

## بهینه‌سازی مصرف حشره کش کلرپایریفوس علیه شب‌پره هندی *Plodia interpunctella*، شب‌پره مدیترانه‌ای *Anagasta kuehniella* و شب‌پره موم خوار بزرگ *Galleria mellonella* با روش سطح پاسخ در شرایط آزمایشگاهی

علیرضا شعبانی نژاد<sup>۱</sup> و مریم عجم حسنی<sup>\*</sup>

۱- دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود، شاهرود

(تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۸ تاریخ پذیرش: ۹۷/۳/۳۰)

### چکیده

شب‌پره هندی *Plodia interpunctella* H.، شب‌پره مدیترانه‌ای *Anagasta kuehniella* Z. و شب‌پره موم‌خوار بزرگ *Galleria mellonella* L. از آفات بسیار مهم محصولات انباری هستند که به منظور کنترل آن‌ها، به طور معمول از حشره‌کش‌های شیمیایی استفاده می‌شود. استفاده بی‌رویه از حشره‌کش‌ها، مشکلات جدی زیست‌محیطی و همچنین عوارض مزمنی روی سلامت انسان ایجاد می‌کند، بنابراین با انتخاب الگوی صحیح و به کارگیری روش‌های مناسب می‌توان میزان مصرف حشره‌کش را بهینه کرد. در این پژوهش از روش سطح پاسخ به منظور تعیین نقاط بهینه مصرف حشره‌کش کلرپایریفوس، جهت دستیابی به بیشینه مرگ و میر با کمترین دز مصرفی استفاده شد و تاثیر دما (۲۵-۳۵ درجه سلسیوس)، رطوبت (۶۰-۸۰٪) و دز مصرف (۱۴۰۰-۲۰۰۰ میکرولیتر) بر میزان مرگ و میر لارو سن پنجم سه آفت مهم انباری مورد ارزیابی قرار گرفت. آزمایش‌ها بر اساس طرح مرکب مرکزی، انجام شد. بیشینه مرگ و میر با این روش، ۷/۹ عدد لارو سن پنج شب‌پره هندی در شرایط دمایی ۳۵ درجه سلسیوس، رطوبت ۸۰٪ و دز ۱۴۰۰ میکرولیتر حشره‌کش در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب، ۷/۱ عدد لارو شب‌پره مدیترانه‌ای در دمای ۳۵ درجه سلسیوس، رطوبت ۷۵٪ و دز ۱۴۰۰ میکرولیتر حشره‌کش در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب و برای شب‌پره موم‌خوار بزرگ ۷/۹ عدد لارو سن پنج در دمای ۳۵ درجه سلسیوس، رطوبت ۸۰٪ و دز مصرفی ۱۵۰۰ میکرولیتر حشره‌کش در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر تعیین شد. نتایج آزمایش بیانگر تاثیر خطی و درجه دوم معنی‌دار دز مصرفی و درجه حرارت روی مرگ و میر لارو سن پنج این سه آفت است.

**واژه‌های کلیدی:** آفات انباری، روش سطح پاسخ، کلرپایریفوس، بهینه‌سازی

## مقدمه

آمار و ارقام سازمان‌های رسمی بین‌المللی نشان دهنده‌ی این است که هر ساله مقدار قابل توجهی از تولیدات کشاورزی جهان به وسیله آفات در انبارها از بین می‌روند. در کشورهایی که فناوری پیشرفته انبارداری ندارند، خسارت آفات انباری در برخی از مناطق به ۱۰ تا ۴۰ درصد محصول می‌رسد. محصولات کشاورزی انباری توسط گونه‌هایی از قاب‌بالان، بال‌پولک‌داران و کنه‌ها دست‌خوش خسارت‌های کمی و کیفی فراوان می‌شوند. به دلیل آلودگی محصولات غذایی به این آفات و نگرانی دولت‌ها برای تامین غذای کافی، یافتن روش‌های کنترل مناسب برای از بین بردن آن‌ها از موضوع‌های اصلی جوامع علمی قرار گرفته است (Rajendran and Sriranjini, 2008). در بین آفات انباری، بال‌پولک‌داران جنس‌های *Ephestia*، *Plodia* و *Galleria* از خانواده Pyralidae دارای اهمیت هستند. این آفات در مناطق مختلف جهان، به ویژه مناطق حاره‌ای آسیا، آفریقا و آمریکا پراکنش دارند و از بیش از ۲۰ نوع از انواع مغزها و میوه‌های خشک تغذیه می‌کنند. در شرایط اکولوژیک بهینه، با زادآوری زیاد و تولید نسل‌های پی‌پی می‌توانند در مدت کوتاه، زیان‌های هنگفت به بار آورند (Mohandass et al., 2007). در کنترل آفات انباری، به‌کارگیری حشره‌کش‌های تدخینی به دلیل انتشار و نفوذ آن‌ها به درون توده محصول، در میان روش‌های متعدد مبارزه، مهم‌ترین روش بوده است، اما در چند سال اخیر به‌کارگیری تعداد زیادی از حشره‌کش‌های تدخینی منسوخ شده است. متیل بروماید از جمله حشره‌کش‌های تدخینی می‌باشد که سبب تخریب لایه استراتوسفری ازون شده و توسط سازمان حفاظت محیط‌زیست ایالات متحده آمریکا به‌عنوان دسته اول تخریب‌کننده‌های لایه اوزن طبقه‌بندی شده است (EPA, 2006). استفاده از این ترکیب در بیشتر کشورهای توسعه یافته بر اساس توافق‌نامه بین‌المللی پروتوکل مونترال کنار گذاشته شده است (Mohandass et al., 2007). پس از ممنوعیت متیل بروماید، استفاده از فسفین افزایش یافت، اما عدم توجه به استانداردهای تدخین باعث بروز مقاومت‌های بیشتر در آفات انباری نسبت به این حشره‌کش-

