نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۱۶-۲۰۳

Journal of Plant Protection
Vol. 35, No. 2, Summer 2021, P. 203-216

مقاله پژوهشی

ترکیب شیمیایی اسانس گیاه مورد و فعالیت حشره‌کشی آن در ترکیب با خاک دیاتومه علیه حشرات کامل شپشه گندم، *Sitophilus granarius* (L.)

محسن یزدانیان[1*]- ملیحه ریحانی[2]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۱۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۲۴

چکیده

خاک‌های دیاتومه و اسانس‌های گیاهی جزو مهم‌ترین ترکیبات جایگزین سموم شیمیایی می‌باشند که مشکلات مهم فراروی استفاده از آن‌ها به ترتیب شامل کنداثر بودن و ناپایداری می‌باشند. استفاده ترکیبی از این دو عامل حشره‌کش یکی از راه‌حل‌های این مشکلات می‌باشد. در این پژوهش، اثر حشره‌کشی تماسی یک خاک دیاتومه ایرانی (با نام تجاری سایان) در ترکیب با اثر تنفسی اسانس گیاه مورد *Myrtus communis* L.، روی حشرات کامل شپشه گندم *Sitophilus granarius* (L.)، بررسی شد. اجزای شیمیایی تشکیل‌دهنده اسانس به روش GC-MS شناسایی شدند. در اسانس ۴۶ ترکیب شیمیایی شناسایی شدند که سه ترکیب 1,8-cineole (Eucalyptol) (۱۸/۰۲۹٪)، Isoterpinolene (۱۴/۷۰۴٪) و α-Fenchene (۱۳/۱۳۵٪) بیشترین مقدار را داشتند. درصد مرگ‌ومیر در اثر استفاده انفرادی از دزهای خاک دیاتومه (گرم بر کیلوگرم) حتی پس از ۷۲ ساعت قابل توجه نبود ولی استفاده ترکیبی باعث افزایش معنی‌دار مرگ‌ومیر شد. در ترکیب‌های تیماری غلظت LC_{50} اسانس مورد (۳۴۵۱ میکرولیتر بر لیتر هوا) با دزهای ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم بر کیلوگرم خاک دیاتومه پس از ۷۲ ساعت، به ترتیب ۹۸/۲۵، ۱۰۰ و ۱۰۰ درصد مرگ‌ومیر مشاهده شد. برهمکنش خاک دیاتومه در ترکیب با اسانس به ویژه پس از ۴۸ و ۷۲ ساعت عمدتا از نوع سینرژیستی بود. تولید نتاج پس از حذف حشرات کامل تیمارشده از ظروف آزمایش (تولید نتاج در نسل اول) در ترکیب دزهای ۰/۱۲۵، ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم بر کیلوگرم خاک دیاتومه با غلظت‌های LC_{10}، LC_{20} و LC_{50} اسانس (به ترتیب ۱۲۶۷، ۱۷۹۰ و ۳۴۵۱ میکرولیتر بر لیتر) بسیار پایین بود (با حداکثر ۷ عدد حشره کامل ظاهرشده) ولی مرگ‌ومیر این حشرات کامل ظاهرشده در تمام موارد ۱۰۰ درصد بود. در تیمارهای ترکیبی دزهای ۱ و ۱/۵ گرم بر کیلوگرم خاک دیاتومه با سه غلظت مختلف اسانس نیز تولید نتاج مشاهده نشد. درصد مرگ‌ومیر نتاج تولیدی در اثر استفاده انفرادی از دزهای مختلف خاک دیاتومه در مقایسه با تیمارهای ترکیبی بسیار کمتر بود. تولید نتاج ۹۰ روز پس از حذف حشرات کامل تیمار شده از ظروف آزمایش (تولید نتاج در نسل دوم) نیز مشابه نتایج نسل اول بودند. نتایج این تحقیق به خوبی نشان می‌دهند که استفاده ترکیبی از این دو عامل حشره‌کش به دلیل بروز اثرات سینرژیستی می‌تواند کنداثر بودن خاک دیاتومه سایان و ناپایداری اسانس مورد را برطرف سازد.

واژه‌های کلیدی: اثر سینرژیستی، اجزای شیمیایی، اسانس مورد، خاک دیاتومه، *Sitophilus granarius*

مقدمه

اسانس‌های گیاهی ترکیبات بودار و فراری هستند که تنها در ۱۰ درصد از گونه‌های گیاهی یافت می‌شوند (۱۵). این اسانس‌ها و ترکیبات موجود در آن‌ها به علت دارا بودن ایمنی نسبی، پذیرش گسترده توسط مصرف‌کنندگان و داشتن پتانسیل مصرف برای استفاده در زمینه‌های گوناگون، عوامل زیستی امیدبخشی به شمار می‌روند (۳۴). این ترکیبات در ساختارهای ترشحی ویژه‌ای مانند غده‌ها، موها، مجراهای ترشحی، حفره‌های ترشحی یا مجاری رزین گیاهان ذخیره می‌شوند (۳۳). در این میان، اسانس گیاه مورد، *Myrtus communis* L.، روی تعداد زیادی از آفات و بیمارگرهای انسانی و گیاهی دارای اثرات زیستی مختلفی می‌باشد که از آن جمله می‌توان به اثر حشره‌کشی آن اشاره نمود (۴). خاک‌های دیاتومه موادی ساینده

۱ و ۲- به‌ترتیب استادیار و دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

(*- نویسنده مسئول: (Email: mohsenyazdanian@gau.ac.ir
DOI: 10.22067/jpp.2021.69214.1015

هستند که سطح کوتیکول حشرات را خراش می‌دهند. استفاده از این خاک‌ها علیه حشرات باعث جذب شدن لیپیدهای کوتیکولی به آن‌ها و از بین رفتن خاصیت ضدآب بودن کوتیکول می‌شود (۶). این خاک‌ها کارایی خود را در رطوبت‌های نسبی بالا (بیشتر از ۸۱ درصد) از دست می‌دهند (۱۷). خاک‌های دیاتومه برای پستانداران نیز غیرسمی هستند که یک مزیت مهم آن‌ها بر آفتکش‌های مرسوم می‌باشد (۴۱). برای محافظت از دانه‌ها، خاک‌های دیاتومه به صورت پودر با غلات مخلوط می‌شوند و تا زمانی که غله خشک بماند و رطوبت آن از ۱۵ درصد کمتر باشد، کارایی خود را حفظ می‌کنند (۳۹).

با وجود تمامی مزایای استفاده از خاک‌های دیاتومه و اسانس‌های گیاهی، استفاده از آن‌ها به تنهایی دارای محدودیت‌ها یا مشکلاتی می‌باشد. اسانس‌های گیاهی باید در غلظت‌های بالا استفاده شوند و بو برجای می‌گذارند. این ترکیبات همچنین فرار هستند، پایداری کمی دارند و قدرت نفوذ آن‌ها به داخل مواد غذایی اندک می‌باشد (۲۲). خاک‌های دیاتومه نیز ممکن است در دز بالا باعث بروز تغییرات فیزیکی و شیمیایی در دانه‌های غلات انباری شوند (۱۸)، برای کارایی مناسب آن‌ها به دزهای بالا و اغلب بیشتر از ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام نیاز می‌باشد (۲۳)، دارای اثر تاخیری هستند (۳۸)، و حتی مقاوم شدن حشرات به این خاک‌ها گزارش شده است (۳۹). استفاده ترکیبی از فراورده‌های طبیعی حشره‌کش و خاک‌های دیاتومه به عنوان یکی از راه‌های رفع این مشکلات توصیه شده است (۲، ۳، ۲۶، ۱۹ و ۳۸).

شپشه گندم، *Sitophilus granarius* (L.) (Col.; Curculionidae)، یکی از مخرب‌ترین آفات انباری غلات در سراسر جهان است که لاروهای آن در درون دانه‌های غلات نشوونما می‌کنند (۳۶) و با تغذیه از دانه‌ها خسارت‌های سنگینی را به بار می‌آورند (۲۷). این حشره از دانه‌های سالم و شکسته غلاتی مانند گندم، جو، گندم سیاه، برنج، ذرت، ارزن، یولاف، چاودار و غیره تغذیه می‌کند. شپشه گندم به ویژه آفت گندم و جو می‌باشد (۲۷). نرخ تخمگذاری این آفت با افزایش دسترسی به غذا افزایش می‌یابد که نشان می‌دهد در صورت نامحدود بودن منابع غذایی، تخمگذاری در بیشترین مقدار انجام خواهد شد (۱۶). شپشه گندم قادر به پرواز نیست و معمولا غلات موجود در مزرعه را آلوده نمی‌کند. راه رفتن اولین روش پراکنش این حشره است، اما با انتقال غلات آلوده از یک منطقه به منطقه دیگر توسط انسان یا ماشین‌آلات آلوده به آسانی پراکنده می‌شود (۲۹).

