انتخاب فیزیولوژیک یا اکولوژیک به دشمنان طبیعی صدمه نمی‌زنند (Saber *et al*., 2005; Desneux *et al*., 2007; Sánchez-Bayo & Wyckhuys, 2019). برای بررسی اثرات مختلف سموم روی پارامترهای زیستی جمعیت دشمنان طبیعی از سم‌شناسی دموگرافیک استفاده می‌شود و به‌عنوان یک ابزار برای ارزیابی اثرات کلی سموم است (Stark & Banks, 2003).

باتوجه به اهمیت زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* در کنترل بیولوژیک، اخیراً مطالعات مختلفی در بررسی فرآسنجه های رشدی آن انجام شده است (Amir-Maafi & Chi, 2006). باتوجه به استفاده از سموم شیمیایی در کنترل لاروهای بالپولکداران آفت که میزبان این زنبور هستند، تعیین اثرات جانبی این سموم روی فرآسنجه های رشدی زنبورهای زنده مانده، لازم به نظر می‌رسد تا بر اساس این نتایج در انتخاب سموم دقت لازم به عمل آید (Shishebor & Mohammadali, 2012; Abedi *et al*., 2014).

سم دلتامترین بیشترین تاثیر سوء را روی پارامترهای رشد جمعیت پایدار زنبور *H. hebetor* و درصد خروج حشره کامل از شفیره های تیمار شده دارد در حالیکه اختلاف معنی داری بین دو آفت کش ایندوکساکارب و ایمیداکلوپراید مشاهده نکرد و توصیه نمود که دو سم اخیر را می توان همراه با این زنبور در برنامه های مدیریت تلفیقی به کار برد (Sarmadi *et al*., 2008 a,b). فرمولاسیون های تجاری آزادیراختین و سیپرمترین بر اکثر پارامترهای جدول زندگی زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* در مراحل لاروی و حشره کامل تأثیر منفی می گذارد اگر چه که سیپرمترین سمیت حاد بیشتری در مقایسه با آزادیراختین دارد (Abedi *et al*., 2014).

در سال های اخیر مطالعات متفاوتی در ارتباط با تعیین اثرات غلظت های کشنده و زیرکشنده حشره کش ها روی فرآسنجه های رشدی زنبور زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* انجام شده است (Rafiee-Dastjerdi *et al*., 2008, 2009; Mahdavi & Saber, M. 2014; Rezaei *et al*., 2018a, 2018b, 2019; Hatami *et al*., 2022). از آنجا که برنامه های جدید مدیریت آفات بر استفاده از آفتکش های کم خطر تأکید زیادی می کند، بنابراین بررسی ابعاد تأثیر حشره کش های مصرفی روی حشرات مفید ضروری به نظر می رسد، تا بتوان با انتخاب درست آفتکش ها، گامی در جهت تدوین برنامه های مدیریت تلفیقی آفات برداشت (Desneux *et al*., 2007; Sánchez-Bayo & Wyckhuys, 2019). با توجه به اهمیت به هدف ذکر شده، در تحقیق حاضر حساسیت حساسیت زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* نسبت به

دزهای کشنده و زیر کشنده حشره کش های فلوبندیامید، امامکتین بنزوات + لوفنورون ، تیوسیکلام و اسپینوساد بررسی شد.

مواد و روش ها

حشره کش ها ی مورد استفاده

در این تحقیق اثرات کشندگی و زیرکشندگی سموم فلوبندیامید، امامکتین بنزوات + لوفنورون ، تیوسیکلام و اسپینوساد روی زنبور *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae) بررسی شده است. جدول ١ مشخصات سموم به کار رفته را نشان می دهد.

پرورش شب پره مدیترانه ای آرد (*Ephestia kuehniella*)

کلنی اولیه شب پره آرد از گروه گیاه پزشکی دانشکده کشاورزی برازجان تهیه شد. جهت پرورش از تشت های پلاستیکی که روی آن ها با پارچه پوشیده شده بود، استفاده شد. داخل هر تشت، آرد و سبوس گندمی که از قبل داخل آون استریل شده بود، به نسبت ٣ به ١ ریخته شد و یک گرم تخم شب پره آرد به صورت یکنواخت روی آن پخش گردید و به این صورت آلوده سازی انجام شد. تشت ها در اتاقک رشد در دمای ١±٢٦ سلسیوس و رطوبت نسبی ٥±٦٥ درصد و دوره نوری ١٦ ساعت روشنایی و ٨ ساعت تاریکی نگهداری شدند. به منظور پرورش و نگهداری جمعیت بید آرد، حشرات کامل، روزانه با استفاده از آسپیراتور برقی از ظروف پرورش جمع آوری و به ظرف تخم ریزی منتقل می شدند . جهت تخم گیری از قیف پلاستیکی که دهانه آن با پارچه توری (٥٠ مش) پوشیده شده بود، استفاده شد. قیف ها روی یک صفحه گذاشته شدند تا تخم ها روی این صفحه قرار گیرند. تخم ها هر ٢٤ ساعت جمع آوری و برای تشکیل کلنی جدید مورد استفاده قرار گرفت (Attaran, 1996).

پرورش *Habrobracon hebetor*

جهت تکثیر زنبور *H. hebetor* از دستگاه انکوباتور استفاده شد تا دما، رطوبت و دوره روشنایی به صورت مناسب و بی هیچ نوسانی کنترل شود. علاوه بر این از پتری دیش های ١٠ سانتیـمتری که دریچه ای جهت تنفس و تغذیه در آنـها تعبیه شده بود، استفاده شد.

زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* از موسسه تحقیقات آفات و بیماری های کشور تهیه گردید و پس از آن جهت تکثیر و ایجاد کلونی به آزمایشگاه منتقل شد. جهت پرورش و تکثیر زنبورها در هر پتری دیش ٢٠ عدد لارو سن آخر شب پره آرد قرار داده شد. به هر پتری دیش پنج جفت زنبور نر و ماده منتقل و جهت تغذیه آن ها از پنبه ای آغشته به آب عسل استفاده شد. پس از گذشت چند ساعت از جفت گیری زنبور نر و ماده و تخم گذاری، زنبورها از پتری دیش ها خارج و مجددا به پتری دیش های جدید حاوی لارو جهت تکثیر بیشتر منتقل شدند. پتری دیش های حاوی لاروهای پارازیته شده توسط زنبور *H. hebetor* تا زمان ظهور حشره بالغ زنبور در شرایط دمایی ١±٢٦ درجه سلسیوس و رطوبت ٦٥ ٪ و دوره ی روشنایی ١٦: ٨ قرار گرفتند (Amir-Maafi & Chi, 2006).

زیست سنجی حشرات کامل *H. hebetor*

برای ارزیابی اثرات آفت کش ها روی حشرات کامل زنبور *H. hebetor* از روش تماس با باقی مانده سموم استفاده شد (Golmohammadi & Hejazi, 2014). قبل از انجام آزمایش های اصلی، آزمایش های مقدماتی برای تعیین محدوده غلظت های مؤثر حشره کش ها انجام گرفت و بر اساس آن پایین ترین و بالاترین غلظت که به ترتیب ۲۰ و۸۰ درصد مرگ و میر را ایجاد نمودند، مشخص گردید. غلظت های حد فاصل این دو با محاسبه فاصله لگاریتی و جمعاً ٦ غلظت تعیین گردید. در روز آزمایش اصلی یک محلول پایه با استفاده از آب مقطر استریل و توئین ۸۰ از هر سم تهیه شد و سایر غلظت های سمی از این محلول پایه ساخته شد.

برای هر تیمار ٦ غلظت و یک شاهد در نظر گرفته شد. ۲ سی سی از هر سم با استفاده از سم پاش دستی در سطح پتری دیش پخش شد. نیم ساعت پس از خشک شدن در دمای اتاق، حشرات کامل یک روزه به تعداد ۲۰ عدد به هر پتری دیش منتقل شد. بعد از ٢٤ ساعت تعداد مرگ و میر آن ها تعیین شد. حشراتی که در صورت تحریک قادر به حرکت نبودند به‌عنوان مرده در نظر گرفته شدند. برای هر حشره کش ۳ تکرار در نظر گرفته شد. درب پتری دیش ها جهت تبادلات رطوبتی و هوای مناسب به وسیله ی توری پوشانده شد. سپس پتری دیش ها به انکوباتور با دمای ۱±۲٦ سلسیوس و رطوبت نسبی ٦٥٪ و دوره ی نوری ۸:۱٦ انتقال داده شد و نتایج در ساعت های مشخص و در هر ۳ تکرار ، ثبت گردید. در نهایت میزان مرگ و میر از مجموع زنبورهای تست شده مربوط به هر غلظت به صورت جداگانه در نرم افزار Excel به صورت جداولی ثبت شد. سپس داده ها در نرم افزار SPSS قرار داده شدند و نمودار پروبیت هر سم رسم شد (Fooladi *et al*., 2015).

دموگرافی حشرات کامل زنبور *H. hebetor*

برای این منظور، تعداد ٦۰ عدد زنبور ماده ی حداکثر ٢٤ ساعته به صورت گروه های ۱۰ تایی در لوله های شیشه ای قرار داده شد و پس از اضافه کردن ۱۰ عدد زنبور نر به هر لوله، اجازه جفت گیری یافتند. پس از ٢٤ ساعت حشرات نر از لوله ها خارج گردید. تمامی سطوح پتری دیش به غلظت های LC_{30} سموم آغشته گردید. نیم ساعت پس از خشک شدن پتری ها در دمای اتاق، حشرات ماده بارور درون پتری ها قرار داده شدند. پس از ٢٤ ساعت حشراتی که تحت غلظت های LC_{30} زنده مانده بودند، را برداشت کرده و ۲۵ عدد از آن ها به طور تصادفی انتخاب شد و به صورت انفرادی و جداگانه به ظروف پتری منتقل شدند. روزانه ۷ عدد لارو سن آخر پروانه بید آرد داخل ظروف پتری در اختیار هر زنبور قرار گرفت. این کار تا آخر عمر زنبورهای ماده انجام داده شد. ظروف پتری پس از شمارش روزانه تعداد تخم گذاشته شده توسط هر زنبور، تا ظهور حشرات کامل داخل اتاق رشد نگهداری شدند. در این مدت تعداد تخم تفریخ شده و تعداد حشرات کامل نر و ماده ظاهر شده در هر ظرف ثبت شد. این کار تا زمان مرگ تمام زنبورهای آزمایش ادامه یافت و باتوجه‌به داده های جمع آوری شده جداول تولید مثلی، زیستی و جمعیت زنبور، تشکیل شد. این آزمایش در شرایط دمایی ۱±۲٦ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ٥±٦٥ درصد و دوره ی نوری ۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شد (Mahdavi & Saber, 2014; Fooladi *et al*., 2015).