ها شد (Benhalima et al., 2004; Rajendran and Sriranjini, 2008)، به طوری که گزارش‌هایی از کشور-های متعدد در رابطه با شکست فسفین در کنترل آفات انباری به چاپ رسید. از این رو جست‌وجو برای جایگزینی مناسب آفت‌کش‌های تدخینی فوق اجتناب‌ناپذیر است (Rajendran and Sriranjini, 2008). بنابراین، برای مبارزه با این آفات حشره‌کش کلرپایرفوس که از نظر شیمیایی چندان پایدار نبوده و مدت طولانی در طبیعت باقی نمی‌ماند، گزینه مناسبی است. این آفت‌کش دارای خاصیت غیرسیستمیک و اثر تماسی، گوارشی و تنفسی (تدخینی) است (Talebi-Jahromi, 2006). بررسی‌های اخیر نشان داده است که هرچه سطح آگاهی کشاورزان به‌عنوان اصلی-ترین کاربران آفت‌کش‌ها از پیامدهای زیان‌بار سموم بیشتر باشد، از استفاده غیر ضروری آن‌ها بیشتر اجتناب می‌نمایند. پس با آموزش کشاورزان و به منظور استفاده بهینه از سموم در زمان مناسب می‌توان از کاهش کیفیت و کمیت محصولات انباری و عوارض ناشی از مصرف سموم جلوگیری کرد (Heidari and Shirazi, 2010). هدف از بهینه‌سازی، به‌کارگیری روش‌های مناسب در مصرف حشره‌کش است که علاوه بر اینکه متضمن اثر بخشی حشره-کش باشد، کاهش مصرف آن را نیز در پی داشته باشد (Shabani nejad et al., 2016). با استفاده از روش سطح پاسخ، شرایط بهینه استفاده از حشره‌کش دلتامترین برای از بین بردن ۷/۶ عدد لارو سن پنج شب‌پره موم خوار بزرگ در دمای ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت ۷۰٪ و دز ۲۰۰ میکرولیتر در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب تعیین شد (Shabani nejad et al., 2016). تاکنون گزارشی مستند مبنی بر استفاده از حشره‌کش کلرپایرفوس برای کنترل شب‌پره هندی (*Plodia interpunctella* Hubner (Lepidoptera: Pyralidae))، شب‌پره مدیترانه‌ای آرد (*Anagasta kuhniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae)) و شب‌پره موم خوار بزرگ (*Galleria mellonella* Linnaeus (Lepidoptera: Pyralidae)) ارائه نشده است. با توجه به عدم وجود پژوهش مستقل در این زمینه، شناخت عوامل موثر و تعیین شرایط بهینه مصرف

شدند. در این پژوهش از لاروهای سن آخر استفاده شد. شاخص شناسایی لاروهای سن پنج برای شب‌پره مدیترانه‌ای آرد و شب‌پره موم‌خوار بزرگ، اندازه‌گیری طول بدن و عرض کپسول سر بود. برای شناسایی لارو سن پنج شب‌پره هندی نیز از طول بدن و عرض کپسول سر استفاده شد به علاوه لاروهای سن آخر این آفت در نیمه دوم زندگی خود تغذیه نداشته و زمین‌گرایی منفی پیدا می‌کنند. بنابراین از غذا خارج شده و به دنبال مکان مناسب برای تبدیل شدن به شفیره می‌گردند (Mohandass et al., 2007; Shabani, 2016).

### آزمایش‌های زیست‌سنجی

برای تهیه محلول‌های سمی با غلظت‌های مشخص از فرمولاسیون تجاری حشره‌کش کلرپایریفوس (Chlorpyrifos 40.8% EC) شرکت آریا شیمی استفاده شد. آلوده‌سازی لاروهای سن پنج با روش غوطه‌ور سازی به مدت ۱۰ ثانیه صورت پذیرفت. آزمایش‌های زیست‌سنجی برای تعیین غلظت‌های کشنده که تلفات ۲۰٪ تا ۸۰٪ را ایجاد می‌کردند، انجام شد. مقادیر غلظت‌های استفاده شده حشره‌کش شامل ۱، ۱/۵، ۲ و ۳ پی‌پی‌ام بود. برای هر غلظت ۴ تکرار استفاده شده و هر تکرار شامل ۱۰ عدد لارو همسن بود. غلظت‌های ۱/۴ و ۲ پی‌پی‌ام به ترتیب به عنوان LC<sub>25</sub> و LC<sub>75</sub> برای شب‌پره هندی، غلظت‌های ۱ و ۲ پی‌پی‌ام به ترتیب به عنوان LC<sub>25</sub> و LC<sub>75</sub> برای شب‌پره مدیترانه‌ای آرد و ۱/۵ و ۲/۲ پی‌پی‌ام به عنوان LC<sub>25</sub> و LC<sub>75</sub> برای شب‌پره موم‌خوار بزرگ مشخص شدند. دمای لازم برای رشد و نمو این سه آفت بین ۲۰ تا ۳۲ درجه سلسیوس متغیر و رطوبت بین ۶۰ تا ۸۰ درصد در نظر گرفته شد (Basirat and Mehrnejad, 2005; Annand, 2007).

### طراحی و اجرای آزمایش و تجزیه و تحلیل آماری

سطح پاسخ، مجموعه‌ای از تکنیک‌های آماری است که در بهینه‌سازی فرآیندهایی به کار می‌رود که پاسخ مورد نظر توسط تعدادی از متغیرها تحت تاثیر قرار می‌گیرد. شمای گرافیکی مدل ریاضی سبب تعریف واژه روش سطح پاسخ است. با کمک این طرح آماری، تعداد آزمایش‌ها کاهش یافته و تمام ضرایب مدل و رگرسیون درجه دوم و اثر متقابل

حشره‌کش، یک ضرورت به نظر می‌رسد. بنابراین هدف از پژوهش حاضر، بررسی تاثیر عوامل دما، رطوبت و دز مصرفی حشره‌کش کلرپایریفوس بر میزان تلفات لارو سن پنج شب‌پره هندی، شب‌پره مدیترانه‌ای آرد و شب‌پره موم‌خوار بزرگ است که برای این منظور از روش سطح پاسخ برای تعیین ترکیب بهینه متغیرها استفاده شد.

### مواد و روش‌ها

#### پرورش حشرات

در آذرماه ۱۳۹۳ شب‌پره هندی و شب‌پره مدیترانه‌ای آرد از انسکتاریوم دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود تهیه شدند. شب‌پره هندی روی جیره غذایی مصنوعی طبق روش سیت و همکاران (Sait et al., 1997) پرورش داده شد. ترکیبات غذایی مصنوعی شامل: مخمر ۱۶۰ گرم، گلیسرول ۲۰۰ میلی‌لیتر، عسل ۲۰۰ میلی‌لیتر و سبوس گندم ۸۰۰ گرم بود. شب‌پره مدیترانه‌ای آرد هم روی جیره غذایی مصنوعی با ترکیبات آرد گندم ۴۵٪ (وزنی)، آرد ذرت ۴۵٪ (وزنی) و مخمر ۱۰٪ (وزنی) پرورش داده شد (Yazdani, 2000). موم‌های آلوده به لارو و شفیره شب‌پره موم‌خوار بزرگ در دی ماه ۱۳۹۳ از زنبورداری‌های اطراف شاهرود به عنوان کلنی اولیه جمع‌آوری و به منظور تکثیر در ظرف پلاستیکی مکعب مانند حاوی موم قرار داده شدند. پرورش انبوه این سه آفت در اتاقک رشد با دمای ۲۷±۱°C و رطوبت نسبی ۶۵±۱ درصد و دوره نوری ۱۶:۸ ساعت (تاریکی:روشنایی) انجام شد.