با توجه به موثر بودن خاک‌های دیاتومه و اسانس‌های گیاهی علیه آفات انباری، استفاده از آن‌ها یکی از روش‌های جایگزین مهم برای سموم شیمیایی به شمار می‌رود. وجود برخی محدودیت‌ها در استفاده از این دو عامل حشره‌کش، ضرورت بررسی اثر ترکیبی و میزان کارایی آن‌ها را نشان می‌دهد. به دلیل اهمیت اقتصادی شپشه گندم در ایران و استان گلستان، در این پژوهش اثر سینرژیستی یک فرمولاسیون ایرانی خاک دیاتومه در ترکیب با اسانس گیاه مورد علیه حشرات کامل این آفت در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

آنالیز GC-MS

اسانس گیاه مورد (به صورت قطره ۱۸ میلی‌لیتری فرموله‌شده با نام تجاری اِم‌جی؛ استاندارد شده بر اساس وجود ۳۰ میلی‌گرم ۱و۸-سینئول در هر میلی‌لیتر از فراورده) از شرکت باریج اسانس کاشان[1] خریداری شد. شناسایی اجزای اسانس با استفاده از دستگاه گازکروماتوگراف (GC-MS) مدل Varian CP-3800 مجهز به طیف‌سنج جرمی Varian Saturn 2200 ion trap (گاز هلیم به عنوان ناقل؛ نرخ جریان 1:100 ml/min، فشار 10 psi و حجم تزریق 0.1 µl) انجام شد. ستون گازکروماتوگرافی مورد استفاده (VF-5ms capillary column) به طول ۳۰ متر در ۰/۳۲ میلی‌متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میکرومتر بود. دمای انژکتور ۲۲۰ و دمای دتکتور ۳۰۰ درجه سلسیوس بود. دمای آون از ۵۰ تا ۲۲۰ درجه سلسیوس با نرخ ۵ درجه بر دقیقه تنظیم شد و سپس به مدت ۲۰ دقیقه ثابت نگه داشته شد و در نهایت با نرخ ۱۰ درجه بر دقیقه به ۳۰۰ درجه افزایش یافت. انرژی یونیزاسیون برابر با 70 eV، با زمان اسکن ۱ ثانیه و mass range برابر با 40-350 amu بود (۲۱). ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس از طریق مقایسه زمان‌های ابقای گازکروماتوگرافی با ترکیبات شناخته شده و نیز طیف‌های جرمی آن با ترکیبات یا طیف‌های شناسایی‌شده موجود در کتابخانه دستگاه تعیین شدند.

پرورش شپشه گندم

حشرات کامل شپشه گندم از کلنی موجود در آزمایشگاه حشره‌شناسی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان تهیه و به مدت سه نسل بر روی دانه‌های گندم در دمای ۲±۲۶ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و L:D 16:8 (۷) در ژرمیناتور نگهداری و تکثیر شدند. برای پرورش حشرات کامل از ظروف پلاستیکی مستطیلی به رنگ سفید شفاف به ابعاد ۲۴×۱۸×۱۰ سانتی‌متر استفاده شد. برای تهویه ظروف پرورش، قسمت میانی درب آن‌ها بریده و با توری ۱۲۰ مش پوشانده شد. نصف حجم ظروف با دانه‌های سالم گندم پر شد و حشرات کامل شپشه گندم بر روی آن‌ها رهاسازی شدند. پس از سه نسل پرورش، حشرات کامل حداکثر هفت‌روزه نسل چهارم برای انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی

۱- آدرس کارخانه: کاشان، مشهد اردهال.

مورد اســـتفاده قرار گرفتند. تمام آزمایش‌ها روی دانه‌های گندم (رقم گنبد) انجام شدند.

برآورد غلظت‌های کشـــنده LC_{10}، LC_{20} و LC_{50} اســـانس مورد

آزمایش‌های زیست‌سنجی مقدماتی در شرایط آزمایشگاهی ذکر شـــده روی حشـــرات کامل هفت‌روزه انجام و غلظت‌های ایجادکننده مرگ‌ومیر حدود ۲۰ و ۸۰ درصـدی (بر حسـب میکرولیتر بر لیتر هوا) تعیین شـدند. در تشتک‌های پتری شیشه‌ای (قطر ۷ سانتی‌متر و حجم ۵۰ میلی‌لیتر) یـک تکـه کاغذ صـــافی (واتمن شـــماره ۱، به قطر ۲ سانتی‌متر) به غلظت مورد نظر اسانس آغشته گردید و در سطح داخلی درب تشـتک‌ها قرار داده شـد. علاوه بر شـاهد (غلظت صـفر)، شـش غلظت با فواصـل لگاریتمی مسـاوی مورد اسـتفاده قرار گرفت. برای جلوگیری از تماس حشـرات کامل با کاغذ صـافی به منظور حذف اثر تماســی اســانس، روی کاغذهای صـــافی با توری ســـفید ۱۲۰ مش پوشـانده شـد. اطراف درب تشتک‌های پتری برای جلوگیری از خروج اسـانس با پارافیلم مسـدود شد (۱۳). آزمایش‌ها چهار بار تکرار شدند. تشـتک‌های پتری به داخل ژرمیناتور با شـرایط ذکرشـده قبلی منتقل شـــدنـد. پس از ۲۴ ســـاعـت، مرگ‌ومیر بـا مشـــاهـده در زیر استریومیکروسکوپ ارزیابی گردید و حشراتی که در اثر تحریک شدن با سوزن پنجه‌های پاها و شاخک‌های خود را تکان نمی‌دادند، مرده در نظر گرفته شـدند. با استفاده از تجزیه پروبیت، مقادیر LC_{10}، LC_{20} و LC_{50} (به ترتیب برابر با ۱۲۶۷، ۱۷۹۰ و ۳۴۵۱ میکرولیتر بر لیتر هوا) برآورد شـدند. جهت بررسی نوع برهمکنش، میزان مرگ‌ومیر حشرات کـامل بر اثر هر یک از غلظت‌های LC_{10}، LC_{20} و LC_{50} پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت برآورد گردید.

کارآیی استفاده ترکیبی از اسانس و خاک دیاتومه و تعیین نوع برهمکنش

حشـرات کامل به روش تماس با سـطوح سـمی (سـطح دانه‌های گنـدم) در معرض خـاک دیاتومه (فرمولاســیون ایرانی با نام تجاری سـایان؛ خریداری شده از شرکت ایرانی کیمیا سبزآور) قرار داده شدند. دزهای خاک دیاتومه با توجه به میزان توصـیه شـده توسـط شـرکت سازنده و نیز آتاناسیو و همکاران (۱۰) برابر با ۰/۱۲۵، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ گرم بر کیلوگرم دانه گندم انتخاب شـدند. برای آغشـته‌سـازی دانه‌های گندم از ظروف پلاسـتیکی دهان‌گشـاد (به قطر ۱۰ و ارتفاع ۲۲ سانتی‌متر) استفاده گردید. آزمایش‌ها در چهار تکرار به همراه تیمار شـاهد (حشـرات کامل رهاسـازی شـده بر روی دانه‌های گندم بدون تیمارهای خاک دیاتومه و اسـانس) انجام شدند. در هر تکرار، ۵۰ گرم گندم آغشـــته به هر یک از دزهای خاک دیاتومه در داخل یک ظرف پلاسـتیکی استوانه‌ای شکل (به قطر و ارتفاع ۵ سانتی‌متر) ریخته شد. سـپس، ۵۰ عدد حشـره کامل حداکثر هفت‌روزه (۲۵ نر و ۲۵ ماده) به هر ظرف اضـافه شـدند (۹ و ۱۲). برای بررسـی اثر ترکیبی اسـانس-خاک دیاتومه، غلظت‌های LC_{10}، LC_{20} و LC_{50} اسـانس در ترکیب با هر یک از دزهای خاک دیاتومه مورد اسـتفاده قرار گرفتند. مقدار مورد نیاز اسـانس برای تامین غلظت مورد نظر با اسـتفاده از سمپلر بر روی کاغذهای صـــافی تعبیه شـــده در ســـطح داخلی درپوش‌های ظروف پلاسـتیکی تزریق شـد. برای اطمینان از عدم خروج اسـانس، اطراف درپوش‌های ظروف توسـط پارافیلم مسدود گردید و ظرف‌ها در شرایط دمایی ذکر شـده نگهداری شدند. مرگ‌ومیر حشرات کامل پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت شمارش شد.

برای بررسـی تولید نتاج، پس از شـمارش مرگ‌ومیر ۷۲ سـاعته، کلیه حشـرات کامل زنده یا مرده از ظرف‌ها خارج و آن‌ها به مدت ۴۵ روز دیگر در شـرایط آزمایشگاهی فوق نگهداری شدند. پس از سپری شـدن این مدت زمان ظرف‌ها باز و تعداد حشـرات کامل نسل اول بر حسـب زنده و مرده شـمارش گردید و پس از شـمارش (زنده یا مرده) حذف شـدند. تعداد نتاج نسل دوم نیز (پس از گذشت ۴۵ روز دیگر) بر حسـب زنده و مرده شمارش شد. برای هر دز خاک دیاتومه، یک طرح کـاملا تصـــادفی با چهار تیمار (چهار غلظت اســـانس) و چهار تکرار بررسی گردید (۱۲).

تجزیه و تحلیل‌های آماری

تجزیـه پروبیـت داده‌های زیســـت‌ســـنجی اســـانس با نرم‌افزار PoloPlus ver. 2.0 انجام شـد. در صـورت مشـاهده تلفات در تیمار شاهد، درصد مرگ‌ومیر تیمار اسانس با استفاده از فرمول آبوت اصلاح گردید (۱). داده‌های مربوط به مرگ‌ومیر حشـــرات کامل به صـــورت فاکتوریل (دز خاک دیاتومه × غلظت اسـانس) و در قالب طرح کاملا تصـادفی تجزیه و تحلیل شدند. داده‌های مربوط به مرگ‌ومیر و تولید نتاج نیز با اســـتفاده از نرم‌افزار آماری SAS تجزیه واریانس شـــدند. مقایســـه میانگین‌ها به روش Tukey-HSD در ســـطح احتمال یک درصد انجام شد.

