

دانشکده علوم کشاورزی

گروه گیاه‌پزشکی

(حشره‌شناسی کشاورزی)

بررسی زیست‌شناسی پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* Walker روی میزبان ارجح و تأثیر عصاره گیاه گندواش (Lepidoptera: Pyralidae) روی برخی از پارامترهای زیستی و فیزیولوژیکی آن در شرایط آزمایشگاه

از:

رویا خسروی

استاد راهنما:

دکتر جلال جلالی سندی

استاد مشاور:

دکتر محمد قدمیاری

خرداد ۱۳۸۹

نَقْرِيبُ بِهِ

بِدْرُ وَ مَاوَرُ عَزِيزٍ

تقدیر و تشکر

حال که این رساله به پایان رسیده است، بر خود واجب می‌دانم از همه عزیزانی که در به نتیجه رسیدن آن از هیچ تلاشی مضایقه نکردن تشکر و قدردانی نمایم.

نخست از خانواده عزیز و مهربانم که در تمامی مراحل زندگی همراه همیشگی من بودند بی‌اندازه سپاسگزارم و برایشان بهترین‌ها را آرزومندم. از راهنمایی‌های استاد علم و ادب جناب دکتر جلالی سندی که مرا در تمامی مراحل اجرای این پایان‌نامه همراهی نمودند سپاسگزارم و برای ایشان آرزوی سعادت و توفیق دارم.

از استاد مشاور محترم جناب دکتر قدیماری به خاطر حمایت و راهنمایی‌های علمی‌شان کمال تشکر را دارم. از اساتید گرامی جناب پروفسور صحراء‌گرد و جناب دکتر حاجی زاده که زحمت بازخوانی و داوری این مجموعه را بر عهده داشتند، قدردانی می‌کنم. از حضور سرکار خانم دکتر حسن‌پور نماینده محترم تحصیلات تکمیلی در جلسه دفاع کمال تشکر را دارم. از اساتید گرانقدر جناب دکتر صالحی و جناب دکتر حسینی و سایر اساتید گروه گیاه‌پزشکی که افتخار شاگردیشان را داشتم صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایم. از همراهی و دلگرمی‌های دوست عزیزم سرکار خانم مهندس الهام یزدانی که در مرحله به مرحله این پایان‌نامه حضور داشتند کمال تشکر و قدردانی را دارم. از مسئولین محترم آزمایشگاه، آفایان مهندس رفعتی و مهندس سلیمی، آفایان خاتمی و خشنود تشکر می‌کنم. همچنین از ریاست محترم و کارکنان مرکز تحقیقات کرم ابریشم کشور و ریاست محترم شرکت سهامی کرم ابریشم به خاطر همکاری و مساعدت‌هایشان صمیمانه سپاسگزارم. از تمامی دوستان عزیز و همکلاسی‌هایم تشکر کرده و برایشان آرزوی موفقیت می‌کنم.