#### هم‌سن‌سازی لاروها

برای تخم‌گیری از شب‌پره هندی و شب‌پره مدیترانه‌ای آرد از قیف استفاده شد. به این صورت که دهانه گشاد قیف با پارچه توری پوشانده شد و حشرات کامل از لوله قیف وارد شدند. دهانه قیف با پنبه مسدود شد، سپس ظروف تخم‌گیری روی صفحات کاغذ سیاه رنگی قرار داده شدند. هر ۴۸ ساعت تخم‌های گذاشته شده جمع‌آوری و به ظروف پرورش جداگانه منتقل شدند. دسته‌های متعدد تخم گذاشته شده به وسیله حشرات کامل شب‌پره موم‌خوار بزرگ با قلم مو برداشته شد و درون ظروف جداگانه حاوی موم نگه‌داری

مورد ارزیابی قرار گرفت که در جدول ۱ برای شب‌پره هندی و شب‌پره مدیترانه‌ای آرد و جدول ۲ برای شب‌پره موم خوار بزرگ نشان داده شده است.

عوامل، قابل برآورد هستند. مهم‌ترین مسئله این پژوهش بررسی آثار اصلی و متقابل عوامل مورد بررسی بود، از این رو طرح آماری سطح پاسخ انتخاب شد. در این پژوهش اثر متغیرهای مستقل شامل  $X_1$  دما،  $X_2$  رطوبت،  $X_3$  دز مصرفی

جدول ۱- نمایش متغیرهای مستقل فرآیند و مقادیر آن‌ها برای شب‌پره هندی *Plodia interpunctella* و شب‌پره مدیترانه‌ای آرد

#### *Anagasta kuehniella*

Table 1. Independent variable of process and their values for Indian meal moth, *Plodia interpunctella* and Mediterranean flour moth, *Anagasta kuehniella*

Independent variable	Mathematical symbol	Code and the relevant		
		-1	0	+1
Temperature (° C)	$X_1$	25	30	35
Humidity (%)	$X_2$	60	70	80
Dosage (microliter)	$X_3$	1400	1700	2000

جدول ۲- نمایش متغیرهای مستقل فرآیند و مقادیر آن‌ها برای شب‌پره موم خوار بزرگ *Galleria mellonella*

Table 2. Independent variable of process and their values for Greater wax moth *Galleria mellonella*

Independent variable	Mathematical symbol	Code and the relevant		
		-1	0	+1
Temperature (° C)	$X_1$	25	30	35
Humidity (%)	$X_2$	60	70	80
Dosage (microliter)	$X_3$	1500	350	2000

در این تحقیق از طرح کامپوزیت مرکزی با سه متغیر مستقل شامل دما، رطوبت، دز مصرفی، و شش تکرار در نقطه مرکزی طرح (برای محاسبه تکرار پذیری فرآیند) به منظور بررسی افزایش تلفات استفاده شد. در جدول ۳ تعداد و الگوی انجام آزمایش‌ها برای شب‌پره هندی و شب‌پره مدیترانه‌ای آرد و در جدول ۴ برای شب‌پره موم خوار بزرگ نشان داده شده است. برای هر آزمایش تعداد ۱۰ عدد لارو سن آخر به صورت تصادفی انتخاب شد و سپس ۱۰ ظرف پتری استریل که حاوی غذای مصنوعی برای تغذیه آفات آماده شد و لاروها به مدت ۱۰ ثانیه در محلول‌های حشره-کش غوطه‌ور و سپس در ظروف قرار گرفتند. در نهایت تمام ظروف به اتاقک رشد انتقال داده شدند و پس از ۲۴ ساعت میزان تلفات این آفات شمارش و ثبت شد. برای

طرح آزمایشی گزینش شده و رابطه مدل مورد استفاده برای پیش‌بینی، برازش شده و مورد ارزیابی قرار گرفت. در روش سطح پاسخ بر اساس نتایج حاصل از آزمایش برای هر متغیر، مدلی تعریف می‌شود که آثار اصلی و متقابل عوامل را روی هر متغیر جداگانه بیان می‌نماید، شکل کلی مدل به صورت معادله ۱ می‌باشد:

$$Y = B_0 + B_1 X_1 + B_2 X_2 + B_3 X_3 + B_{11} X_{12} + B_{22} X_{22} + (1) B_{33} X_{32} + B_{12} X_1 X_2 + B_{13} X_1 X_3 + B_{23} X_2 X_3$$

Y پاسخ پیش‌بینی شده،  $B_0$  ضریب ثابت،  $B_1$ ،  $B_2$ ،  $B_3$  اثرات خطی،  $B_{11}$ ،  $B_{22}$ ،  $B_{33}$  اثرات مربعی و  $B_{12}$ ،  $B_{13}$ ،  $B_{23}$  اثرات متقابل می‌باشند. از نرم افزار Design Expert 7.0.0 برای تجزیه و تحلیل اطلاعات و رسم نمودارهای مربوط به روش سطح پاسخ استفاده شد.

تجزیه و تحلیل داده‌های حاصل از آزمایش‌های زیست-سنجی و تعیین LC<sub>50</sub>، از روش پروبیت و نرم‌افزار پولو پی-سی (LeOra Software, 1987) استفاده شد.

مرحله آخر شامل ارائه گرافیکی رابطه‌ی مدل و تعیین شرایط عملیاتی بهینه بود که به وسیله نمودار سطح پاسخ و کانتور انجام پذیرفت.

جدول ۳- نمایش الگوی انجام آزمایش‌ها برای شب‌پره هندی *Plodia interpunctella* و شب‌پره مدیترانه‌ای آرد

*Anagasta kuehniella*

Table 3. The pattern of tests for Indian meal moth, *Plodia interpunctella* and Mediterranean flour moth, *Anagasta kuehniella*

Temperature	Humidity	Dosage	Temperature	Humidity	Dosage
35	80	1700	35	70	2000
25	80	1700	38	75	1400
30	75	2000	30	75	1700
30	75	1195	30	75	1400
25	70	1700	22	75	1700
35	80	1700	30	75	1700
25	70	2000	30	83	1700
30	67	2205	25	80	2000
30	75	1400	30	75	1700
30	75	1700	35	70	1400

جدول ۴- نمایش الگوی انجام آزمایش‌ها برای شب‌پره موم‌خوار بزرگ *Galleria mellonella*

Table 4. The pattern of tests for Greater wax moth *Galleria mellonella*

Temperature	Humidity	Dosage	Temperature	Humidity	Dosage
35	80	1750	35	70	1750
25	80	1500	38	75	1500
30	75	1750	30	75	1335
30	75	1750	30	75	1750
25	70	2000	22	75	2000
35	80	1500	30	75	1750
25	70	2000	30	83	1750
30	67	1750	25	80	2170
30	75	2000	30	75	1750
30	75	1750	35	70	1500

## نتایج و بحث

نتایج زیست‌سنجی لاورهای سه آفت انباری در جدول ۵ ارائه شده است.