برای بررسی اثرات سینرژیستی و آنتاگونیستی از دو روش استفاده شـد: در روش تالاریدا (۴۲)، اگر مرگ‌ومیر مشـاهده‌شـده از مرگ‌ومیر مورد انتظـار بیشـــتر یـا کمتر بـاشـــد، برهمکنش بـه ترتیـب از نوع سـینرژیسـتی و آنتاگونیستی، و اگر با هم برابر باشند، از نوع تجمیعی[1] خواهـد بود. عـدم همپوشـــانی خطـاهای معیار دو میانگین مرگ‌ومیر مشاهده‌شده و مورد انتظار، نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلاف بین آن

1- Additive

دو محسوب گردید. در روش دوم از معادله فاکتور سمیت مشترک (CF)[1] ارایه‌شده توسط منصور و همکاران (۲۸) استفاده گردید:

$$CF = [(\text{مرگ‌ومیر مشاهده شده} - \text{مرگ‌ومیر مورد انتظار})/\text{مرگ‌ومیر مورد انتظار}] \times ۱۰۰ \quad (۱)$$

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی شناسایی شده در اسانس فرموله شده گیاه مورد

Table 1- Chemical composition of the formulated myrtle essential oil

ترکیب Compound	RT*	مقدار Composition (%)	ترکیب Compound	RT*	مقدار Composition (%)
Tricyclene	3.155	0.361	Bornyl acetate	10.073	0.277
Isoterpinolene	3.269	14.704	Linalyl formate	10.250	0.743
Camphene	3.498	1.055	α-Terpineol acetate	11.476	1.318
α-Phellandrene	3.744	0.344	Nerol acetate	11.669	0.273
α-Fenchene	3.858	13.135	α-Copaene	12.157	0.652
3-Carene	4.261	3.450	β-Bourbonene	12.395	0.145
Terpinolene	4.374	0.556	Methyl eugenol	12.902	0.318
tert-Butylbenzene	4.526	2.927	β-Caryophyllene	13.294	1.699
Isosylvestrene	4.584	4.420	Cedrene	13.450	0.310
1,8-Cineole (Eucalyptol)	4.674	18.029	Carane	13.596	0.369
γ-Terpinene	5.058	0.864	Alloaromadendrene	13.743	0.284
Terpinolene	5.573	0.603	Cedrene	14.323	0.280
Linalool	5.862	4.712	γ-Muurolene	14.581	0.237
d-Camphor	7.007	1.687	β-Cubebene	14.772	0.423
Menthone	7.325	0.607	Eremophilene	14.988	0.321
Borneol	7.425	1.419	α-Muurolene	15.141	0.286
4-Terpineol	7.716	1.038	γ-Cadinene	15.523	0.420
α-Terpineol	8.087	2.426	β-Cadinene	15.602	0.874
Fenchyl acetate	8.389	0.403	Geranyl butyrate	16.357	0.372
2-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-	8.676	5.372	Caryophyllene oxide	17.244	0.952
2-Isopropyl-1-methoxy-4-methylbenzene	8.898	0.774	2-(3,8-Dimethyl-1,2,3,4,5,6,7,8-octahydro-5-azulenyl)-2-propanol	17.574	0.998
Linalyl anthranilate	9.018	0.974	γ-Eudesmol	18.197	1.542
Geraniol	9.262	3.324	α-Eudesmol	18.995	0.555
2,6-Octadiene, 2,6-dimethyl-	9.625	1.523	Bulnesol	19.149	0.845
Bornyl acetate	9.988	0.161	γ-Eudesmol	19.567	0.640

*RT: Retention time (min.)

مقدار ۲۰ یا بیشتر از آن به معنی اثر سینرژیستی، ۲۰- یا کمتر از آن به معنی اثر آنتاگونیستی، و بین ۲۰- و ۲۰ به معنی اثر تجمیعی است.

نتایج

شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس

با استفاده از GC-MS، ۴۶ ترکیب شیمیایی در اسانس شناسایی شدند. از میان آن‌ها شش ترکیب 1,8-cineole (Eucalyptol) (۱۸/۰۳ درصد)، Isoterpinolene (۱۴/۷ درصد)، α-Fenchene (۱۳/۱۳ درصد)، 2-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl- (۵/۳۷ درصد)، Linalool (۴/۷۱۲ درصد)، و Isosylvestrene (۴/۴۲ درصد) به ترتیب بیشترین مقدار را داشتند و ۶۰/۳۷ درصد از کل اسانس را تشکیل دادند (جدول ۱).

نتایج کارآیی استفاده ترکیبی از اسانس و خاک دیاتومه

پس از ۲۴ ساعت، درصد مرگ‌ومیر حشرات کامل با افزایش دز خاک دیاتومه ($F4_{4,60}$=39.97; P<0.001) و غلظت اسانس ($F_{3,60}$=2222.07; P<0.001) افزایش یافت. اثر متقابل غلظت × دز ($F_{12,60}$=9.87; P<0.001) نیز معنی‌دار بود. میانگین مرگ‌ومیر در اثر دزهای مورد بررسی خاک دیاتومه حداکثر ۱/۵ درصد بود که در اثر استفاده ترکیبی از غلظت LC_{50} اسانس با دزهای ۱ و ۱/۵ گرم بر کیلوگرم خاک دیاتومه به ترتیب به حداکثر ۲/۸۷ ± ۶۶/۷۵ و ۲/۲۱ ± ۷۳/۲۵ درصد رسید که با هم دارای اختلاف معنی‌دار بودند (جدول ۲). پس از ۴۸ ساعت نیز درصد مرگ‌ومیر حشرات کامل با افزایش دز

1- Co-toxicity factor

خاک دیاتومه ($F4_{4,60}$=77.63; P<0.001) و غلظت اسانس ($F_{3,60}$=1445.54; P<0.001) افزایش یافت و اثر متقابل غلظت × دز ($F_{12,60}$=21.38; P<0.001) نیز معنی‌دار بود. کمترین میانگین‌های مرگ‌ومیر در اثر استفاده انفرادی از خاک دیاتومه مشاهده شدند که حداکثر ۰/۵ درصد بودند. بیشترین میانگین‌های مرگ‌ومیر حشرات کامل در ترکیب‌های تیماری LC_{50} با دزهای ۰/۱۲۵ تا ۱/۵ گرم بر کیلوگرم مشاهده شدند که با هم دارای اختلاف معنی‌دار بودند (جدول ۳).

جدول ۲- میانگین (± SE) درصد مرگ‌ومیر حشرات کامل *Sitophilus granarius* در تیمارهای ترکیبی دزهای خاک دیاتومه با غلظت‌های اسانس *Myrtus communis* پس از ۲۴ ساعت بر روی دانه‌های گندم

Table 2- Percentage mortality (mean ±SE) of the *Sitophilus granarius* adults exposed to different combinations of dose rates of diatomaceous earth and *Myrtus communis* essential oil concentrations after 24 h exposure on wheat kernels

غلظت اسانس Concentration (µl/l air)	دز خاک دیاتومه Dose rate (g/kg)				
	0.125	0.25	0.5	1.0	1.5
LC_0 (0)	0.00 ± 0.00 i	0.51 ± 0.50 i	0.00 ± 0.00 i	0.51 ± 0.50 i	1.50 ± 0.96 i
LC_{10} (1267)	11.00 ± 1.08 h	10.50 ± 0.64 h	10.50 ± 0.96 h	14.0 ± 0.91 gh	17.0 ± 1.29 fg
LC_{20} (1790)	21.00 ± 0.41 ef	21.25 ± 0.48 ef	23.50 ± 0.64 e	24.50 ± 0.64 de	28.25 ± 0.85 d
LC_{50} (3451)	52.50 ± 1.32 c	54.00 ± 1.87 c	54.25 ± 1.75 c	66.75 ± 2.87 b	73.25 ± 2.21 a

میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه با هم اختلاف معنی‌دار دارند (آزمون Tukey-HSD، سطح احتمال یک درصد)

Means with different letters are significantly different (Tukey-HSD; P<0.01).

جدول ۳- میانگین (± SE) درصد مرگ‌ومیر حشرات کامل *Sitophilus granarius* در تیمارهای ترکیبی دزهای خاک دیاتومه (گرم بر کیلوگرم غله) با غلظت‌های اسانس *Myrtus communis* (میکرولیتر بر لیتر هوا) پس از ۴۸ ساعت بر روی دانه‌های گندم

Table 3- Percentage mortality (mean ±SE) of the *Sitophilus granarius* adults exposed to different combinations of dose rates of diatomaceous earth and *Myrtus communis* essential oil concentrations after 48 h exposure on wheat kernels

غلظت اسانس Concentration (µl/l air)	دز خاک دیاتومه Dose rate (g/kg)				
	0.125	0.25	0.5	1.0	1.5
LC_0 (0)	0.00 ± 0.00 k	0.51 ± 0.50 k	0.00 ± 0.00 k	0.51 ± 0.50 k	0.51 ± 0.50 k
LC_{10} (1267)	12.25 ± 1.03 j	19.50 ± 1.26 ij	23.0 ± 2.38 hi	24.50 ± 2.22 ghi	29.00 ± 3.11 gh
LC_{20} (1790)	25.25 ± 2.87 ghi	31.75 ± 2.93 g	40.25 ± 1.70 f	66.25 ± 2.06 e	76.75 ± 3.06 cd
LC_{50} (3451)	72.00 ± 3.03 de	76.00 ± 2.12 cd	81.75 ± 1.70 bc	87.50 ± 2.25 ab	92.25 ± 2.66 a

میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه با هم اختلاف معنی‌دار دارند (آزمون Tukey-HSD، سطح احتمال یک درصد)

Means with different letters are significantly different (Tukey-HSD; P<0.01).