روایا خسروی

خرداد ماه یکهزار و سیصد و هشتاد و نه شمسی

ز

چکیده فارسی

س

چکیده انگلیسی

۲

مقدمه

فصل اول: بررسی منابع

۶

۱-۱- درخت توت

۷

۱-۱-۱ گونه *Morus alba*

۷

۱-۲- واریته ایچی نوسه

۸

۱-۳- واریته شین ایچی نوسه

۸

۱-۴- واریته کن موجی

۹

۱-۲-۱ معرفی پروانه برگ خوار توت

۹

۱-۲-۱ رده‌بندی

۹

۲-۲-۱ مناطق انتشار

۱۰

۳-۲-۱ زیست‌شناسی

۱۰

۴-۲-۱ خسارت

۱۱

۵-۲-۱ روش‌های کنترل پروانه برگ خوار توت

۱۲

۱-۳- ترجیح میزبانی

۱۴

۱-۴- دموگرافی

۱۶

۱-۵- ویژگی‌های گیاه گندواش

۱۷

۱-۶- بررسی اثرات حشره‌کشی ترکیبات گیاهی

۱۷

۱-۱-۶ اثرات کشنده‌گی

۱۹

۱-۲-۶ تأثیر عصاره‌های گیاهی روی شاخص‌های تغذیه

۲۲

۱-۳-۶ اثرات ضد تغذیه عصاره‌های گیاهی

۲۵

۱-۴-۶ اثرات تنظیم‌کننده‌گی رشد

۲۸

۱-۵-۶ تأثیر فرآورده‌های گیاهی روی میزان ترکیبات بیوشیمیایی و فعالیت آنزیم‌ها

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۳۲

۱-۲ مواد، دستگاه‌ها و روش‌ها

۳۲

۱-۱-۲ مواد

۳۲

۲-۱-۲ دستگاه‌ها

- ۲-۲ پرورش پروانه برگ خوار توت *Glyphodes pyloalis* در آزمایشگاه
۳۴-۲ تعیین میزان ارجح تغذیه‌ای با استفاده از دستگاه بویایی سنج
۳۴-۲ تعیین خصوصیات شیمیایی برگ‌های واریته‌های مورد مطالعه
۳۵-۲ زیست شناسی پروانه برگ خوار توت
۳۵-۱ بررسی رشد و نمو مراحل نابالغ پروانه برگ خوار توت
۳۶-۲ طول عمر و تولید مثل حشرات کامل
۳۶-۲ تشکیل جدول زندگی ویژه مراحل رشدی-سنی با در نظر گرفتن دو جنس
۳۷-۲ تهیه عصاره متابولی گیاه گندواش *A. annua*
۳۷-۲ آزمایش‌های زیست سنجی
۳۸-۲ بررسی تأثیر غلط‌های زیر کشنده عصاره گندواش روی رشد و نمو پروانه برگ خوار توت
۳۹-۲ بررسی فعالیت دور کنندگی عصاره گندواش
۳۹-۲ بررسی قدرت تأثیر عصاره گندواش روی شاخص‌های تغذیه پروانه برگ خوار توت
۴۱-۲ آزمون‌های بیوشیمیایی
۴۱-۲ آماده‌سازی نمونه‌ها جهت بررسی تأثیر عصاره گندواش روی برخی از ترکیبات بیوشیمیایی
۴۱-۲-۱ اندازه گیری پروتئین کل
۴۱-۲-۲ تعیین منحنی استاندارد پروتئین
۴۲-۲-۴ اندازه گیری میزان لیپید و کربوهیدرات
۴۲-۲-۵ تعیین منحنی استاندارد کلسترول
۴۳-۲-۶ تعیین منحنی استاندارد مالتوز
۴۴-۲-۷ اندازه گیری فعالیت آلفا آمیلاز
۴۴-۲-۸ تعیین منحنی استاندارد مالتوز
۴۵-۲-۹ اندازه گیری فعالیت پروتئاز
۴۵-۲-۱۰ اندازه گیری فعالیت لیپاز
۴۵-۲-۱۱ اندازه گیری فعالیت استراز
۴۶-۲-۱۲ تعیین منحنی استاندارد نفتول
۴۶-۲-۱۳ اندازه گیری فعالیت گلوتاتیون اس-ترانسفراز
۴۶-۲-۱۴ تعیین منحنی استاندارد *p*-nitrophenol
۴۶-۲-۱۳ تجزیه و تحلیل آماری

فصل سوم: نتایج

- ۱-۳ ترجیح میزانی پروانه برگ خوار توت *G. pyloalis*
۲-۳ خصوصیات شیمیایی برگ‌های واریته‌های مورد مطالعه

۴۹	۳-۳ نتایج مطالعات زیست‌شناسی
۴۹	۱-۳-۳ دوره‌های مختلف رشدی:
۴۹	۱-۳-۳ تخم
۵۰	۲-۱-۳-۳ لارو
۵۳	۳-۱-۳-۳ شفیره
۵۴	۱-۳-۱-۳-۳ تعیین جنسیت شفیره‌ها
۵۵	۴-۱-۳-۳ حشرات کامل
۵۵	۱-۳-۳ دوره رشد و نمو و باروری حشرات کامل
۵۷	۴-۳ پارامترهای جدول زندگی پروانه برگ‌خوار توت <i>G. pyloalis</i>
۶۲	۳-۵ سمیت عصاره گیاه گندواش <i>A. annua</i> روی پروانه برگ‌خوار توت <i>G. pyloalis</i>
۶۲	۱-۵-۳ آزمون سمیت حاد
۶۳	۳-۵-۲ ارزیابی تأثیر غلظت‌های زیر کشنده عصاره گندواش روی رشد و نمو پروانه برگ‌خوار توت
۶۳	۱-۲-۵-۳ تأثیر بر طول دوره لاروی
۶۴	۲-۲-۵-۳ تأثیر بر تعداد پوست‌اندازی لاروها
۶۴	۳-۲-۵-۳ تأثیر بر طول دوره شفیرگی
۶۵	۴-۲-۵-۳ تأثیر بر طول عمر حشرات کامل
۶۶	۵-۲-۵-۳ تأثیر عصاره گندواش بر باروری حشرات کامل حاصل از لاروهای تیمار شده با عصاره گندواش
۶۶	۳-۵-۳ شاخص بازدارندگی تغذیه
۶۷	۴-۵-۳ ارزیابی تأثیر عصاره گندواش روی شاخص‌های تغذیه در لارو سن پنجم <i>G. pyloalis</i>
۶۷	۱-۴-۵-۳ تأثیر عصاره گندواش بر شاخص قابلیت هضم نسبی (AD)
۶۸	۲-۴-۵-۳ تأثیر عصاره گندواش بر شاخص کارآبی تبدیل غذای خورده شده به بیوماس حشره (ECI)
۶۸	۳-۴-۵-۳ تأثیر عصاره گندواش بر شاخص کارآبی تبدیل غذای هضم شده به بیوماس حشره (ECD)
۶۹	۴-۴-۵-۳ تأثیر عصاره گندواش بر شاخص نرخ رشد نسبی (RGR)
۷۰	۵-۴-۵-۳ تأثیر عصاره گندواش بر شاخص مصرف روزانه (CI)
۷۰	۵-۵-۳ تأثیر عصاره گندواش بر خصوصیات بیوشیمیایی لاروهای سن پنجم پروانه برگ‌خوار توت <i>G. pyloalis</i>
۷۰	۱-۵-۵-۳ تهیه منحنی استاندارد پروتئین
۷۱	۲-۵-۵-۳ تأثیر عصاره گندواش بر مقدار پروتئین کل
۷۲	۳-۵-۵-۳ تهیه منحنی استاندارد مالتوز
۷۲	۴-۵-۵-۳ تأثیر عصاره گندواش روی میزان کربوهیدرات
۷۳	۵-۵-۵-۳ تهیه منحنی استاندارد کلسیترول
۷۳	۶-۵-۵-۳ تأثیر عصاره گندواش روی میزان لیپید
۷۴	۷-۵-۵-۳ تهیه منحنی استاندارد مالتوز