### گزینش مدل مناسب و تجزیه مدل برازش یافته

به طور متداول، برای بررسی صحت مدل از آزمون عدم برازش  $R^2$  adjusted و ضریب تبیین  $R^2$  استفاده می‌شود. معنی‌دار بودن آزمون عدم برازش برای یک مدل بیانگر این است که نقاط به خوبی اطراف مدل قرار نگرفته‌اند و نمی‌توان از مدل برای پیش‌گویی مقادیر متغیرهای تابع استفاده کرد. بنابراین با عدم معنی‌داری آزمون عدم برازش، می‌توان دریافت که مدل به خوبی می‌تواند بر داده‌های مورد بررسی برازش شود. مطابق جدول‌های ۶، ۷ و ۸ آزمون عدم برازش معنی‌دار نیست که بیانگر این است که مدل به خوبی روند داده‌ها را نشان می‌دهد. از طرفی  $R^2$  adjusted نیز به منظور اطمینان از این مسئله که مدل می‌تواند به خوبی جواب‌ها را تخمین بزند، محاسبه شد و همچنین ضریب تبیین ( $R^2$ ) نیز به عنوان نسبت تغییرات توصیف شده توسط مدل به تغییرات کل بیان می‌شود که معیاری از درجه تناسب برازش می‌باشد. بنابراین هرچه  $R^2$  به یک نزدیک باشد، قدرت مدل برازش یافته در توصیف تغییرات پاسخ به عنوان تابعی از متغیرهای مستقل بیشتر می‌باشد (Baldini et al., 2004). مطابق جدول‌های ۶، ۷ و ۸ برای عامل مرگ و میر لارو سن پنج سه آفت مذکور، مدل درجه دوم از نظر آماری معنی‌دار ( $P \leq 0.001$ ) و همچنین مقدار بالای  $R^2$  و متناسب بودن  $R^2$  adjusted بیانگر قدرت بالای مدل در پیش‌بینی می‌باشد.

### تأثیر متغیرهای مستقل بر پاسخ‌ها

همان‌طور که در جدول ۶ و ۷ و ۸ مشاهده می‌شود، جمله خطی و درجه دوم دز مصرفی و دما معنی‌دار است. عبارات مربوط به برهم‌کنش‌ها معنی‌دار نبودند و از مدل حذف شدند، به عبارت دیگر هیچ‌گونه برهم‌کنشی میان متغیرهای مستقل وجود نداشت.

تأثیر دز مصرفی بر میزان تلفات لارو سن پنج این سه آفت بدون لحاظ نمودن تغییرات سایر متغیرها، به صورت خطی و درجه دوم بود که با افزایش تدریجی دز مصرفی، میزان تلفات افزایش یافت. وجود انحنای در شکل به دلیل معنی‌داری جمله درجه دوم دما است. در شکل ۱ اثر هم‌زمان دز مصرفی و رطوبت بر میزان تلفات این سه آفت نشان داده شده است. افزایش تلفات با افزایش غلظت به این دلیل است که حشره‌کش کلرپایریفوس عضو خانواده‌ی حشره‌کش‌های فسفره است و حشره‌کش‌های فسفره شباهت ساختمانی با سوبسترای طبیعی کولین‌استراز یعنی استیل‌کولین دارند و این آنزیم را مهار کرده و باعث می‌شوند که نتواند شیار عصبی را از وجود استیل‌کولین پاک کند و بنابراین عمل مخا‌بره پیام مختل می‌شود. در نتیجه ماهیچه‌های مربوط منقبض شده که در نهایت به فلج و مرگ منتهی می‌شود (Marshall Clark and Simington, 2011). نتایج پژوهش شعبانی‌نژاد و همکاران (Shabani nejad et al., 2016) بیانگر افزایش تلفات شب‌پره موم خوار بزرگ با افزایش تدریجی دز مصرفی حشره‌کش دلتامترین بود. از طرفی پژوهش‌های خسروی و همکاران (Khosravi et al., 2008)، مجاور و همکاران (Mojaver et al., 2013) و صالحی‌بابرصاد و همکاران (Salehi Babarsad et al., 2012) بیانگر این موضوع است که با افزایش میزان غلظت حشره‌کش‌های پایریپروکسی‌فن، دیفلوبنزورون، دلتامترین و ایمیداکلوپرید، کارایی آن‌ها به ترتیب در کنترل شب‌پره موم خوار بزرگ، سن‌گندم *Eurygaster integriceps* Puton و موریانه *Silvestri. Microcerotermes diversus* بیشتر می‌شود. همچنین نتایج پژوهش حسینی‌نوه و همکاران (Hosseini Naveh et al., 2002) بازگوکننده‌ی این مسئله بود که با افزایش میزان غلظت حشره‌کش پایریپروکسی‌فن در جیره غذایی شب‌پره هندی و شب‌پره مدیترانه‌ای آرد میزان تلفات این آفت بیشتر می‌شود.

3. Lack of fitness

4. Coefficient of determination

جدول ۵- سمیت حشره کش کلرپایریفوس روی لارو سن پنجم شب پره هندی *Plodia interpunctella*، شب پره مدیترانه‌ای آرد *Galleria mellonella* و شب پره موم خوار بزرگ *Anagasta kuehniella*

Table 5. Toxicity of chlorpyrifos on fifth instar larvae of Indian meal moth, *Plodia interpunctella*, Mediterranean Flour moth, *Anagasta kuehniella* and Greater wax moth, *Galleria mellonella*

Pest	Numbers	Slope $\pm$ SE	$\chi^2$ (df)	Lethal concentration (ppm)	
				LC <sub>50</sub> (90% FL)	LC <sub>90</sub> (90% FL)
<i>Plodia interpunctella</i>	160	6.28 $\pm$ 0.83	2	1.58-1.84	1.84-2.45
<i>Anagasta kuehniella</i>	160	6.66 $\pm$ 0.87	2	1.31-2.04	2.05-4.83
<i>Galleria mellonella</i>	160	6.90 $\pm$ 0.91	2	1.25-2.19	1.98-6.4

جدول ۶- نتایج جدول تجزیه واریانس شب پره هندی *Plodia interpunctella* (ANOVA) پاسخ برای مدل درجه دوم