جدول ۴- میانگین (± SE) درصد مرگ‌ومیر حشرات کامل *Sitophilus granarius* در تیمارهای ترکیبی دزهای خاک دیاتومه (گرم بر کیلوگرم غله) با غلظت‌های اسانس *Myrtus communis* (میکرولیتر بر لیتر هوا) پس از ۷۲ ساعت بر روی دانه‌های گندم

Table 4- Percentage mortality (mean ±SE) of the *Sitophilus granarius* adults exposed to different combinations of dose rates of diatomaceous earth (g/kg grain) and *Myrtus communis* essential oil concentrations (µl/l air) after 72 h exposure on wheat kernels

غلظت اسانس Concentration (µl/l air)	دز خاک دیاتومه Dose rate (g/kg)				
	0.125	0.25	0.5	1.0	1.5
LC_0 (0)	0.00 ± 0.00 h	0.00 ± 0.00 h	0.00 ± 0.00 h	1.04 ± 0.60 h	1.03 ± 0.59 h
LC_{10} (1267)	23.50 ± 3.50 g	25.00 ± 3.79 fg	34.00 ± 4.32 efg	35.00 ± 5.26 ef	42.00 ± 5.23 e
LC_{20} (1790)	55.00 ± 3.58 d	65.00 ± 3.65 d	80.00 ± 2.12 c	86.75 ± 4.23 bc	92.00 ± 3.39 ab
LC_{50} (3451)	77.25 ± 3.22 c	84.25 ± 2.84 bc	98.25 ± 1.18 a	100 ± 0.00 a	100 ± 0.00 a

میانگین‌های دارای حروف غیرمشابه با هم اختلاف معنی‌دار دارند (آزمون Tukey-HSD، سطح احتمال یک درصد)

Means with different letters are significantly different (Tukey-HSD; P<0.01).

پس از ۷۲ ساعت نیز اثر دز خاک دیاتومه ($F4_{4,60}$=31.22; P<0.001)، غلظت اسانس ($F_{3,60}$=959.98; P<0.001) و اثر متقابل آن دو ($F_{12,60}$=4.61; P<0.001) معنی‌دار بود. درصد مرگ‌ومیر حشرات کامل پس از ۷۲ ساعت در اثر استفاده ترکیبی از خاک دیاتومه

و اسانس به طور معنی‌داری افزایش یافت. همانند ۲۴ و ۴۸ ساعت، میزان مرگ‌ومیر در اثر استفاده انفرادی از خاک دیاتومه حداکثر ۱/۰۴ درصد بود. همچنین، بیشترین میانگین‌های مرگ‌ومیر در ترکیب‌های تیماری LC_{50} اسانس با دزهای مختلف خاک دیاتومه مشاهده شدند. این میزان در ترکیب‌های تیماری LC_{50} با دزهای ۱ و ۱/۵ گرم بر کیلوگرم خاک دیاتومه به ۱۰۰ درصد رسید (جدول ۴).

تعیین نوع برهمکنش

پس از ۲۴ ساعت، اثر سینرژیستی به طور کلی در اثر استفاده ترکیبی دزهای ۱ و ۱/۵ گرم بر کیلوگرم خاک دیاتومه با غلظت‌های مختلف اسانس مشاهده گردید (جدول ۵). پس از ۴۸ ساعت، اثر سینرژیستی در اثر استفاده ترکیبی از دزهای ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم بر کیلوگرم با غلظت‌های مختلف اسانس نیز مشاهده شد (جدول ۶). پس از ۷۲ ساعت، کلیه اثرات ترکیبی مشاهده شده از نوع سینرژیستی بودند، به استثنای ترکیب دز ۰/۱۲۵ با غلظت LC_{50} که روش فاکتور سمیت مشترک آن را تجمیعی نشان داد (جدول ۷).

تولید نتاج

در هر دز خاک دیاتومه، تولید نتاج در نسل‌های اول و دوم بر اثر استفاده از سه غلظت LC_{10}، LC_{20} و LC_{50} اسانس به شکل معنی‌داری کاهش یافت ($P<0.01$). در تمام دزهای خاک دیاتومه و در هر دو نسل، کمترین میانگین تولید نتاج در اثر استفاده از سه غلظت اسانس مشاهده گردید که با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند. بیشترین تولید نتاج نیز در اثر استفاده انفرادی از خاک دیاتومه (معادل تیمارهای ترکیبی دز خاک دیاتومه– غلظت LC_0 اسانس در جدول ۸) مشاهده شد که اختلاف آن با میانگین‌های مربوط به سه غلظت اسانس معنی‌دار بود. تولید نتاج در ترکیب‌های تیماری دزهای ۰/۱۲۵، ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم بر کیلوگرم خاک دیاتومه با غلظت‌های LC_{10}، LC_{20} و LC_{50} اسانس بسیار پایین و حداکثر حدود ۷ عدد حشره کامل ظاهرشده بود که تمام موارد، میزان مرگ‌ومیر ۱۰۰ درصد بود. در تیمارهای ترکیبی دزهای ۱ و ۱/۵ گرم بر کیلوگرم خاک دیاتومه با سه غلظت مختلف اسانس نیز هیچگونه تولید نتاجی مشاهده نشد. طبق نتایج، درصد مرگ‌ومیر نتاج تولیدی در اثر استفاده انفرادی از خاک دیاتومه در مقایسه با تیمارهای ترکیبی بسیار کمتر بود (جدول ۸).

جدول ۵- برهمکنش ترکیب خاک دیاتومه با اسانس *Myrtus communis* علیه حشرات کامل *Sitophilus granarius* پس از ۲۴ ساعت در معرض‌گذاری بر روی دانه‌های گندم

Table 5- Interactions of diatomaceous earth and *Myrtus communis* essential oil combinations, against the *Sitophilus granarius* adults after 24 h exposure on wheat kernels

دز خاک دیاتومه + غلظت اسانس Dose (g/kg) + Concentration (µl/l air)	مرگ‌ومیر Mortality (%)			فاکتور سمیت مشترک Co-toxicity factor	برهمکنش Interaction
	مورد انتظار Expected	مشاهده‌شده Observed	برهمکنش Interaction		
0.125 + LC_{10} (1267)	9.75 ± 1.70	11.0 ± 1.08	Additive	12.82	Additive
0.125 + LC_{20} (1790)	19.75 ± 1.70	21.0 ± 0.41	Additive	6.33	Additive
0.125 + LC_{50} (3451)	50.25 ± 1.71	52.5 ± 1.32	Additive	4.48	Additive
0.25 + LC_{10} (1267)	10.26 ± 2.20	10.5 ± 0.64	Additive	2.34	Additive
0.25 + LC_{20} (1790)	20.26 ± 2.20	21.25 ± 0.48	Additive	4.89	Additive
0.25 + LC_{50} (3451)	50.76 ± 2.21	54.0 ± 1.87	Additive	6.38	Additive
0.5 + LC_{10} (1267)	9.75 ± 1.70	10.5 ± 0.96	Additive	7.69	Additive
0.5 + LC_{20} (1790)	19.75 ± 1.70	23. 5 ± 0.64	Synergist	18.98	Additive
0.5 + LC_{50} (3451)	50.25 ± 1.71	54.25 ± 1.75	Synergist	7.96	Additive
1.0 + LC_{10} (1267)	10.26 ± 2.20	14.0 ± 0.91	Synergist	36.45	Synergist
1.0 + LC_{20} (1790)	20.26 ± 2.20	24.5 ± 0.64	Synergist	20.92	Synergist
1.0 + LC_{50} (3451)	50.76 ± 2.21	66.75 ± 2.87	Synergist	31.5	Synergist
1.5 + LC_{10} (1267)	11.25 ± 2.66	17.0 ± 1.29	Synergist	51.11	Synergist
1.5 + LC_{20} (1790)	21.25 ± 2.66	28.25 ± 0.85	Synergist	32.94	Synergist
1.5 + LC_{50} (3451)	51.75 ± 2.67	73.25 ± 2.21	Synergist	41.45	Synergist

جدول ۶- برهمکنش ترکیب خاک دیاتومه با اسانس *Myrtus communis* علیه حشرات کامل *Sitophilus granarius* پس از ۴۸ ساعت در معرض‌گذاری بر روی دانه‌های گندم

Table 6- Interactions of diatomaceous earth and *Myrtus communis* essential oil combinations, against the *Sitophilus granarius* adults after 48 h exposure on wheat kernels

دز خاک دیاتومه + غلظت اسانس Dose (g/kg) + Concentration (µl/l air)	مرگ‌ومیر Mortality (%)			فاکتور سمیت مشترک Co-toxicity factor	برهمکنش Interaction
	مورد انتظار Expected	مشاهده‌شده Observed	برهمکنش Interaction		
0.125 + LC_{10} (1267)	12.75 ± 1.89	12.25 ± 1.03	Additive	-3.92	Additive
0.125 + LC_{20} (1790)	22.5 ± 2.38	25.25 ± 2.87	Additive	12.22	Additive
0.125 + LC_{50} (3451)	61.25 ± 2.99	72.0 ± 3.03	Synergist	17.55	Additive
0.25 + LC_{10} (1267)	13.26 ± 2.39	19.5 ± 1.26	Synergist	47.06	Synergist
0.25 + LC_{20} (1790)	23.01 ± 2.88	31.75 ± 2.93	Synergist	37.98	Synergist
0.25 + LC_{50} (3451)	61.76 ± 3.49	76.0 ± 2.12	Synergist	23.06	Synergist
0.5 + LC_{10} (1267)	12.75 ± 1.89	23.0 ± 2.38	Synergist	80.39	Synergist
0.5 + LC_{20} (1790)	22.5 ± 2.38	40.25 ± 1.70	Synergist	78.89	Synergist
0.5 + LC_{50} (3451)	61.25 ± 2.99	81.75 ± 1.70	Synergist	33.47	Synergist
1.0 + LC_{10} (1267)	13.26 ± 2.39	24.5 ± 2.22	Synergist	84.77	Synergist
1.0 + LC_{20} (1790)	23.01 ± 2.88	66.25 ± 2.06	Synergist	187.92	Synergist
1.0 + LC_{50} (3451)	61.76 ± 3.49	87.5 ± 2.25	Synergist	41.68	Synergist
1.5 + LC_{10} (1267)	13.26 ± 2.39	29.0 ± 3.11	Synergist	118.7	Synergist
1.5 + LC_{20} (1790)	23.01 ± 2.88	76.75 ± 3.06	Synergist	233.55	Synergist
1.5 + LC_{50} (3451)	61.76 ± 3.49	92.25 ± 2.66	Synergist	49.37	Synergist