۷۵	۸-۵-۳ تأثیر عصاره گندواش بر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز
۷۵	۹-۵-۳ تأثیر عصاره گندواش روی فعالیت آنزیم پروتئاز
۷۶	۱۰-۵-۳ تعیین منحنی استاندارد μ - نیتروفنول
۷۷	۱۱-۵-۳ تأثیر عصاره گندواش روی فعالیت آنزیم لیپاز
۷۷	۱۲-۵-۳ تأثیر عصاره گندواش روی فعالیت آنزیم استراز
۷۸	۱۳-۵-۳ تأثیر عصاره گندواش روی فعالیت آنزیم گلوتاتیون اس-ترانسفراز

فصل چهارم: بحث

۸۰	بحث
۹۳	نتیجه گیری کلی
۹۳	پیشنهادات
۹۵	منابع
۱۱۰	ضمائیم

۳۲	جدول ۱-۲ لیست مواد مورد استفاده
۳۲	جدول ۲-۲ لیست دستگاه‌های مورد استفاده
۴۲	جدول ۲-۳ تهیه منحنی استانداردهای پروتئینی به منظور تعیین غلظت نمونه‌های مجھول
۴۹	جدول ۳-۱ تجزیه شیمیایی برگ‌های واریته‌های کن موجی، ایچی نوسه، شین ایچی نوسه و گونه توت سفید در تیر ماه ۱۳۸۷ (درصد در ماده خشک)
۵۱	جدول ۲-۳ میانگین و خطای استاندارد طول و عرض کپسول سر و بدن در سنین مختلف لاروی پروانه برگ‌خوار توت <i>G. pyloalis</i> در دمای 24 ± 2 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی 75 ± 10 دوره نوری $8:16$ (تاریکی: روشنایی) ساعت
۵۳	جدول ۳-۳ میانگین و خطای استاندارد طول (میلی‌متر)، عرض (میلی‌متر) و وزن (میلی‌گرم) شفیره‌های نر و ماده پروانه برگ‌خوار توت <i>G. pyloalis</i> در دمای 24 ± 2 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی 75 ± 10 و دوره نوری $8:16$ (تاریکی: روشنایی) ساعت
۵۴	جدول ۴-۳ میانگین و خطای استاندارد طول دوره‌های رشدی مراحل نابالغ پروانه برگ‌خوار توت <i>Glyphodes pyloalis</i> در دمای 24 ± 2 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی 75 ± 10 و دوره نوری $8:16$ (تاریکی: روشنایی) ساعت
۵۶	جدول ۵-۳ طول دوره زندگی (روز) و باروری (تخم/ماده) پروانه برگ‌خوار توت <i>G. pyloalis</i> در دمای 24 ± 2 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی 75 ± 10 و دوره نوری $8:16$ (تاریکی: روشنایی) ساعت.
۶۰	جدول ۶-۳ پارامترهای جمعیت پایدار پروانه برگ‌خوار توت <i>G. pyloalis</i> در دمای 24 ± 2 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی 75 ± 10 و دوره نوری $8:16$ (تاریکی: روشنایی) ساعت.
۶۲	جدول ۷-۳ واکنش لاروهای سن چهارم پروانه برگ‌خوار توت <i>G. pyloalis</i> به عصاره گیاه گندواش و برآورده LC_{20} و LC_{30} پس از گذشت ۲۴ ساعت از شروع آزمایش بر حسب (%).