Table 6. ANOVA of Indian meal moth *Plodia interpunctella* for Response Surface Quadratic Model

Source	Sum of Squares	Df	MeanSquare	F Value	p-value	
Model	33.64	9	3.74	28.59	0.0001	Significant
A-temperature	10.62	1	10.62	81.26	0.0001	
B-humidity	0.53	1	0.53	4.03	0.0725	
C-dosage	14.44	1	14.44	110.95	0.0001	
AB	0.13	1	0.13	0.96	0.3512	
AC	1.12	1	1.12	8.61	0.0650	
BC	0.12	1	0.12	0.81	0.3512	
A <sup>2</sup>	3.64	1	3.64	27.84	0.0004	
B <sup>2</sup>	0.32	1	0.32	2.45	0.1488	
C <sup>2</sup>	3.64	1	3.64	27.84	0.0004	
Lack of Fit	0.47	5	0.19	0.095	0.7246	Not significant
Residual	1.31	10	0.13			
Adj R-squared	0.89					
R-squared	0.91					

جدول ۷- نتایج تجزیه واریانس شب‌پره مدیترانه‌ای *Anagasta kuehniella* (ANOVA) پاسخ برای مدل درجه دوم

Table 7. ANOVA of Mediterranean flour moth *Anagasta kuehniella* for Response Surface Quadratic Model

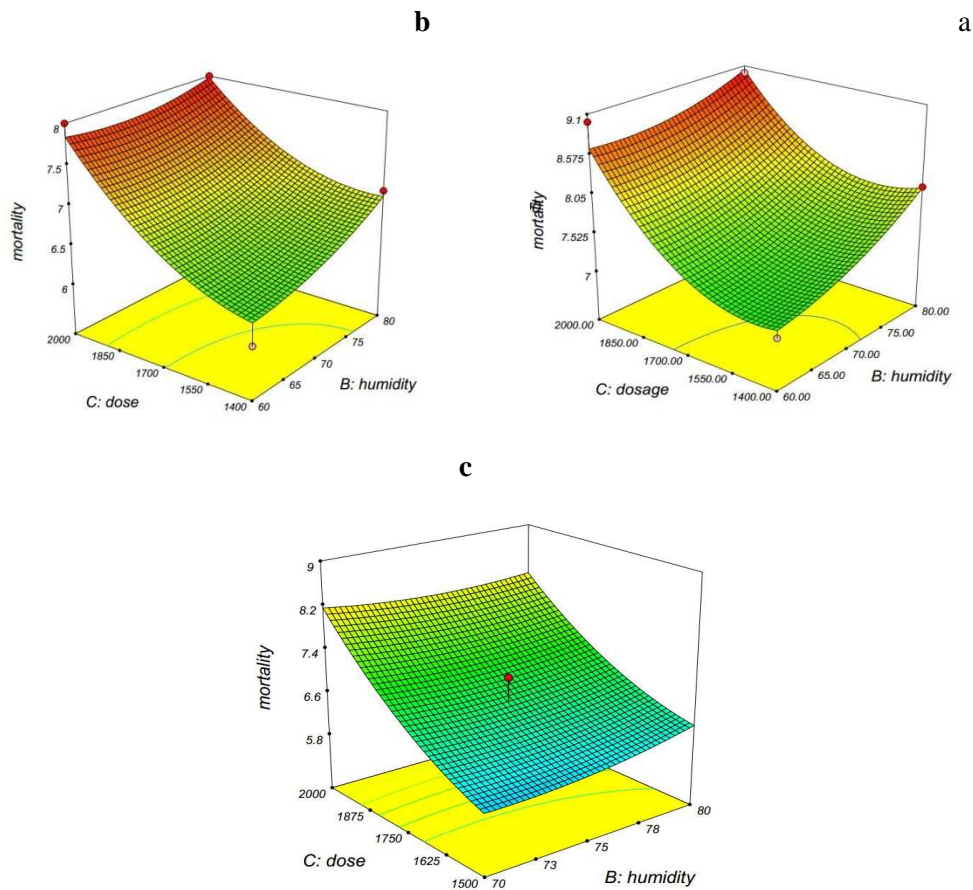
Source	Sum of Squares	Df	MeanSquare	F Value	p-value	
Model	28.86	9	3.21	18.96	0.0001	Significant
A-temperature	10.62	1	10.62	62.82	0.0001	
B-humidity	0.073	1	0.073	0.43	0.5254	
C-dosage	14.44	1	14.44	85.42	0.0001	
AB	0.13	1	0.13	0.74	0.4101	
AC	1.12	1	1.12	6.65	0.0675	
BC	0.12	1	0.12	0.74	0.4101	
A <sup>2</sup>	1.25	1	1.25	7.41	0.0215	
B <sup>2</sup>	0.20	1	0.20	1.19	0.3011	
C <sup>2</sup>	1.25	1	1.25	7.41	0.0215	
Lack of Fit	0.36	5	0.072	0.27	0.9124	Not significant
Residual	1.69	10	0.17			
Adj R-squared	0.88					
R-squared	0.92					

جدول ۸- نتایج جدول تجزیه واریانس شب‌پره موم‌خوار بزرگ *Galleria mellonella* (ANOVA) پاسخ برای مدل درجه دوم

Table 8. ANOVA for Greater Wax moth *Galleria mellonella* Response Surface Quadratic Model

Source	Sum of Squares	Df	MeanSquare	F Value	p-value	
Model	31.23	9	3.21	17.26	0.0012	Significant
A-temperature	12.43	1	12.43	53.82	0.0001	
B-humidity	0.032	1	0.032	0.54	0.6434	
C-dosage	15.31	1	15.31	81.63	0.0001	
AB	0.23	1	0.23	0.81	0.4101	
AC	1.13	1	1.13	6.43	0.0653	
BC	0.13	1	0.13	0.55	0.4301	
A <sup>2</sup>	1.13	1	1.13	7.33	0.0332	
B <sup>2</sup>	0.20	1	0.20	1.19	0.4040	
C <sup>2</sup>	1.14	1	1.14	7.33	0.0221	
Lack of Fit	0.32	5	0.071	0.26	0.8710	Not significant
Residual	1.69	10	0.16			
Adj R-squared	0.89					
R-squared	0.92					





شکل ۱- اثر هم‌زمان دز مصرفی و رطوبت به ترتیب روی مرگ و میر *a- Plodia interpunctella*، *b- Anagasta*