نتایج

اثرات کشندگی حشره کش ها بر روی زنبور *H. hebetor*

نتایج حساسیت حشرات کامل زنبور *H. hebetor* به حشره‌کش‌های اسپینوساد، امامکتین بنزوات + لوفنورون، تیوسیکلام و فلوبندیامید در جدول ٢ ارائه شده است. مقادیر LC_{50} حشره‌کش‌های اسپینوساد، فلوبندیامید، امامکتین بنزوات + لوفنورون و تیوسیکلام روی زنبور *H.hebetor* به ترتیب ١/٢٥، ٦/٤٥ ، ٧/٥٦، ١٩/٩٩میلی گرم ماده مؤثره بر لیتر به دست آمد. مقادیر LC_{50} نشان دهنده این است که حشره کش اسپینوساد سمی ترین ترکیب روی حشرات کامل زنبور *H. hebetor* می باشد و حشره‌کش‌های فلوبندیامید، امامکتین بنزوات + لوفنورون و تیوسیکلام به ترتیب سمیت کمتری دارند. مقایسه ی محدوده های بالا و پایین مقادیر LC_{50} مربوط به حشره کش ها نشان می‌دهد که دو حشره کش امامکتین بنزوات + لوفنورون و فلوبندیامید به دلیل هم‌پوشانی محدوده های مقادیر LC_{50} بر اساس ماده مؤثره اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند ولی بین سایر تیمارهای حشره کش به علت عدم همپوشانی محدوده اطمینان مقادیر LC_{50} بر اساس ماده مؤثره اختلاف معنی داری وجود دارد. نتایج شیب خط غلظت–اثر حشره کش ها روی *H. hebetor* نشان می‌دهد که شیب خط حشره کش تیوسیکلام بیشتر می‌باشد، یعنی با کوچکترین افزایش غلظت در مقادیر این ترکیب مرگ و میر بیشتری در *H. hebetor* حاصل می‌شود (جدول٢).

اثرات زیرکشندگی حشره کش ها روی پارامترهای رشد جمعیت پایدار *H. hebetor*

نتایج پارامترهای رشد جمعیت پایدار *H. hebetor* تحت تاثیر غلظت LC_{30} حشره‌کش‌های مختلف در جدول ٣ ارائه شده است. بین تیمارهای حشره‌کش‌های مورد آزمایش، از نظر پارامترهای جدول زندگی زنبور پارازیتویید اختلاف معنی داری وجود داشت. کمترین مقدار نرخ ناخالص تولید مثل روی تیمار امامکتین بنزوات + لوفنورون و بیشترین مقدار آن روی شاهد مشاهده شد. نتایج نشان داد که مقدار نرخ خالص تولیدمثل در تیمار شاهد بیشتر و در تیمار امامکتین بنزوات + لوفنورون کمتر از سایر تیمارها بود. همچنین، بیشترین مقدار نرخ ذاتی افزایش جمعیت مربوط به حشرات پرورش یافته روی تیمار شاهد و کمترین آن مربوط به حشرات پرورش یافته روی تیمار اسپینوساد بود. نرخ متناهی افزایش جمعیت نیز روی شاهد بیشترین و در تیمار اسپینوساد کمترین مقدار را داشت. از نظر متوسط مدت زمان یک نسل آفت و مدت زمان دو برابر شدن جمعیت در بین تیمارهای مختلف مورد مطالعه اختلاف معنی داری مشاهده شد و بیشترین مقدار این پارامترها در تیمار اسپینوساد و کمترین مقدار آنها در تیمار شاهد به دست آمد (جدول ٣).

اثرات زیرکشندگی حشره کش ها روی پارامترهای زیستی *H. hebetor*

نتایج زادآوری، باروری و طول عمر حشرات کامل *H. hebetor* تحت تاثیر حشره کش ها در جدول ٤ ارائه شده است. نتایج نشان داد که حشره کش ها اثر معنی داری روی پارامترهای زیستی زنبور *H.hebetor* داشتند. میزان زادآوری و باروری در تیمار اسپینوساد به طور معنی داری کمتر از بقیه ی تیمارها بوده و بیشترین میزان زادآوری و باروری در تیمار شاهد به دست آمد. طولانی ترین طول عمر افراد ماده زنبور *H. hebetor* در تیمار شاهد ثبت شد.

منحنی های بقای ویژه سنی (l_x) و منحنی های زادآوری ویژه سنی (m_x) زنبور *H.hebetor* تحت تاثیر حشره کش ها در شکل ١ ارائه شده است. منحنی های بقا روی همه تیمارهای حشره کش ها تقریبا مشابه هم بود. همچنین، ماده های پرورش یافته روی شاهد زنده مانی و میزان تخمریزی بیشتری داشتند و منحنی بقا روی این رقم طولانی تر بود.

جدول۱. اطلاعات عمومی سموم مورد استفاده

Table1. General information on tested insecticide formulations.

Action Ingredients (AI)/Trade name	Supplier	Mode of action[1]	Chemical group	Concentration	Formulation[2]	Dose
Flubendiamide/ Takumi®	Nihon Nohyaku	Ryanodine receptor modulators	Diamide	20%	WG	0.2 gr/L
Emamectin benzoate+lufenuron/ Proclim Fit®	Syngenta	Glutamate-gated chloride channel (GluCl) allosteric modulators Inhibitors of chitin biosynthesis affecting CHS1	Avermectins Benzoylureas	50%	WG	0.25 gr/L
Thiocyclam hydrogen oxalate/ Evisect®	Nippon Kayaku	Nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) channel blockers	Nereistoxin analogues	50%	SP	1 gr/L
Spinosad/ Tracer®	Dow Elanco	Nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) allosteric modulators	Spinosyns	24%	SC	0.25 ml/L

1Mode of action: IRAC (2021). 2Formulation: WG: water-dispersible granules, SP: soluble powder, SC: suspension concentrate

جدول۲. سمیت حشره‌کش‌های مورد آزمایش روی زنبور *H. hebetor*

Table 2. Toxicity of treated insecticides to adults of *Habrobracon hebetor*

Insecticides	Slope ± SE	X^2	Lethal Doses (mg a.i./l)		
			LC_{30} (95%FL)	LC_{50} (95%FL)	LC_{90} (95%FL)
Spinosad	2.17 ± 0.37	3.355	0.71 (0.46-0.91)	1.25 (1.01-1.46)	4.86 (3.57-8.68)
Emamectin Benzoate+Lufenuron	2.11 ± 0.4	2.237	4.26 (2.59-5.45)	7.56 (6.09-8.82)	30.69 (21.48-65.28)
Thiocyclam	3.71 ± 0.66	3.901	14.44 (11.16-16.56)	19.99 (17.74-21.83)	44.30 (36.59-64.60)
Flubendiamide	2.14 ± 0.38	3.591	3.67 (2.38-4.63)	6.45 (5.29-7.51)	25.59 (18.24-50.19)