جدول ۷- برهمکنش ترکیب خاک دیاتومه با اسانس *Myrtus communis* علیه حشرات کامل *Sitophilus granarius* پس از ۷۲ ساعت درمعرض‌گذاری بر روی دانه‌های گندم

Table 7- Interactions of diatomaceous earth and *Myrtus communis* essential oil combinations, against the *Sitophilus granarius* adults after 72 h exposure on wheat kernels

دز خاک دیاتومه + غلظت اسانس Dose (g/kg) + Concentration (µl/l air)	مرگ‌ومیر Mortality (%)			فاکتور سمیت مشترک Co-toxicity factor	برهمکنش Interaction
	مورد انتظار Expected	مشاهده‌شده Observed	برهمکنش Interaction		
0.125 + LC_{10} (1267)	16.25 ± 2.99	23.50 ± 3.50	Synergist	44.61	Synergist
0.125 + LC_{20} (1790)	36.50 ± 6.87	55.00 ± 3.58	Synergist	50.68	Synergist
0.125 + LC_{50} (3451)	65.75 ± 5.50	77.25 ± 3.22	Synergist	17.49	Additive
0.25 + LC_{10} (1267)	16.25 ± 2.99	25.00 ± 3.79	Synergist	53.87	Synergist
0.25 + LC_{20} (1790)	36.50 ± 6.87	65.00 ± 3.65	Synergist	78.08	Synergist
0.25 + LC_{50} (3451)	65.75 ± 5.50	84.25 ± 2.84	Synergist	28.14	Synergist
0.5 + LC_{10} (1267)	16.25 ± 2.99	34.00 ± 4.32	Synergist	109.23	Synergist
0.5 + LC_{20} (1790)	36.50 ± 6.87	80.00 ± 2.12	Synergist	118.35	Synergist
0.5 + LC_{50} (3451)	65.75 ± 5.50	98.25 ± 1.18	Synergist	49.43	Synergist
1.0 + LC_{10} (1267)	17.29 ± 3.59	35.00 ± 5.26	Synergist	102.43	Synergist
1.0 + LC_{20} (1790)	37.54 ± 7.47	86.75 ± 4.23	Synergist	131.09	Synergist
1.0 + LC_{50} (3451)	66.79 ± 6.10	100 ± 0.00	Synergist	49.72	Synergist
1.5 + LC_{10} (1267)	17.28 ± 3.58	42.00 ± 5.23	Synergist	143.05	Synergist
1.5 + LC_{20} (1790)	37.53 ± 7.46	92.00 ± 3.39	Synergist	145.14	Synergist
1.5 + LC_{50} (3451)	66.78 ± 6.09	100 ± 0.00	Synergist	49.74	Synergist

جدول ۸- تولید نتاج (SE ± میانگین تعداد حشرات کامل) و درصد مرگ‌ومیر نتاج (SE ±) *Sitophilus granarius* در اثر استفاده از دزهای مختلف خاک دیاتومه در ترکیب با غلظت‌های مختلف اسانس *Myrtus communis*

Table 8- Progeny production (mean ± SE) and their percentage mortality (± SE) in the *Sitophilus granarius* by using different dose rates of diatomaceous earth in combination with different concentrations of *Myrtus communis* essential oil

دز خاک دیاتومه Dose (g/kg)	غلظت اسانس Essential oil concentration (µl/ l air)	تولید نتاج[a] Progeny production[a]		حشرات کامل مرده [b] Dead adults (%)[b]	
		نسل اول 1st generation	نسل دوم 2nd generation	نسل اول 1st generation	نسل دوم 2nd generation
Control	-	84.37 ± 10.95	243.3 ± 15.83	1.28 ± 0.55	2.74 ± 0.67
0.125[d]	LC_0 (0.0)	59.65 ± 5.87 a[c]	210.81 ± 21.69 a	9.94 ± 0.37	12.54 ± 3.47
	LC_{10} (1267)	5.54 ± 1.63 b	25.07 ± 3.64 b	100 ± 0.0	100 ± 0.0
	LC_{20} (1790)	6.13 ± 1.44 b	24.65 ± 2.94 b	100 ± 0.0	100 ± 0.0
	LC_{50} (3451)	5.56 ± 1.73 b	15.17 ± 2.13 b	100 ± 0.0	100 ± 0.0
0.25	LC_0 (0.0)	48.68 ± 4.81 a	181.85 ± 17.88 a	11.92 ± 0.41	23.76 ± 4.57
	LC_{10} (1267)	5.67 ± 1.01 b	25.31 ± 3.51 b	100 ± 0.0	100 ± 0.0
	LC_{20} (1790)	6.94 ± 1.35 b	30.14 ± 4.16 b	100 ± 0.0	100 ± 0.0
	LC_{50} (3451)	6.15 ± 1.49 b	16.19 ± 2.48 b	100 ± 0.0	100 ± 0.0
0.5	LC_0 (0.0)	31.25 ± 3.76 a	155.7 ± 14.52 a	22.94 ± 0.34	35.41 ± 4.81
	LC_{10} (1267)	3.32 ± 0.82 b	17.22 ± 3.11 b	100 ± 0.0	100 ± 0.0
	LC_{20} (1790)	3.19 ± 0.94 b	13.29 ± 2.54 b	100 ± 0.0	100 ± 0.0
	LC_{50} (3451)	2.36 ± 0.66 b	9.92 ± 2.16 b	100 ± 0.0	100 ± 0.0
1.0	LC_0 (0.0)	27.81 ± 3.68 a	123.64 ± 11.88 a	22.19 ± 0.65	34.29 ± 5.15
	LC_{10} (1267)	0.0 ± 0.0 b	0.0 ± 0.0 b	-	-
	LC_{20} (1790)	0.0 ± 0.0 b	0.0 ± 0.0 b	-	-
	LC_{50} (3451)	0.0 ± 0.0 b	0.0 ± 0.0 b	-	-
1.5	LC_0 (0.0)	12.31 ± 2.6 a	60.39 ± 5.49 a	32.43 ± 1.27	45.83 ± 6.37
	LC_{10} (1267)	0.0 ± 0.0 b	0.0 ± 0.0 b	-	-
	LC_{20} (1790)	0.0 ± 0.0 b	0.0 ± 0.0 b	-	-
	LC_{50} (3451)	0. ± 0.0 b	0.0 ± 0.0 b	-	-

[a] تعداد حشرات کامل ظاهر شده (زنده + مرده) در هر ظرف، ۴۵ و ۹۰ روز پس از حذف حشرات کامل والد از ظروف تیمار

[b] درصد حشرات مرده محاسبه شده از نتاج تولید شده

[c] در هریک از دزها، میانگین‌های دارای حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند

[d] برای هر دز خاک دیاتومه، تجزیه واریانس‌های مربوط به تعداد نتاج، با چهار غلظت اسانس به عنوان تیمار انجام شدند

[a] Number of emerged adults (alive + dead) in each container, 45 and 90 days after removing the parental adults from treatment containers

[b] Percentage dead adults calculated based on progeny production

[c] For each dose rate, means with the same letters are not significantly different

[d] For each dose rate, ANOVA was carried out with four essential oil concentrations as treatments

بحث

طبق نتایج، منوترپن‌ها اجزای اصلی اسانس مورد بودند. مهم‌ترین ترکیبات شیمیایی اسانس مورد عبارتند از: میرتنول، میرتنول استات، لیمونن، لینالوئول، آلفا- پینن، ۸،۱- سینئول، آلفا- کاریوفیلن، پارا- سایمن، جرانیول، نِرول (منوترپن) و متیل‌اوژنول (فنیل‌پروپانوئید) (۴ و ۳۰). نقش عوامل زیست‌محیطی در تعیین ترکیبات شیمیایی اسانس

مورد بسیار مهم می‌باشد (۴۰). نوع ترکیبات شیمیایی اسانس‌ها بسته به موقعیت اقلیمی و جغرافیایی و شرایط رشد گیاه، شامل غلظت مواد مغذی، دما، رطوبت، نوع خاک، طول روز، اقلیم، ارتفاع، میزان آب قابل دسترس، فصل یا دوره زمانی رشد رویشی گیاه (قبل یا بعد از گلدهی) (۵ و ۱۴)، اندام گیاهی مورد استفاده (۴) و زمان برداشت (۲۰) متغیر است. تفاوت‌های مشاهده شده در نوع و میزان ترکیبات اسانس‌های گیاهی از جمله اسانس مورد را در تحقیقات مختلف می‌توان به عوامل فوق نسبت داد.