*kuehniella*، *c- Galleria mellonella* تیمار شده با کلرپایریفوس

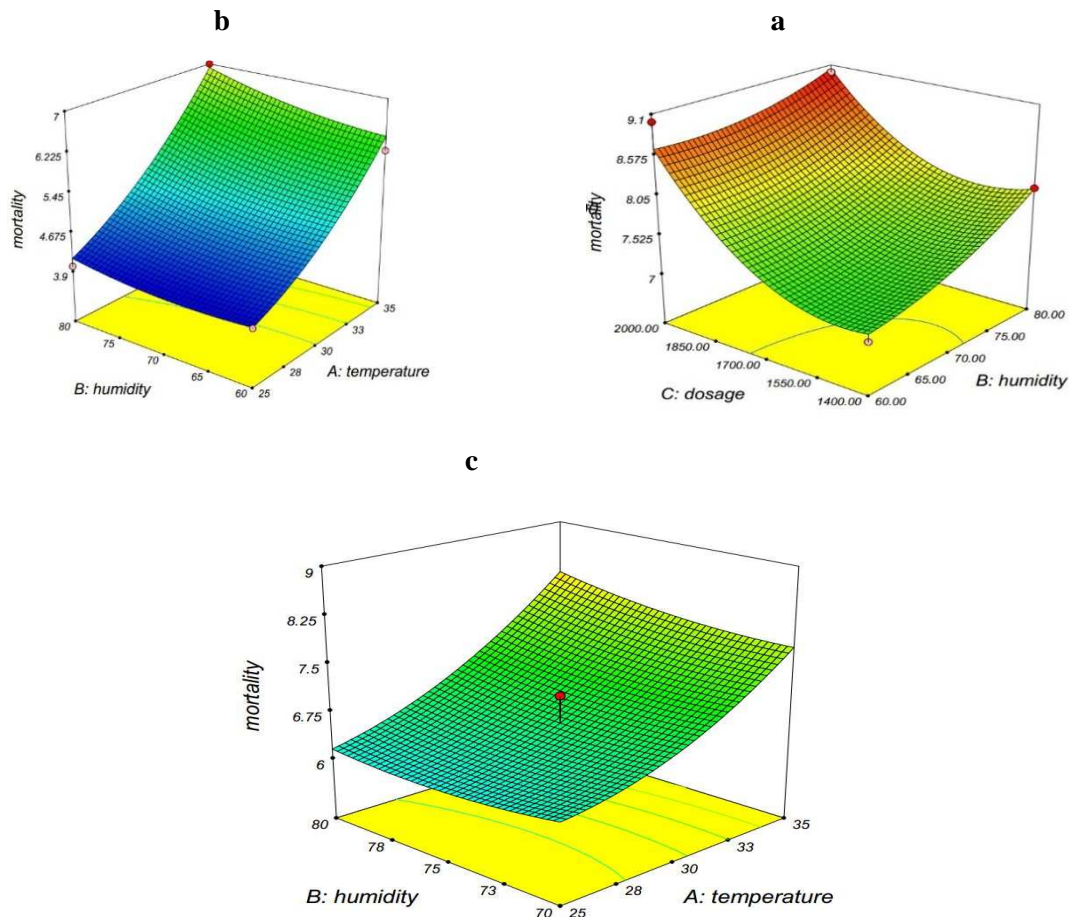
Figure 1. The effects of humidity and dosage on mortality of a- *Plodia interpunctella*, b- *Anagasta kuehniella*, c- *Galleria mellonella* treated with chlorpyrifos

در خاک بر ریز موجودات بیشتر شده است. همچنین پژوهش ونکاتسوارا و همکاران ( Venkateswara *et al.*, 2005) روی موربانه *Odontotermes obesus* R. نشان داد که با افزایش دما، میزان اثرگذاری حشره‌کش کلرپایریفوس بیشتر شده که با نتایج حاصل از این پژوهش هماهنگی دارد. لازم به ذکر است بررسی اثر رطوبت بر میزان تلفات لارو سن پنج شب‌پره موم‌خوار بزرگ، بیانگر عدم تاثیر این عامل روی تلفات بود. این نتیجه با نتایج حاصل از پژوهش میرحسینی و همکاران ( Mirhosseini *et al.*, 2015) مبتنی بر عدم تاثیر عامل رطوبت بر مرگ و میر شفیره‌های نژادهای مختلف کرم ابریشم *Bombyx mori* L. در فصول مختلف و عدم معنی‌داری عامل رطوبت نسبی

اثر هم‌زمان دما و رطوبت بر میزان مرگ و میر در شکل ۲ نشان داده شده است. وجود انحنا در شکل به دلیل معنی‌داری جمله درجه دوم دما است. بر این اساس، با افزایش دما میزان مرگ و میر این آفات افزایش یافت. احتمالاً علت این پدیده این است که بر اساس قانون هوف به ازای ده درجه افزایش دمای محیط، سرعت واکنش شیمیایی دو برابر می‌شود، اما از طرفی بالا رفتن زیاد دما باعث اثر منفی روی آنزیم‌ها شده و آن‌ها را غیرفعال می‌کند که در نهایت باعث مرگ حشره می‌شود (Talebi - Jahromi, 2006). پژوهش‌های هیندوماتی و گایاتری ( Hindumathy and Gayathri, 2011) بیان‌کننده‌ی این موضوع است که با افزایش دمای محیط، میزان تاثیر حشره‌کش کلرپایریفوس

خطی مربوط به عامل دما و دز مصرفی در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. آثار متقابل عوامل هم بر مرگ و میر معنی‌دار نبودند.

بر میزان فعالیت *Sitotroga cerealella* O. در شرایط آزمایشگاهی هماهنگی داشت (Akter, 2013). در مورد اثرات خطی برای عوامل مورد بررسی، ضریب رگرسیون



شکل ۲- اثر هم‌زمان دما و رطوبت به ترتیب روی مرگ و میر *Plodia interpunctella* -a، *Anagasta kuehniella* -b، *Galleria mellonella* -c تیمار شده با کلرپایریفوس

Figure 2. The effects of humidity and temperature on mortality of a- *Plodia interpunctella*, b- *Anagasta kuehniella*, c- *Galleria mellonell* treated with chlorpyrifos

$$Y = 31.23 + 0.54X_1 + 2.433X_3 + 0.71X_{11} + 3.231X_{33} \quad (4)$$

شرایط عملیاتی بهینه برای بیشترین مرگ و میر لارو سن پنج شب‌پره هندی، شب‌پره مدیترانه‌ای آرد و شب‌پره موم خوار بزرگ با استفاده از تکنیک بهینه‌سازی عددی حاصل شد (Joglekar and May, 1987). در روش مذکور، فضای