جدول ۳. پارامترهای جمعیت پایدار زنبور پارازیتوئید *H. hebetor*تیمار شده با غلظت LC_{30} حشره‌کش‌های مختلف

Table 3. Stable population parameters of *H. hebetor* treated with LC_{30} concentration of different insecticides

Parameter	Treatments					df	F
	Control	Spinosad	Emamectin Benzoate+Lufenuron	Thiocyclam	Flubendiamide		
GRR	65.66 ± 0.05 a	57.91 ± 0.058 d	49.53 ± 0.11 b	59.09 ± 0.126 b	58.21 ± 0.086 c	120,4	3777.56 **
R_0	54.57 ± 0.05 a	45.39 ± 0.08 d	39.5 ± 0.06 e	49.82 ± 0.17 b	48.13 ± 0.13 c	120,4	2703.33 **
r_m	0.186 ± 0.008 a	0.142 ± 0.008 d	0.143 ± 0.007 d	0.148 ± 0.009 b	0.151 ± 0.006 c	120,4	1180.49 **
λ	1.30 ± 0.002 a	1.154 ± 0.0034d	1.164 ± 0.006 d	1.160 ± 0.001 b	1.166 ± 0.001 c	120,4	14.13 **
T	35.21 ± 0.005 e	26.74 ± 0.004 a	24.85 ± 0.029 b	24.72 ± 0.01 d	25.38 ± 0.001 c	120,4	20554.7 **
DT	3.07 ± 0.009 e	4.79 ± 1.002 a	4.84 ± 0.001 b	4.46 ± 0.002 d	4.69 ± 0.001 c	120,4	11574.8 **

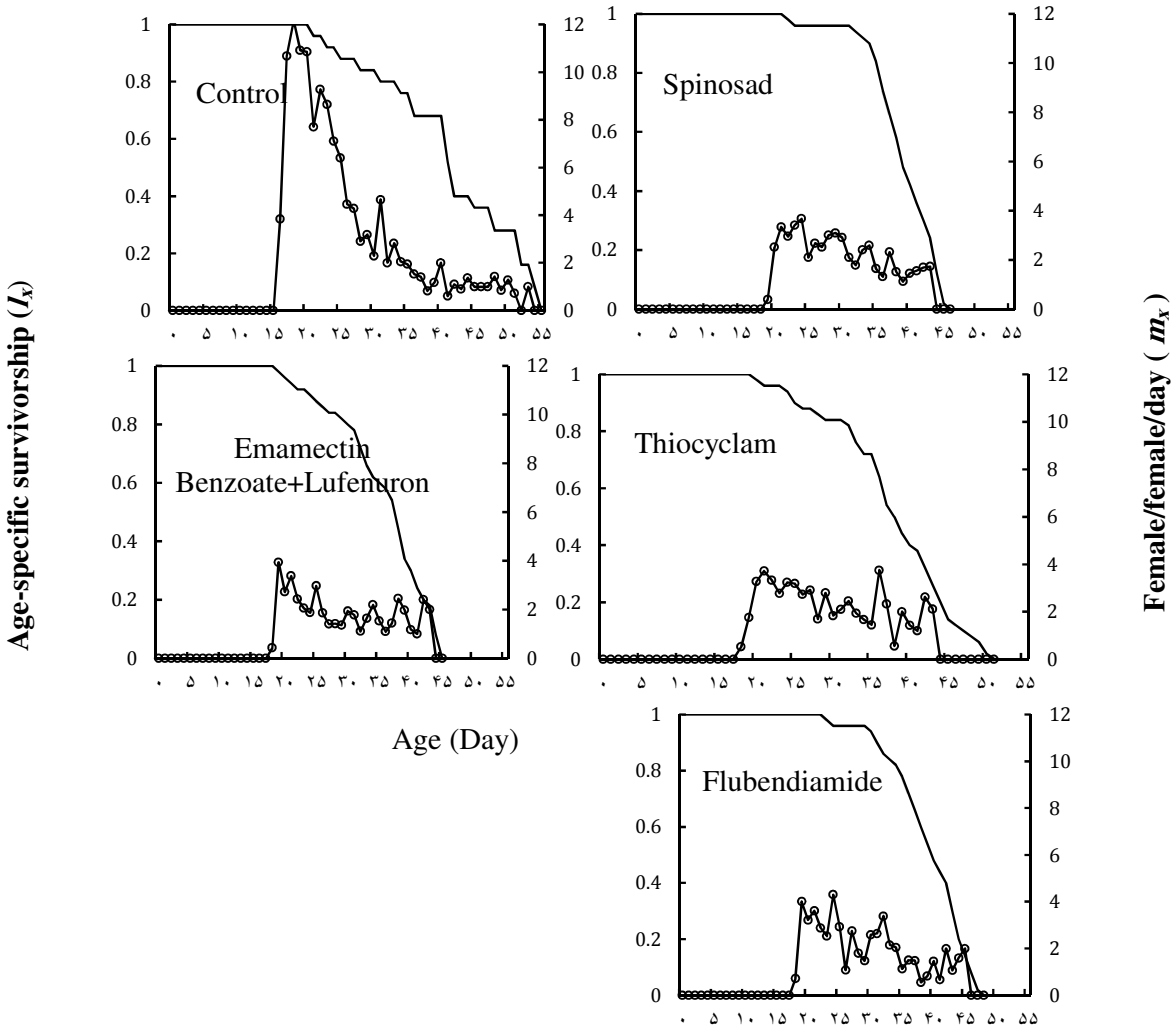
Values with different letters are significantly different by LSD test

جدول٤ . اثرات زیرکشندگی (LC_{30}) حشره کش ها روی پارامترهای زیستی زنبور*H. hebetor*

Table 4. Sublethal effects of treated insecticides (LC_{30}) on the biological parameters of *H. hebetor*