مقایسه کلی جدول‌های ۲ تا ۴ نشان می‌دهد که درصد مرگ‌ومیر با افزایش دز خاک دیاتومه، غلظت اسانس و مدت زمان در معرض‌گذاری به طور معنی‌داری افزایش یافت و افزودن اسانس گیاهی (به ویژه در غلظت LC_{50}) باعث افزایش کارایی حشره‌کشی خاک دیاتومه شد. طبق گزارش‌های بسیار، تاثیر خاک‌های دیاتومه به صورت تاخیری است (مانند ۸، ۱۰ و ۳۸). این تاخیر در تاثیر با توجه به نحوه اثر خاک‌های دیاتومه (جذب لیپیدهای روکوتیکول و خراش دادن کوتیکول که باعث از دست رفتن آب بدن حشرات و در نهایت مرگ آن‌ها می‌شود) قابل توجیه است. افزایش دز باعث افزایش جذب لیپیدها و ایجاد خراش در بدن حشره در واحد زمان می‌شود. همچنین، افزایش غلظت اسانس نیز میزان سم ورودی به بدن در واحد زمان را افزایش می‌دهد. این امر اثر معنی‌دار افزایش دز/ غلظت را روی مرگ‌ومیر حشرات توجیه می‌کند. افزایش مدت زمان درمعرض‌گذاری نیز باعث می‌شود تا جذب لیپیدها و ایجاد خراش در بدن توسط خاک‌های دیاتومه یا ورود اسانس به بدن به مرور افزایش یابد تا در نهایت به مرگ منجر شود.

کند بودن تاثیر خاک‌های دیاتومه، استفاده از دزهای بالای آن‌ها را الزام‌آور می‌سازد که این امر ممکن است روی برخی ویژگی‌های غلات انباری تاثر منفی بگذارد (۱۸ و ۲۵). اسانس‌های گیاهی نیز ممکن است روی فراورده‌های استفاده شده بو بر جای بگذارند یا برای رسیدن به اثرات حشره‌کشی قابل توجه ظرف مدت زمانی قابل قبول، به غلظت‌های بالای آن‌ها نیاز باشد. طبق نتایج این تحقیق و سایر پژوهشگران (۲، ۹، ۱۱، ۳۱ و ۳۲)، استفاده ترکیبی از این دو عامل حشره‌کش یکی از روش‌های کنترلی بسیار مناسب برای غلبه بر محدودیت‌های آن‌ها می‌باشد. با وجود این، طبق نتایج کامپولو و همکاران (۱۳)، اسانس پرتقال *Citrus sinensis* L.، در صورت استفاده ترکیبی با کائولین، روی مرگ‌ومیر سوسک کشیش *Rhyzopertha dominica*، اثر سینرژیستی و در صورت استفاده ترکیبی با خاک دیاتومه دارای اثر آنتاگونیستی بود. این نتیجه نشان می‌دهد که نوع گرد خنثی مورد استفاده در ترکیب با اسانس گیاهی (و نیز اثرات وابسته به گونه (۳۸)) می‌توانند روی نوع برهمکنش بین دو عامل حشره‌کش در استفاده ترکیبی اثر بگذارند. این امر یادآوری می‌کند که با وجود گزارش‌های متعدد در مورد اثرات سینرژیستی اسانس‌های گیاهی- خاک‌های دیاتومه، انجام تحقیقات موردی روی هر آفت ضروری است تا از نوع برهمکنش اطمینان حاصل شود. در این پژوهش نشان داده شد که ترکیب خاک دیاتومه با اسانس گیاه مورد روی مرگ‌ومیر حشرات کامل شپشه گندم اثر سینرژیستی داشت و مرگ‌ومیر حشرات کامل پس از ۴۸ ساعت به حدود نود درصد و پس از ۷۲ ساعت (در بالاترین دزها و غلظت‌های مورد بررسی) به ۱۰۰ درصد رسید که با نتایج ضیائی و محرمی پور (۴۵) مطابقت دارند.

با وجود گزارش‌های متعدد در مورد اثرات حشره‌کشی اسانس‌های گیاهی و خاک‌های دیاتومه، مطالعات انجام شده در زمینه برهمکنش بین این دو عامل حشره‌کش در اثر استفاده ترکیبی معدودتر هستند. از جمله، در تحقیق انجام شده توسط ضیائی و محرمی‌پور (۴۵)، غلظت زیرکشنده (LC_{25}) اسانس زیره سبز، *Cuminum cyminum* L.، روی حشرات کامل شپشه گندم بر روی گندم بررسی شد و میزان تلفات دو روز پس از تیمار شمارش گردید. علاوه بر این، آزمایش دیگری برای تعیین مقدار LC_{25} خاک دیاتومه ایرانی از معدن دیاتومیت ممقان انجام شد. مقادیر LC_{25} اسانس گیاهی و خاک دیاتومه به ترتیب ۲۷۴/۳۶ و ۶۱/۵۵ پی‌پی‌ام به دست آمدند. سپس، اثر سینرژیستی دز LC_{25} خاک دیاتومه و اسانس بررسی شد. نتایج نشان داد که ترکیب خاک دیاتومه با اسانس گیاهی خاصیت سینرژیستی داشت و موجب بروز ۸۸ درصد تلفات گردید. اثر سینرژیستی استفاده ترکیبی از خاک دیاتومه و اسانس گیاهی علیه شپشه قرمز آرد، *Tribolium castaneum* (Herbst) نیز گزارش شده است (۲۴). از سایر تحقیقات انجام شده در این زمینه می‌توان به افزایش کارایی حشره‌کشی خاک دیاتومه در ترکیب با اسانس سیر، *Allium sativum* L.، علیه حشرات کامل شپشه برنج، *Sitophilus oryzae* (L.)، و شپشه قرمز آرد (۴۳)؛ بررسی اثرات کشندگی ترکیب پودر و اسانس زنیان *Carum copticum* (L.)، در ترکیب با خاک دیاتومه روی حشرات کامل شپشه آرد، *T. confusum* du Val و شپشه گندم (۴۶)، بررسی کارایی حشره‌کشی ترکیب خاک دیاتومه (سایان) و کائولین (سپیدان) در ترکیب با اسانس مورد روی حشرات کامل شپشه برنج (۳۷ و ۳۸) و اثر سینرژیستی خاک دیاتومه سیلیکوسک با سه اسانس گیاهی (۳۵) اشاره نمود. ضیایی و همکاران (۴۴ و ۴۶) اظهار داشته‌اند که اسانس‌های گیاهی دست‌کم از طریق افزایش تحرک و در نتیجه افزایش تماس حشرات با ذرات خاک‌های دیاتومه می‌توانند کارایی این خاک‌ها را افزایش دهند. مقایسه نتایج بررسی حاضر با نتایج ریحانی و همکاران (۳۸)، که با استفاده از همین دزهای سایان و غلظت‌های اسانس مورد روی شپشه برنج انجام شده‌اند، نشان می‌دهد که شپشه گندم در مقایسه با شپشه برنج در برابر تیمارهای ترکیبی سایان- اسانس مورد احتمالا مقاوم‌تر می‌باشد.

در یک تحقیق مشابه انجام‌شده روی تولید نتاج شپشه برنج (۳۸)، تولید نتاج تنها در اثر استفاده انفرادی از سایان مشاهده شد. بر اثر

استفاده ترکیبی از خاک دیاتومه و اسانس مورد، پس از گذشت ۴۵ و ۹۰ روز از حذف حشرات کامل از ظروف تیمار، تولید نتاج (به ترتیب نسل‌های F1 و F2) مشاهده نشد. دلیل این امر، مرگ‌ومیر نزدیک به ۱۰۰ درصدی نتاج و عدم وجود فرصت کافی برای تخمگذاری طی ۷۲ ساعت بیان شده است. با وجود این، در تحقیق حاضر و بر خلاف نتایج فوق در مورد شپشه برنج، تولید نتاج شپشه گندم در نسل F1 در تیمارهای ترکیبی با دزهای ۰/۱۲۵، ۰/۲۵ و ۰/۵ گرم بر کیلوگرم مشاهده شد (هر چند از حداکثر ۷ عدد حشره کامل فراتر نرفت)، ولی همانند آن، مرگ‌ومیر نتاج صد درصد بود. به گفته ریحانی و همکاران (۳۸)، عدم کنترل موثر شپشه برنج و دادن فرصت تولید مثل به حشرات کامل (مثلا به دلیل اثر تاخیری خاک‌های دیاتومه) باعث خواهد گردید تا جمعیت‌های نسل‌های بعدی به سرعت تشکیل شوند و خسارت فراوانی را به فراورده‌ی انباری وارد نمایند. ترکیب سایان- اسانس مورد علاوه بر کنترل موثر این دو آفت، با جلوگیری از تولید نتاج آن‌ها، احتمال تشکیل جمعیت‌های بعدی و در نتیجه وارد آمدن خسارت را از بین برده است. بر خلاف نتایج ریحانی و همکاران (۳۸) که برای حصول مرگ‌ومیر صد درصدی در شپشه برنج، قرار داشتن حداقل ۴۸ ساعت در معرض تیمارهای ترکیبیِ غلظت ۳۴۵۱ میکرولیتر بر لیتر هوای اسانس مورد با دزهای ۱ یا ۱/۵ گرم بر کیلوگرم سایان، حشرات کامل شپشه گندم باید حداقل ۷۲ ساعت در معرض این تیمارهای ترکیبی قرار داشته باشند. مقایسه نتایج پژوهش حاضر با نتایج ریحانی و همکاران (۳۸) نشان می‌دهد که با توجه به تولید نتاج نیز احتمالا مقاومت شپشه گندم در برابر تیمارهای مورد استفاده نسبت به شپشه برنج بیشتر می‌باشد. با توجه به نتایج این تحقیق و سایر گزارش‌های موجود، به طور کلی می‌توان گفت که هر چند استفاده انفرادی از عوامل حشره‌کشی مانند خاک‌های دیاتومه و اسانس‌های گیاهی ممکن است با برخی محدودیت‌ها (مانند کنداثر بودن، ناپایداری، بر جای گذاشتن بو، آسیب رساندن به دانه‌ها در صورت استفاده از دزهای بالا و غیره) همراه باشد، اما استفاده ترکیبی از این عوامل حشره‌کش راه‌حل مناسبی است که می‌تواند این محدودیت‌ها را تا حد زیادی برطرف نماید.