با به کارگیری روش آماری سطح پاسخ، معادله اخیر که نشان‌دهنده ارتباط تجربی متغیرهای آزمایش و میزان مرگ و میر به ترتیب برای شب‌پره هندی و شب‌پره مدیترانه‌ای آرد کد گذاری شده است، به دست آمد:

$$Y = 33.64 + 0.38X_1 + 4.100X_3 + 0.29X_{11} + 0.12X_{33} \quad (2)$$

$$Y = 28.86 + .088X_1 + 1.03X_3 + 0.011X_{11} + 4.700X_{33} \quad (3)$$

روش سطح پاسخ با به کارگیری طرح مرکب مرکزی، به منظور بررسی اثرات متغیرهای دما، رطوبت و دز مصرفی، بر میزان مرگ و میر لارو سن پنج شب پره هندی و شب پره مدیترانه‌ای آرد شب پره موم خوار بزرگ و بهینه‌سازی مصرف با هدف بیشینه کردن تلفات و کمینه کردن میزان دز مصرفی به کار برده شد. نتایج حاصل از پژوهش، بیانگر کارایی بالای این روش در بهینه‌سازی مصرف حشره کش کلرپایریفوس بود. از میان شرایطی که بر مرگ و میر اعمال شد، مشخص شد که افزایش مرگ و میر از رابطه مستقیم و درجه دوم دز مصرفی و دما تاثیر می‌پذیرد، به طوری که افزایش دز مصرفی و دما افزایش مرگ و میر را در پی دارد. مطلوب‌ترین شرایط برای استفاده از این حشره کش‌ها، دمای بالا است. این پژوهش به منظور دستیابی به شرایط موثر روی افزایش مرگ و میر برای اولین بار انجام شد. با این حال انجام پژوهش‌های بیشتر در این رابطه ضروری به نظر می‌رسد. از نتایج به دست آمده چنین می‌توان استنتاج نمود که کاهش دز مصرفی و به عبارتی بهینه‌سازی مصرف سم، با توجه به هزینه‌ی بالای سم پاشی و خطرات ناشی از مصرف سموم روی انسان و محیط زیست، بسیار کاربردی و منطقی خواهد بود.

### سپاسگزاری

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه نگارنده اول است که در دانشگاه صنعتی شاهرود انجام شده است. بدینوسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه صنعتی شاهرود به خاطر حمایت مالی و در اختیار گذاشتن امکانات آزمایشگاهی تشکر و سپاسگزاری می‌شود.

پاسخ با استفاده از مدل‌های ایجاد شده و به منظور یافتن بهترین شرایطی که اهداف بهینه سازی مورد نظر را برآورد کند، جست و جو شد. بدین منظور، ابتدا اهداف بهینه‌سازی را مشخص کرده و سپس سطوح پاسخ متغیرهای مستقل را تنظیم و با استفاده از تکنیک فاین تیونینگ، بهترین پاسخ به دست آمد (Atkinson and Donev, 1992; Myers and Montgomery, 2002). تنظیمات اعمال شده بر فرآیند بهینه سازی، شامل دز مصرفی کمینه و مرگ و میر بیشینه بود. نتایج فرآیند بهینه‌سازی نشان داد که شرایط بهینه استفاده از حشره کش کلرپایریفوس برای لارو سن پنج شب پره هندی به ترتیب دمای ۳۵ درجه سلسیوس، رطوبت ۸۰٪ و دز ۱۴۰۰ میکرولیتر در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب و برای ۷/۱ عدد لارو شب پره مدیترانه‌ای، دمای ۳۵ درجه سلسیوس، رطوبت ۷۵٪ و دز ۱۴۰۰ میکرولیتر در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب و برای شب پره موم خوار بزرگ، ۷/۹ عدد لارو سن پنج به ترتیب دمای ۳۵ درجه سلسیوس، رطوبت ۸۰٪ و دز مصرفی ۱۵۰۰ میکرولیتر در ۱۰۰۰ میلی‌لیتر تعیین شد. علاوه بر دز مصرفی، عوامل شیمیایی و محیطی از جمله مهم‌ترین عوامل موثر بر کارایی آفت کش‌ها هستند که باید تاثیر هر کدام از این عوامل بر کارایی و همچنین شرایط بهینه استفاده از هر کدام از این عوامل مشخص شود (SalehZadeh, 2006). در این پژوهش، تنها اثر دز مصرفی و عوامل محیطی بر افزایش کارایی حشره کش کلرپایریفوس برای کنترل لارو سن پنجم شب پره هندی، شب پره مدیترانه‌ای آرد و شب پره موم خوار بزرگ بررسی و شرایط بهینه هر کدام از این عوامل ارزیابی شد، در حالی که به بررسی عوامل دیگر پرداخته نشد. ثابت شده است که تغییرات اسیدیته محیط در کارایی بهینه سموم موثر است. چنانکه دیر و بیرد (Deer and Beard, 2001) مشخص کردند که حشره کش کلرپایریفوس در شرایط اسیدی پایداری و اثربخشی تر است. از طرفی، ژی و همکاران (Zhi *et al.*, 2015) pH بهینه استفاده از این حشره کش را در زمان استفاده، بین ۵/۵ تا ۶ تخمین زدند.