Treatments	Number of laying eggs	Fertile eggs (%)	Female longevity
Control	107.22 ± 4.07 a	71.24 ± 0.34 a	25.42 ± 2.41 a
Spinosad	63.19 ± 3.43 e	49.95 ± 1.44 e	15.36 ± 1.44 e
Emamectin Benzoate+Lufenuron	79.24 ± 2.52 d	57.09 ± 2.45 d	16.41 ± 1.25 d
Thiocyclam	93.47 ± 3.503 b	61.46 ± 1.417 b	20.38 ± 0.86 b
Flubendiamide	87.26 ± 3.15 c	53.83 ± 1.24 c	18.91 ± 1.29 c

Values with different letters are significantly different by LSD test



شکل ١. منحنی های بقای ویژه سنی (l_x) و زادآوری ویژه سنی (m_x) در زنبور*Habrobracon hebetor* تیمار شده با غلظت زیر کشنده حشره کش ها(LC_{30})

Fig 1. Age-Specific Survivorship (l_x) and fecundity (m_x) of adult *Habrobracon hebetor* was treated with sublethal dose (LC_{30}) of pesticides.

بحث

در این تحقیق، ابتدا اثرات کشندگی حشره‌کش‌های اسپینوساد، امامکتین بنزوات+لوفنورون، تیوسیکلام و فلوبندیامید روی زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* به روش تماسی مورد بررسی قرار گرفت و مقدار LC_{50} این سموم به ترتیب ۱/۲۵، ۷/۵٦، ۱۹/۹۹ و ٦/٤٥ میلی گرم ماده موثره بر لیتر برآورد گردید که در بین حشره کش های مورد آزمایش، اسپینوساد به‌عنوان سمی‌ترین حشره‌کش روی این زنبور شناخته شد و پس از آن به ترتیب فلوبندیامید، امامکتین بنزوات+لوفنورون و تیوسیکلام قرار دارند.

مهدوی و همکاران مقدار LC_{50} اسپینوساد را برای حشرات بالغ زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* ، ۱۱۷/۳۷ پی پی ام گزارش کرده اند (Mahdavi *et al*., 2015). همچنین فولادی و همکاران مقدار LC_{50} حشره‌کش تیوسیکلام را ۳/۱۵ میلی گرم ماده موثره بر لیتر که با نتایج این تحقیق اختلاف معنی داری دارد (Fooladi *et al*., 2015).

همچنین اثرات زیر کشندگی مقدار LC_{30} حشره‌کش‌ها روی پارامترهای جدول زندگی زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* مورد بررسی قرار گرفت که در میان حشره‌کش‌ها، تیمار اسپینوساد بیشترین تأثیر سوء را روی پارامترهای زیستی، تولیدمثلی و جدول زندگی زنبور داشت، سمیت حشره‌کش‌های امامکتین بنزوات+لوفنورون و فلوبندیامید متوسط بود و اسپینوساد در گروه حشره‌کش‌هایی با ضرر بالا و حشره‌کش تیوسیکلام برای زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* بی‌ضرر بود.

مقدار LC_{30} اسپینوساد بر روی حشره بالغ زنبور پارازیتویید ۰/۷۱ میلی گرم ماده موثره بر لیتر بود. مقدار این پارامتر در تحقیق مهدوی و همکاران (Mahdavi *et al*., 2009)، ۹٦/۷۲ پی پی ام و مقدار LC_{25} این حشره کش توسط رفیعی دستجردی و همکاران (Rafiee-Dastjerdi *et al*., 2009)، ٥/۰٤ میلی گرم ماده موثره در لیتر گزارش شده که نتایج هر سه این تحقیقات با هم اختلاف دارند.

در بررسی‌های انجام شده مقدارLC_{30} برای حشره‌کش تیوسیکلام، ١٤/٤٤ میلی گرم ماده موثره بر لیتر شد که در تحقیق فولادی و همکاران (Fooladi *et al*., 2015) مقدارLC_{25} ، ١/٤٤٨ میلی گرم ماده موثره بر لیتر گزارش شده است. همچنین رضایی و همکاران (Rezaei *et al*., 2018b) مقدار LC_{30} این سم را برای زنبور پارازیتوئید *H. hebetor*، ۳۹۱ پی پی ام گزارش کرد که باز هم نتایج هر سه تحقیق با هم اختلاف دارند.

مهم‌ترین پارامتر تعیین‌کننده رشد جمعیت، نرخ ذاتی افزایش جمعیت (r_m) است. کاهش در میزان بقا و باروری که منجر به کاهش در r_m می‌شود، در واقع مهم‌ترین واکنش حشرات نسبت به دوزهای زیر کشندگی حشره‌کش‌ها است که منجر به کاهش جمعیت پارازیتوئیدها در نسل‌های بعدی می‌گردد که کمترین مقدار نرخ ذاتی افزایش جمعیت در تیمار اسپینوساد ثبت شد.

نرخ ذاتی افزایش جمعیت (r_m) این زنبور در غلظت LC_{30} حشره کش اسپینوساد، برابر با ۰/۰۰۸±۰/۱٤۲ برآورد شد در حالیکه مهدوی و همکاران (Mahdavi *et al*., 2015) این پارامتر را، ۰/۲۱ و رفیعی و همکاران (Rafiee-Dastjerdi *et al*., 2009) در غلظت LC_{25}، ۰/۱به دست آوردند.

مقدار r_m در تیمار تیوسیکلام با غلظت LC_{30}، ۰/۰۰۹± ۰/۱٤۸ بود که در تحقیق فولادی و همکاران (Fooladi *et al*., 2015) r_m در غلظت LC_{25}، ۰/۰۰٥ ± ۰/۲۱ برآورد شده است. همچنین رضایی و همکاران (Rezaei *et al*., 2018b) این مقدار را برای غلظت LC_{30} ، ۰/۰۱۸ ± ۰/۰٤ ذکر کرده است.