سپاسگزاری

این مقاله نتیجه طرح تحقیقاتی به شماره ۱۸-۳۲۳-۹۳ می‌باشد و با استفاده از اعتبارات پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شده است که تقدیر و تشکر می‌شود.

منابع

1- Abbott W.S. 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology 18: 265-267.
2- Adarkwah C., Obeng-Ofori D., Prozell S., Asante V., Hörman V., Ulrich C., and Scholler M. 2017a. Toxicity and protectant potential of *Piper guineense* (Piperaceae) and *Senna siamea* (Fabaceae) mixed with diatomaceous earth for the management of three major stored product beetle pests. International Journal of Pest Management 63: 128-139.
3- Adarkwah C., Obeng-Ofori D., Ulrich C., and Scholler M. 2017b. Insecticidal efficacy of botanical food by-products against selected stored-grain beetles by the combined action with modified diatomaceous earth. Journal of Plant Diseases and Protection 124: 255-267.
4- Aleksic V., and Knezevic P. 2014. Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. Microbiological Research 169: 240-254.
5- Andrade E.H.A., Alves C.N., Guimaraes E.F., Carreira L.M.M., Maia J.G.S. 2011. Variability inessential oil composition of *Piper dilatatum* L.C. Rich. Biochemical and Systematic Ecology 39: 669-75.
6- Appel A.G., Moar W.J., and Tanley M.J. 1999. Water loss and mortality of adult cowpea weevils (Coleoptera: Bruchidae) exposed to desiccants and desiccating environments. Environmental Entomology 28: 979-982.
7- Athanassiou C.G., Kavallieratos N.G., Vayias B.J., and Panoussakis E.C. 2008. Influence of grain type on the susceptibility of different *Sitophilus oryzae* (L.) populations, obtained from different rearing media, to three diatomaceous earth formulations. Journal of Stored Products Research 44: 279-284.
8- Athanassiou C.G., Arthur F.H., Opit G.P., and Throne J.E. 2009. Insecticidal effect of diatomaceous earth against three species of stored-product psocids on maize, rice, and wheat. Journal of Economic Entomology 102(4): 1673-1680.
9- Athanassiou C.G., Kavallieratos N.G., and Meletsis C.M. 2007. Insecticidal effect of three diatomaceous earth formulations, applied alone or in combination, against three stored-product beetle species on wheat and maize. Journal of Stored Products Research 43(4): 330-334.
10- Athanassiou C.G., Kavallieratos N.G., Tsaganou F.C., Vayias B.J., Dimizas C.B., and Buchelos C.Th. 2003. Effect of grain type on the insecticidal efficacy of SilicoSec against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). Crop Protection 22: 1141-1147.
11- Athanassiou C.G., and Steenberg T. 2007. Insecticidal effect of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Villemin

(Ascomycota: Hypocreales) in combination with three diatomaceous earth formulations against *Sitophilus granarius* (L) (Coleoptera: Curculionidae). Biological Control 40: 411-416.
12- Athanassiou C.G., Vayias B.J., Dimizas C.B., Kavallieratos N.G., Papagregoriou A.S., and Buchelos C.Th., 2005. Insecticidal efficacy of diatomaceous earth against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium confusum* Jacquelin du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) on stored wheat: influence of dose rate, temperature and exposure interval. Journal of Stored Products Research 41: 47-55.
13- Campolo O., Romeo F.V., Malacrinò A., Laudani F., Carpinteri G., Fabroni S., Rapisarda P., and Palmeri V. 2014. Effects of inert dusts applied alone and in combination with sweet orange essential oil against *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) and wheat microbial population. Industrial Crops and Products 61: 361-369.
14- Deans S.G., Svoboda K.P., Gundidza M., and Brechany E.Y. 1992. Essential oil profiles of several temperate and tropical aromatic plants: their antimicrobial and antioxidant activities. Acta Horticulturae 306: 229-32.
15- Djilani A., and Dicko A. 2012. The Therapeutic Benefits of Essential Oils. Nutrition, Well-Being and Health, Eds J. Bouayed and T. Bohn (2012) InTech, Janeza Trdine 9, 51000 Rijeka, Croatia. pp. 155-178.
16- Fava A., and Burlando B. 1995. Influence of female age and grain availability on the oviposition pattern of the wheat weevil *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae). European Journal of Entomology 92: 421-426.
17- Ferng S.F., and Lee L.W. 2002. Indoor air quality assessment of daycare facilities with carbon dioxide, temperature, and humidity as indicators. Journal of Environmental Health 65: 14-18.
18- Freo J.D., Dias de Moraes L.B., Santetti G.S., Gottmannshausen T.L., Elias M.C., and Gutkoski L.C. 2014. Physiochemical characteristics of wheat treated with diatomaceous earth and conventionally stored. Ciência e Agrotecnologia 38(6): 546-553.
19- Ghafouripoor H. 2019. Insecticidal and repellency effect of five essential oils and their integration with diatomaceous earth in control of saw toothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis* (L.). M.Sc. Thesis, University of Mohaghegh Ardabili. Ardabil, Iran. 93 pp. (In Persian with English abstract)
20- Goudarzvande Chegini S., Abbasipour H., Karimi J., and Askarianzadeh A. 2017. Fumigant toxicity of the essential oil of caraway, *Carum carvi* on the tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). Journal of Plant Protection 31(1): 172-178. (In Persian with English abstract)
21- Hossain A.M., and Salehuddin S.M. 2013. Analytical determination of nicotine in tobacco leaves by gas chromatography-mass spectrometry. Arabian Journal of Chemistry 6: 275-278.
22- Işikber A.A. 2010. Fumigant toxicity of garlic essential oil in combination with carbon dioxide (CO_2) against stored-product insects. In: Proceedings of the 10th International Working Conference on Stored-Product Protection. Berlin, Estoril, pp. 371-376.
23- Kavallieratos N.G., Athanassiou C.G., Pashalidou F.G., Andris N.S., and Tomanovi T.L. 2005. Influence of grain type on the insecticidal efficacy of two diatomaceous earth formulations against *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae). Pest Management Science 61: 660-666.
24- Khorrami F., Valizadegan O., Forouzan M., Soleymanzade A. 2018. The antagonistic/ synergistic effects of some medicinal plant essential oils, extracts and powders combined with diatomaceous earth on red flour beetle, *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). Archives of Phytopathology and Plant Protection 51: 685-695.
25- Korunic Z. 1998. Diatomaceous earths, a group of natural insecticides. Journal of Stored Products Research 34: 87-97.
26- Korunić Z., Liška A., Lucić P., Hamel D., and Rozman V. 2020. Evaluation of diatomaceous earth formulations enhanced with natural products against stored product insects. Journal of Stored Products Research 86, doi: org/10.1016/j.jspr.2019.101565
27- Lyon W.F. 2011. Granary and Rice Weevils. Ohio State University Extension Fact Sheet. HYG-2088-97. Available in: http://ohioline.osu.edu/hyg-fact/2000/2088.html (visited 6 October 2020).
28- Mansour N.A., El-Defrawi M.E., Tappozada A., and Zeid M., 1966. Toxicological studies of the Egyption cotton leaf worm *Prodenia litura*. VI potentiation and antagonism of organophosphorus and carbamate insecticides. Journal of Economic Entomology 59(2): 307-311.
29- Mason L., and McDonough M. 2012. Biology, Behavior, and Ecology of Stored Grain and Legume Insects. Stored Product Protection, Eds D.W. Hagstrum et al. (2012) Manhattan, KS: Kansas State University. pp. 7-20.
30- Messaoud C., Laabidi A., and Boussaid M. 2012. *Myrtus communis* L. infusions: the effect of infusion time on phytochemical composition, antioxidant and antimicrobial activities. Journal of Food Science 77(9): 941-947.
31- Michalaki M.P., Athanassiou C.G., Kavallieratos N.G., Batta Y.A., and Balotis G.N. 2006. Effectiveness of *Metarhizium anisopliae* (Metschinkoff) Sorokin applied alone or in combination with diatomaceous earth against *Tribolium confusum* Du Val larvae: Influence of temperature, relative humidity and type of commodity. Crop Protection 25: 418-425.
32- Moras A., Pereira F.M., Oliveira M., Lorini I., Schirmer M.A., and Elias M.C. 2006. Diatomaceous Earth and Propionic Acid to Control *Sitophilus oryzae* and *Oryzaephilus surinamensis* Rice Stored Grain Pests. In: Proceedings of the 9th International Working Conference on Stored Product Protection. Sao Paolo, pp. 823-828.
33- Morone-Fortunato I., Montemurro C., Ruta C., Perrini R., Sabetta W., Blanco A., Lorusso E., and Avato P. 2010.

Essential oils, genetic relationships and in vitro establishment of *Helichrysum italicum* (Roth) G, Don ssp. *italicum* from wild Mediterranean germ plasm. Industrial Crops and Products 32: 639-49.