## References

- Annand, N.** 2007. Wax moth in the apiary. **Journal of American Bee** 150(8): 547 – 549.
- Atkinson, A. C. and Donev, A. N.** 1992. Optimum experimental designs. 7<sup>th</sup>ed. 433 pp. Oxford University Press.
- Akter, T.** 2013. Effects of temperature and relative humidity on the Angoumois Grain Moth, *Sitotroga cerealella* (Olivier) on stored rice grain in laboratory condition. **Journal of Agriculture and Crop Sciences** 6(3): 648-653.
- Baldini, M., Danuso, F. and Turi, M.** 2004. Evaluation of new clones of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) for inulin and sugar yield from stalks and tubers. **Journal of Industrial Crops and Products** 19(6): 25 - 40.
- Benhalima, H., Chaudhry M. Q., Mills, K. A. and Price, N.** 2004. Phosphine resistance in stored product insects collected from various grain storage facilities in Morocco. **Journal of Stored Products Research** 40(12): 241-249.
- Basirat, M and Mehrnejad, M.** 2005. Survey the minimum of threshold and thermal necessity of *Apomyelois ceratoniae* and *Plodia interpunctella* moth. **The Letter of Iran Entomologists Society**, 24(3):19-34 (In Farsi).
- Deer, M. and Beard, R.** 2001. Effect of water PH on the Chemical Stability of Pesticides 1<sup>st</sup>ed. Utah State University Publication.
- EPA.** 2006. U.S. Environmental Protection Agency, Ozone Depletion Rules & Regulations. Retrieved 2005. from <http://www.epa.gov/ozone/mbr>.
- Heidari, A. and Shirazi, J.** 2010. The role of farmers awareness on the reduction of the pesticides hazards, Proceedings of the Congress on half a century of the pesticide usage in Iran. Proceedings of 1<sup>st</sup> Iranian Research Institute of Plant Protection Organization, 2 – 3 March. Iran. pp.187.
- Hindumathy, C. K. and Gayathri, V.** 2011. Effect of pesticide (Chlorpyrifos) on soil microbial flora and pesticide degradation by strains isolated from contaminated soil. **Journal of Bioremediation and Biodegradation** 14(5): 187–359.
- Hosseini Naveh, V., Abadian, A. and Bagheri Zenouz, E.** 2002. A study of the Juvenile Hormone Analogue, Pyriproxyfen, on *plodia interpunctella* (h) and *Anagasta Kuehniella* (z). **Iranian Journal of Agriculture** 33(5): 1-9 (In Farsi).
- Joglekar, A. and May, A.** 1987. Product excellence through design of experiments. **Journal of Cereal Foods World** 32(5): 857 - 868.
- Khosravi, M., Ebadi, R., Seyedoleslami, H., Hatami, B. and Talebi-Jahromi, Kh.** 2008. Growth Disturbances and Inhibitory Effect of Pyriproxyfen and Diflubenzuron on the Greater Wax Moth (*Galleria mellonella* L.) under Different Temperatures. **Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, Water and Soil Science** 12(5): 297-311 (In Farsi).
- LeOra Software** 1987. POLO-PC: A users guide to probit or logit analysis. LeOra Software, Berkeley.
- Myers, R. H. and Montgomery, D. C.** 2002. Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments. 2<sup>th</sup>ed. 523pp. Wiley, New York.
- Mirhoseini, S. Z., Mavvajpour, M., Ghanipoor, M. and Seidavi, A.** 2015. Impression of environmental stresses at different rearing seasons and its effects on silkworm *Bombyx mori* L. hybrids performances. **Journal of animal Environment** 7(2): 51-610 (In Farsi).
- Marshall Clark, J. and Simington, S.** 2011. Action of deltamethrin on N-type (Ca v 2.2) voltage-sensitive calcium channels in rat brain. **Journal of Pesticide Biochemistry and Physiology** 82(5): 1-15.
- Mohandass, S., Arthur, F. K., Zhu, K. Y. and Throne, J. E.** 2007. Biology and management of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) in stored products. **Stored Products Research** 43(5): 302 - 311.
- Mojaver, M., Kamangar, M. and Ghazii, M.** 2013. Evaluate the efficiency of insecticide deltamethrin SC 2.5% compared to other chemical insecticides in the control of *Eurygaster integriceps*, **Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources, Water and Soil Science** 17(5): 280-293 (In Farsi).
- Rajendran, S. and Sriranjini, V.** 2008. Plant products as fumigants for stored-product insect control. **Journal of Stored Products Research** 44(2): 126-135.

- Shabani nejad, A. R., Ajamhassani, M. and Tafaghodinia, B.** 2016. Optimization of using pesticide deltamethrin against *Galleria mellonella* L. by response surface method in laboratory conditions. **Journal of Plant Pest Research** 6(2):37-47 (In Farsi).
- Salehi Babarsad, R., Habibpour, B. and Mosadegh, M. S.** 2012. Toxicity of Imidacloprid Baitto *Microcerotermes diversus* Silvestri (Isoptera: Termitidae) under laboratory conditions. **Journal of Plant Protection** 26(2): 1-7 (In Farsi).
- Saleh Zadeh, A.** 2006. Pesticides and How They Work. 4<sup>th</sup>ed. 421pp. Hamedan University of Medical Sciences Publication (In Farsi).
- Sait, S. M., Begon, M., Thompson, D. J., Harvey, J. A. and Hails, R. S.** 1997. Factors affecting host selection in an insect host-parasitoid interactions. **Ecological Entomology** 2(5): 225-230.
- Talebi-Jahromi, K.** 2006 Pesticides toxicology: insecticides, acaricides and rodenticides. 500 pp. Tehran University Publication (In Farsi).
- Venkateswara, R., Parvathi, K., Kavitha, P., Jakka, N. M. and Pallela, R.** 2005. Effect of chlorpyrifos and monocrotophos on locomotor behavior and acetylcholine esterase activity of subterranean termites, *Odontotermes obesus*. **Pest Management Science** 61(5): 417-421.
- Yazdani, M.** 2000. Studying the rate of development and fecundity in the Mediterranean flour moth, *Ephesia kuehniella* Zell. reared on some dried and moisten diets prepared from wheat flour and bran. M.Sc. Thesis. University of Tabriz (In Farsi).
- Zhi, Y. L., Xin, C., Yi, S. and Zhen Cheng, S.** 2015. Bacterial degradation of Chlorpyrifos by *Bacillus cereus*. **Advanced Materials Research** 60(12): 676-680.

## Optimization of using pesticide chlorpyrifos against *Plodia interpunctella*, *Anagasta kuehniella* and *Galleria mellonella* by response surface method under laboratory conditions

A. Shabani nejad<sup>1</sup> and M. Ajam hassani<sup>\*1</sup>

1. Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology, Shahrood

(Received: February 7, 2018- Accepted: June 20, 2018)

### Abstract

The Indian meal moth, *Plodia interpunctella* H., Mediterranean flour moth, *Anagasta kuehniella* Z., and Greater wax moth, *Galleria mellonella* L. are the most important pests of stored products and beehives. Chemical pesticides are commonly used to control them. Inappropriate using of pesticides caused serious environmental problems and also chronic effects on human health. Pest damage can be reduced by the optimum use of these materials. The purpose of optimum use is selection of the correct pattern and applying appropriate methods for use of pesticides. In this study Response Surface Method was used in order to determine optimal points to achieve maximum mortality with minimum concentration. The effect of factors such as temperature (25-35°C), humidity (60-80 %) and the concentration (1400-2000 µL) was evaluated on the mortality of fifth instar larvae of three pests. The experiments were performed according to Central Composite Design. Temperature and dosage had significant effect on mortality of fifth instar larvae of three Pest. The Optimum conditions in minimum dosage to obtain the maximum mortalities were determined 7.9 fifth instar larvae of Indian meal moth are: 35 ° C, humidity 80% and 1400 microliter of chlorpyrifos in the 1000 ml of water and for Mediterranean flour moth 7.1 fifth instar larvae are: 35 ° C, humidity 75% and 1400 microliter in the 1000 ml of water and for Greater Wax Moth are 7.9 fifth instar larvae are: 35 ° C, humidity 80% and 1500 microliter in the 1000 ml of water. Results show leaner and significant effect of concentrations and term on lethal fifth instar larvae of three pests.

**Key words:** Stored pests, Response Surface Method, Chlorpyrifos, Optimization