مقدار r_m در تیمار فلوبندیامید ٠/٠٠٦± ٠/١٥١ و مقدارR_0 ، ٠/١٢± ٤٨/١٢ به دست آمد در حالیکه فریبرزی و همکاران (Fariborzi *et al*., 2018) این مقادیر را به ترتیب ٠/٠١± ٠/٠٢ و ٠/٦٢± ١/٧١ ثبت کرده اند که در هر دو پارامتر اختلاف زیادی بین این دو مطالعه وجود دارد.

مقدار GRR در تیمار اسپینوساد با غلظت LC_{30}، ٠/٠٥٨ ± ٥٧/٩١ بود که این پارامتر توسط رفیعی و همکاران (Rafiee-Dastjerdi *et al*., 2009)، ٥/٣١± ٢٧/٣٧ و توسط مهدوی و همکاران (Mahdavi *et al*., 2015) ٣/٣٥ ±١٢٥/٩ گزارش شده است که نتایج هر سه تحقیق با هم مغایرت دارد.

مقدار GRR در تیمار تیوسیکلام با غلظت LC_{30}، ٠/١٢٦±٥٩/٠٩ بود که در تحقیق فولادی و همکاران (Fooladi *et al*., 2015) در غلظت LC_{25}، ١/٠١± ٦٢/٠١ برآورد شده است که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. همچنین رضایی و همکاران (Rezaei *et al*., 2018b) این مقدار را برای غلظت LC_{30} ٢/٦٧ ± ٧/٥٣ ذکر کرده است که با نتایج تحقیق حاضر مغایرت دارد.

مقادیر نرخ خالص تولید مثل (R_0)، نرخ متناهی افزایش جمعیت (λ) ، طول مدت یک نسل (T) و زمان دو برابر شدن جمعیت (DT) در تیمار اسپینوساد به ترتیب ٠/٠٨± ٤٥/٣٩، ٠/٠٠٣٤± ١/١٥٤، ٠/٠٠٤± ٢٦/٧٤ و ١/٠٠٢± ٤/٧٩ روز بود. این مقادیر توسط رفیعی و همکاران (Rafiee-Dastjerdi *et al*., 2009) به ترتیب ١/٧١ ± ٩/٧٨، ٠/٠١ ± ١/١١، ٠/٦٧ ±٢١/٥٨ و ٠/٦١± ٦/٦٣ گزارش شده که به جز در مورد R_0 در بقیه موارد با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. مقدار R_0 توسط مهدوی و همکاران (Mahdavi *et al*., 2015)، ٧/٤٥± ١٠٦/٨٥ محاسبه شده که نایج هر سه تحقیق با هم هماهنگی ندارند.

مقادیر نرخ خالص تولید مثل (R_0)، نرخ متناهی افزایش جمعیت (λ) ، طول مدت یک نسل (T) و زمان دو برابر شدن جمعیت (DT) در تیمار تیوسیکلام به ترتیب ٠/١٧ ± ٤٩/٨٢، ٠/٠٠١ ± ١/١٦٠ ، ٠/٠١± ٢٤/٧٢ روز و ٠/٠٠٢± ٤/٤٦ روز به دست آمد. فولادی و همکاران (Fooladi *et al*., 2015) مقادیر این پارامترها را به ترتیب ٤/٤٨± ٤٧/٦٥، ٠/٠٠٧± ١/٢٣، ٠/١٥± ١٧/٩٨ روز و ٠/٠٨± ٣/٢٢ روز گزارش کرده اند که با نتایج این تحقیق نزدیک است.

نتایج رضایی و همکاران (Rezaei *et al*., 2018b) در مورد R_0، (١/١٦± ٣/٢٤) اختلاف فاحشی با نتایج این تحقیق و مطالعه فولادی و همکاران (Fooladi *et al*., 2015) دارد در حالیکه مقادیر λ، (٠/٠٢± ١/٠٥٤ و T (١/٠٥± ٢٢/١٩٥) با نتایج این دو تحقیق نزدیک است.

طول عمر زنبور *H. hebetor* در تیمار LC_{30} اسپینوساد، امامکتین بنزوات + لوفنورون، فلوبندیامید، تیوسیکلام و شاهد به ترتیب ١/٤٤±١٥/٣٦، ١/٢٥±١٦/٤١، ١/٢٩±١٨/٩١، ٠/٨٦±٢٠/٣٨ و ٢/٤١±٢٥/٤٢ روز به دست آمد.

رضایی و همکاران (Rezaei *et al*., 2019) طول دوره رشدی این زنبور در غلظت زیرکشنده LC_{30} با کاربرد تماسی حشره کش های پروتئوس، آبامکتین، سیرینول و شاهد را به ترتیب ١/٠١±١٨/٨١، ١/٠٢±٢٠/٦٧ ، ١/٠٢±٢١/٨، ٠/٧٩±٢٥/٨٤ به دست آوردند که نشان دهنده کاهش طول یک نسل زنبور پارازیتوئید نسبت به تیمار شاهد بود و با نتایج این تحقیق همسو است. همچنین عابدی و همکاران (Abedi *et al*., 2014) کاهش طول عمر و پارامترهای جدول رندگی زنبور براکون را در اثر تیمار سایپرمترین اثبات کردند.

فولادی و همکاران (Fooladi *et al*., 2015) طول عمر زنبور تیمار شده با آب و غلظت زیر کشنده ی$LC_{۲۵}$ حشره کش های آزادیراکتین، فلونیکامید، تیاکلوپراید و تیوسیکلام به روش تماسی را به ترتیب ٠/١٩±١٧/٦٨، ٠/٢١±١٧/٨٢، ٠/١٧±١٧/٩٦ و ٠/١٥±١٧/٩٨ روز گزارش نمودند که در مورد تیمار تیوسیکلام با نتایج این تحقیق نزدیک است.

تعداد تخم گذاشته شده زنبور *H. hebetor* در تیمار LC_{30} اسپینوساد، امامکتین بنزوات + لوفنورون، فلوبندیامید، تیوسیکلام و شاهد به ترتیب ۶۳/۱۹±۳/۴۳، ۷۹/۲۴±۲/۵۲، ۸۷/۲۶±۳/۱۵، ۹۳/۴۷±۳/۵۰ و ۱۰۷/۲۲±۴/۰۷ به دست آمد که نشان دهنده تاثیر منفی حشره کش ها روی میزان تخم زنبور است.