34- Ormancey X., Sisalli S., and Coutiere P. 2001. Formulation of essential oils in functional perfumery. Parfums, Cosmetiques, Actualites 157: 30-40.

35- Pierattini E.C., Bedini S., Venturi F., Ascrizzi R., Flamini G., Bocchino R., Girardi J., Giannotti P., Ferroni G., and Conti B. 2019. Sensory quality of essential oils and their synergistic effect with diatomaceous earth, for the control of stored grain insects. Insects 2019, 10, 114; doi:10.3390/insects10040114

36- Rees D. 2007. Insects of Stored Grain, a Pocket Reference (2nd edition). CSIRO Publishing, Australia. 77 pp.

37- Reihani M., Yazdanian M., and Afshari A. 2014. Enhancement of Insecticidal efficacy of Sepidan (a processed kaolin) in combination with a formulated plant essential oil against adults of the Rice weevil. In: Proceedings of the National Conference on Modern Topics in Agriculture. Tehran. (In Persian)

38- Reihani M., Yazdanian M., and Afshari A. 2016. Enhancing insecticidal efficacy and remedying dilatory effect of diatomaceous earth Sayan® against adults of the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.), in combination with myrtle essential oil, *Myrtus communis* L. Applied Researches in Plant Protection 5(1): 65-78. (In Persian with English abstract)

39- Rigaux M., Haubruge E., and Fields P.G. 2001. Mechanisms for tolerance to diatomaceous earth between strains of *Tribolium castaneum*. Entomologia Experimentalis et Applicata 101: 33-39.

40- Scora R.W. 1973. Essential leaf oil variability in green, variegated and albino foliage of *Myrtus communis*. Phytochemistry 12: 153-155.

41- Subramanyam Bh., and Roesli R. 2000. Inert Dusts. Alternatives to Pesticides in Stored-Product IPM, Eds Bh. Subramanyam and D.W. Hagstrum (2000) Kluwer Academic Publishers. pp. 321-380.

42- Tallarida R.J. 2000. Drug Synergism and Dose-Effect Data Analysis. Chapman & Hall/CRC, USA. 264 pp.

43- Yang F.-L., Liang G.-W., Xu Y.-J., Lu Y.-Y., and Zeng L. 2010. Diatomaceous earth enhances the toxicity of garlic, *Allium sativum*, essential oil against stored-product pests. Journal of Stored Products Research 46: 118-123.

44- Ziaee M., Ebadillahi A., and Wakil W. 2019. Integrating inert dusts with other technologies in stored product protection. Toxin Reviews, https://doi.org/10.1080/ 15569543.2019.1633673

45- Ziaee M., and Moharramipour S. 2012. The combination effects of diatomaceous earth and *Cuminum cyminum* essential oil against *Sitophilus granarius*. In: Proceedings of the 20th Iranian Plant Protection Congress, Shiraz, p. 370.

46- Ziaee M., Moharramipour S., and Francikowski J. 2014. The synergistic effects of *Carum copticum* essential oil on diatomaceous earth against *Sitophilus granarius* and *Tribolium confusum*. Journal of Asia-Pacific Entomology 17: 817-822.

Journal of Plant Protection
Vol. 35, No. 2, Summer 2021, P. 203-216

نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰، ص. ۲۱۶-۲۰۳

Chemical Composition of Myrtle Essential Oil and its Insecticidal Activity in Combination with Diatomaceous Earth against Adults of the Granary Weevil, *Sitophilus granarius* (L.)

M. Yazdanian[1]*- M. Reihani[2]

Received: 09-03-2021
Accepted: 14-06-2021

Introduction: The granary weevil, *Sitophilus granarius* (L.), is one of the most destructive insect pests of stored grains worldwide. The larvae feed inside the grain kernels. Larvae and adults feed from grain kernels such as wheat, barley, buckwheat, rice, maize, millet, oat, and rye. This pest causes heavy damages especially to wheat and barley kernels. Due to the negative side effects of chemical pesticides on human health and environment, efficacy of substitution compounds with acceptable insecticidal effects have been evaluated extensively during past two decades. Diatomaceous earths and plant essential oils are amongst the most important substitution compounds that having delayed effects and instability, respectively, and cause problems during their application. Using the two insecticidal agents in combination is a method for solving this problem. Plant essential oils are odorous and volatile compounds that present only in 10% of plant species. Myrtle (*Myrtus communis* L.) essential oil has shown significant effects on different human and plant pests and pathogens, including insecticidal effects. Diatomaceous earths, in the other hand, are inert dusts that absorb insect cuticle lipids and as a result, disrupt the waterproofing nature of the integument. Treated insects with diatomaceous earths finally go to death due to losing their body water content. These materials are not toxic to mammals that is an important privilege in comparison to conventional insecticides. Due to the economic importance of the granary weevil in Iran and the limitations of the application of diatomaceous earths and plant essential oils, in the present research insecticidal efficacy of the diatomaceous earth Sayan® in combination with myrtle essential oil was evaluated against adults of this pest.

Materials and Methods: GC-MS analysis carried out using a Varian CP-3800 gas chromatograph equipped with a Varian Saturn 2200 ion trap mass spectrometer (Helium as carrier gas; current rate 1:100 ml/min.; pressure 10 psi, and injection volume of 0.1 µl; with VF-5ms capillary column, 30 m × 0.32 mm, and 0.25 µm inner diameter; injector and detector temperatures 220 and 300°C, respectively). The granary weevil adults were initially obtained from a colony in Entomology laboratory, Plant Protection Department, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources and reared on wheat kernels (Gonbad cultivar) for three generations (26 ± 2 °C, 65 ± 5% R.H., and L:D 16:8). Seven-day old adults of forth generation were used in bioassays. All experiments carried out on kernels of Gonbad cultivar under above mentioned conditions. In myrtle essential oil dose-setting bioassays, concentration causing 20 and 80% mortality (µl/l air) were determined. In each Petri dish (7 cm in diameter; 50 mL), a filter paper (Whatman no. 1; 2 cm in diameter) was attached to the inner part of the lid as evaporation surface. The two halves of petri dishes were sealed with parafilm to prevent essential oil loss. Experiments were repeated four times and adults mortalities were counted after 24 h. Adults that did not move their legs and antennae after a gentle poking with a fine pin were considered as dead individuals. After doing and collecting data via final bioassays, LC_{10}, LC_{20}, and LC_{50} values were estimated by using probit analysis (1267, 1790, and 3451 µL/L air, respectively). In combination effects experiments, five dose rates of 0.125, 0.25, 0.5, 1.0 and 1.5 g Sayan®/kg grain in combination with myrtle essential oil at four concentrations of LC_0, LC_{10}, LC_{20}, and LC_{50} (equal to 0.0, 1267.0, 1790.0 and 3451.0 µL/L air, respectively) were assessed. Adults' mortalities were recorded after 24, 48, and 72 h of exposure. To determine progeny production at F1 and F2 generations, dead and alive adults were counted and removed from treatment containers after the 72 hand containers were left at the same conditions for 45 and 90 days more. After these periods, emerged adults were counted and recorded as dead or alive. Probit analyses were done using PoloPlus ver. 2.0 software. Mortality data were analyzed using one-way ANOVA as factorial (dose rate × essential oil concentration). Means were separated using Tukey-HSD test at α= 0.01. Synergistic and/or antagonistic interactions were determined using Tallarida (2000) method and co-toxicity factor was proposed by Mansour et al. (1966).

Results and Discussion: In myrtle essential oil, 46 compounds were identified that 1, 8- cineole (eucalyptol) (18.029%), Isoterpinolene (14.704%), and α-Fenchene (13.135%) showed the highest amounts. Application of Sayan® alone did not result in notable mortality even after 72 h, so that at the highest dose of 1.5 g/kg it was 1.03%.

1 and 2- Assistant Professor and Former M.Sc. Student, Department of Plant Protection, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, respectively.
(*- Corresponding Author Email: mohsenyazdanian@gau.ac.ir)
DOI: 10.22067/jpp.2021.69214.1015

Application of Sayan® in combination with myrtle essential oil increased the mortality of adults significantly, so that after 48 and especially 72 h, it was highly notable and increased from 12.25% using LC_{10}-0.125 g/kg after 48 h up to 92.50% using the LC_{50}-1.5 g/kg. After 72 h, mortalities of adults using the combination of LC_{50} with 0.5, 1.0, and 1.5 g/kg were 98.25, 100, and 100%, respectively. Interaction between Sayan® in combination with myrtle essential oil, especially after 48 and 72 h, was mainly synergistic. After 45 days, progeny production using the combination of 0.125, 0.25, and 0.5 g/kg of Sayan® with LC_{10}, LC_{20}, and LC_{50} of essential oil was very low (max. 7 adults), but their mortality was 100%. Combination of 1.0 and 1.5 g/kg of Sayan® with different concentrations of essential oil resulted to no progeny production. Compared to the combination treatments, percentage mortality of progenies using the Sayan® alone was much lower. The same trend was observed for progeny production after 90 days.

Conclusion: Results of this study indicated that application of the diatomaceous earth Sayan® in combination with the myrtle essential oil significantly increased the insecticidal efficacy of Sayan® and remedied its delayed effect (it decreased the exposure interval form about more than 14 days down to about 72 h) ($p < 0.0001$). This indicates that due to the synergistic interactions, application of the two insecticide agents in combination can remedy the delayed effects of Sayan® and instability of myrtle essential oil that could be considered in control of the granary weevil.

Keywords: Chemical components, Diatomaceous earth, Myrtle essential oil, *Sitophilus granarius*, Synergistic effect