رضایی و همکاران (Rezaei *et al*., 2019) تعداد تخم این زنبور در غلظت زیرکشنده LC_{30} با کاربرد تماسی حشره کش های پروتئوس، آبامکتین، سیرینول و شاهد را به ترتیب ۷۱/۰۵±۲/۰۳، ۹۳/۹۱±۱/۴۹، ۱۷۷/۰۱±۱/۴۸ و ۲۲۷/۴۷±۳/۳۰ به دست آوردند و نشان دادند که حشره کش ها باعث کاهش معنی داری در تعداد تخم های زنبور شدند. رفیعی دستجردی و همکاران (Rafiee-Dastjerdi *et al*., 2014) کاهش نتاج در مقایسه با شاهد در زنبورهای *H. hebetor* تیمار شده با غلظت های زیرکشنده ی اسپینوساد، پروفنوفوس، تیودیکارب و هگزافلوموران را گزارش نمودند.

بر اساس طبقه‌بندی سازمان بین‌المللی کنترل بیولوژیک، اسپینوساد در گروه حشره‌کش‌هایی با ضرر بالا و امامکتین بنزوات+لوفنورون و فلوبندیامید در گروه حشره‌کش‌هایی با ضرر متوسط و حشره‌کش تیوسیکلام در گروه حشره کش‌های بی‌ضرر برای زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* قرار گرفت.

نتیجه کلی این تحقیق نشان می دهد که سم تیوسیکلام کمترین اثر سوء را روی پارامترهای زنبور پارازیتوئید *H. hebetor* دارد و می توان در صورت تایید نتایج مزرعه ای در برنامه های مدیریت تلفیقی آفات استفاده نمود.

Referance

Abedi, Z., Saber, M., Gharekhani, G.H., Mehrvar, A., and Kamita, S.G. 2014. Lethal and sub lethal effects of Azadirachtin and Cypermethtin on *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). Journal of Economic Entomology, 107 (2): 635-645.

Amir-Maafi M., and Chi H. 2006. Demography of *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae) on Two Pyralid Hosts (Lepidoptera: Pyralidae). Annals of Entomological Society of America, 99 (1): 84-90.

Attaran, M.R. 1996. Effect of laboratory host on biological attributes of parasitoid wasp *Habrobracon hebetor* say. M Sc. Thesis. Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, 83 PP.

Badran, F., Fathipour, Y., Bagheri, A., Attaran, M. and Reddy, G. V. 2020. Effects of prolonged mass rearing on life history traits of *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). International Journal of Pest Management, 1-10.

Brower, J. H., Smith, L., Vail, P. V. and Flinn, P. W. 1996. Biological Control. In: Subramanyam B, Hagstrum D. W. (eds) Integrated Management of Insects in Stored Products, Marcel Dekker, Inc.: New York. 223–286.

Desneux, N., Decourtye, A. and Delpuech, J. M. 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. Annual Review of Entomology, 52: 81-106.

Fariborzi, E., Ghane-Jahromi, M., Sedaratian-Jahromi,M., Sahraeian, H and Rassaei, A. 2018. Sub-lethal effects of Flubendiamide (Takumi) on reproductive and population growth parameters of *Habrobracon hebetor* (Hym.: Braconidae). Proceedings of the 23rd Iranian Plant Protection Congress, 27-30 Aug., Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, P. 1405-1406.

Fooladi, M., Golmohammadi, G. H. and Ghajarieh, H. R. 2015. Lethal and sublethal effects of insecticides Azadirachtin, Flonicamid, Thiacloprid and Thiocyclam on parasitoid wasp *Habrobracon hebetor*. Biocontrol in Plant Protection, 3 (1): 9-18.

Golmohammadi, Gh. and Hejazi, M. 2014. Toxicity and side effects of spinosad and indoxacarb on survival, development, and reproduction of the multicolored Asian lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae). Biological control, 34: 108-114.

Gonzalez, J. O. W., Laumann, R. A., da Silveira, S., Miguel, M., Borges, M. C. B. and Ferrero, A. A. 2013. Lethal and sublethal effects of four essential oils on the egg parasitoids *Trissolcus basalis*. Chemosphere 92: 608-615.

Hashemi, Z., Goldansaz, S. H. and Hosseini-Naveh, V. 2014. Effect of *Ferula assafoetida* essential oil on biological characteristic of *Habrobracon hebetor* (Hym.: Braconidae) under laboratory conditions. Proceedings of the 21st Iranian Plant Protection Congress. 23-26 August, Urmia University, P.459.

Hatami, M., Ziaee, M., Seraj, A. A. and Mehrabi-Koushki, M. 2022. Sublethal effects of fenvalerate on biological performance and life table parameters of the grass-lawn armyworm, Spodoptera cilium (Lepidoptera: Noctuidae). International Journal of Tropical Insect Science, 42(2): 1341-1347.

Heimpel G.H., Antolin M.F., Franqui R.A. and Strand M.R. 1997. Reproductive isolation and generic variation between two strains of *Habrobracon hebetor* Say (Hym.: Braconidae). Biological Control, 9 (3): 149-156.

***Mahdavi, V. and Saber, M. 2014**. Acute toxicity and sublethal effects of diazinon on adult stage of Habrobracon hebetor (Hym.: Braconidae). Agricultural Pest Management, 1 (1): 36-45.*

Mahdavi V., Saber M., Rafiee-Dastjerdi H., and Kamita S.G. 2015. Lethal and demographic impact of Chlorpyrifos and Spinosad on the Ectoparasitoid *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae). Neotropical Entomology, 44: 626-633.

Mbata, G. N. and Warsi, S. 2019. *Habrobracon hebetor* and *Pteromalus cerealellae* as tools in post-harvest integrated pest management. Insects, 10 (4): 85.

Rafiee-Dastjerdi, H., Hejazi, M. J., Nouri-Ganbalani, G. and Saber, M. 2008. Toxicity of some biorational and conventional insecticides to cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) and its ectoparasitoid, *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). Journal of Entomological Society of Iran, 28(1), 27-37.

Rafiee-Dastjerdi, H., Hejazi, M. J., Nouri-Ganbalani, G. and Saber, M. 2009. Sublethal effects of some conventional and biorational insecticides on Ectoparasitoid, *Habrobracon hebetor* Say (Hym.: Braconidae). Journal of Entomology, 6(2): 82-89.

Rezaei, M., Gheibi, M., Hesami, Sh. and Zohdi, H. 2018a. *Effects of lethal and sub-lethal concentrations of Biscaya®, Neem azal® and Tondexir® on biological parameters of Habrobracon hebetor (Hym.: Braconidae) in laboratory condition. Plant Pest Research, 8 (3): 75-88.*

Rezaei, Z., Ghane-Jahromi, M., Sedaratian-Jahromi,M., Sahraeian, H and Azizinesar, R. 2018b. Evaluation of sub-lethal effects of Thiocyclam (Evisect) on demographic parameters of *Habrobracon hebetor* (Hym.: Braconidae). Proceedings of the 23rd Iranian Plant Protection Congress, 27-30 Aug., Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. P. 1401-1402.

Rezaei, M., Gheibi, M., Hesami, Sh. and Zohdi, H. 2019. *Effect of Lethal and Sub-lethal Concentrations of Three Insecticides on Some Growth Parameters of Parasitoid Wasp, Habrobracon hebetor by Contact and Poisonous-host Method. Iranian Plant Protection Research, 33 (2): 159-170.*

Saber, M., Hejazi, M. J., Kamali, K. and Moharramipour, S. 2005. Lethal and sublethal effects of fenitrothion and deltamethrin residues on egg parasitoid *Trissolcus grandis* (Hymenoptera:
Scelionidae). Journal of Economic Entomology, 98(1):35-40.

Sánchez-Bayo, F. 2021. Indirect effect of pesticides on insects and other arthropods. Toxics, 9(8): 177.

Sánchez-Bayo, F. and Wyckhuys, K. A. 2019. Worldwide decline of the entomofauna: A review of its drivers. Biological Conservation, 232: 8-27.

Sarmadi, S., Nouri-Ganbalani G., Hassanpour M. and Rafiee-Dastjerdi H. 2008a. Effect of some insecticides on stable population growth parameters of *Habrobracon hebetor* (Hym.: Braconidae) in adult stage treatment. Proceeding of 18th Iranian plant protection congress. 24-27 August, University of Bu-Ali Sina, Hamedan. P. 155.

Sarmadi, S., Nouri-Ganbalani G., Hassanpour M. and Rafiee-Dastjerdi H. 2008b. Susceptibility of pupal stage of *Habrobracon hebetor* (Hym.: Braconidae) to Imidacloprid, Indoxacarb and Deltamethrin under laboratory condition. Proceeding of 18th Iranian plant protection congress. 24-27 August, University of Bu-Ali Sina, Hamedan. P. 156.

Schüller, M., Prozell, S. A., Al-Kirshi, G. and Reichmuth, C. 1997. Towards biological control as a major component of integrated pest management in stored product protection. Journal of Stored Products Research, 33: 81-97.

Shishebor, P. and Mohammadali, H. F. 2012. Sublethal effects of flufenoxuron and lufenuron on life table parameters of Habrobracon hebetor (Hymenoptera: Braconidae). Iranian Journal of Plant Protection Science, 43(2): 233-242.

Stark, J. D. and Banks, J. E. 2003. Population-level effects of pesticides and other toxicant on arthropods. Annual Review of Entomology, 48: 505-519.

IAU Journal of Entomological Research

Volume 14, Issue 1, pages: 39-51

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

Lethal and sub lethal effects of flubendiamide, emamectin benzoate+lufenuron, thiocyclam and spinosad on *Habrobracon hebetor* Say (Hym.: Braconidae) in laboratory condition

S. Papari[1], A. Fazel Dousti[2*], M. Fallahzadeh[2], N. Saghaei[3]

1- Ph. D student, Department of Entomology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran
2- Assistant Professor and Professor, Department of Entomology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran
3- Assistant Professor, Department of Entomology, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdasht, Iran

Abstract

Braconid wasps (Braconidae) are one of the most important pest parasitoids. The function of parasitoids can be affected by the use of insecticides. In order to use biological control agents and pesticides simultaneously in pest management, it is necessary to know the effect of pesticides on biological control agents. In this study, the lethal and sub lethal effects of the flubendiamide, emamectin benzoate+lufenuron, thiocyclam and spinosad on the parasitoid *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae) were investigated. The LC_{50} of spinosad on parasitoid wasps were 1.25 mg/L of active ingredient, which showed that this insecticide is the most toxic compound on this insect and LC_{50} of thiocyclam, emamectin benzoate+lufenuron and flubendiamide were 19.99, 7.56 and 6.45 mg/L of active ingredient respectively, which were more toxic to this wasp, respectively. The results of bioassays on adult insects of parasitoid wasps showed that spinosad with LC_{30} was 0.71 mg /L of active ingredient with high toxicity on adult insects compared to flubendiamide, emamectin benzoate+lufenuron and thiocyclam, which were LC_{30}, 3.67, 4.26 and 14.44 respectively. According to the classification of the International Organization for Biological Control, spinosad was in the group of harmful insecticides and emamtectin benzoate + lufenuron and flubendiamide were in the group of moderately harmful insecticides. According to this classification, thiocyclam was classified as harmless insecticide on bracon wasp.

Keywords: Parasitoid, Chemical Insecticides, Demographics, Biological Control, *Habrobracon hebetor*

* Corresponding Author, E-mail*: fsousti@yahoo.com*
Received: 4 Feb. 2022 – Accepted: 13 Jun. 2022