- ۷ شکل ۱-۱ واریته ایچی نوسه (اصلی)
- ۸ شکل ۲-۱ واریته شین ایچی نوسه (اصلی)
- ۸ شکل ۳-۱ واریته کن موچی (اصلی)
- ۱۶ شکل ۴-۱ گیاه گندواش
- ۳۳ شکل ۱-۲ نمایی از پرورش پروانه برگ خوار توت در اتفاق رشد (اصلی)
- ۴۴ شکل ۲-۲ بررسی ترجیح میزانی پروانه برگ خوار توت *G. pyloalis* با استفاده از دستگاه بویایی سنج (اصلی)
- ۴۸ شکل ۳-۱ ترجیح میزانی تغذیه لاروهای سن پنجم پروانه برگ خوار توت *G. pyloalis* در دمای 24 ± 1 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی $75 \pm 10\%$ و دوره نوری ۸:۱۶ (تاریکی: روشنایی) ساعت
- ۵۰ شکل ۲-۳ تخم پروانه برگ خوار توت *G. pyloalis* (اصلی $12 \times$)
- ۵۲ شکل ۳-۲ مراحل مختلف زیستی پروانه برگ خوار توت و نحوه خسارت آن.
- ۵۳ شکل ۳-۴ شفیره پروانه برگ خوار توت *G. pyloalis* (اصلی $2 \times$)
- ۵۵ شکل ۳-۵ صفحات جنسی در شفیرهای ماده (A) و نر (B) (اصلی $4 \times$)
- ۵۵ شکل ۳-۶ حشره کامل نر پروانه برگ خوار توت *G. pyloalis* (اصلی)
- ۵۷ شکل ۳-۷ میانگین تخم ریزی روزانه حشره کامل ماده پروانه برگ خوار توت *G. pyloalis* در دمای 24 ± 2 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی $75 \pm 10\%$ و دوره نوری ۸:۱۶ (تاریکی: روشنایی) ساعت.
- ۵۸ شکل ۳-۸ منحنی نرخ بقای ویژه سن- مرحله رشدی پروانه برگ خوار توت *G. pyloalis* در دمای 24 ± 2 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی $75 \pm 10\%$ و دوره نوری ۸:۱۶ (تاریکی: روشنایی) ساعت.
- ۵۹ شکل ۳-۹ منحنی امید زندگی ویژه سن- مرحله رشدی پروانه برگ خوار توت *G. pyloalis* در دمای 24 ± 2 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی $75 \pm 10\%$ و دوره نوری ۸:۱۶ (تاریکی: روشنایی) ساعت.
- ۶۱ شکل ۳-۱۰ نرخ بقای ویژه سن (I_x)، باروری ویژه سن- مرحله رشدی حشرات ماده ($f_{x(0)}$)، باروری ویژه سن (m_x) و آبستنی ویژه سن ($I_x m_x$) پروانه برگ خوار توت *G. pyloalis* در دمای 24 ± 2 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی $75 \pm 10\%$ و دوره نوری ۸:۱۶ (تاریکی: روشنایی) ساعت.
- ۶۲ شکل ۳-۱۱ منحنی میزان تولید مثل ویژه سن- مرحله رشدی پروانه برگ خوار توت *G. pyloalis* در دمای 24 ± 2 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی $75 \pm 10\%$ و دوره نوری ۸:۱۶ (تاریکی: روشنایی) ساعت.
- ۶۳ شکل ۳-۱۲ رابطه غلظت- پاسخ برای لاروهای سن چهارم *G. pyloalis* تیمار شده با عصاره متانولی *A. annua*
- ۶۴ شکل ۳-۱۳ تأثیر عصاره گندواش روی طول دوره لاروی پروانه برگ خوار توت *G. pyloalis*
- ۶۴ شکل ۳-۱۴ تأثیر عصاره گندواش روی تعداد پوست اندازی لاروهای پروانه برگ خوار توت *G. pyloalis*
- ۶۴ شکل ۳-۱۵ لارو پروانه برگ خوار توت *G. pyloalis* با پوست اندازی اضافه در اثر تیمار با عصاره گندواش
- ۶۵ شکل ۳-۱۶ تأثیر عصاره گندواش روی طول دوره شفیرگی پروانه برگ خوار توت *G. pyloalis*

- شکل ۱۷-۳ مقایسه میانگین طول عمر حشره کامل حاصل از لاروهای سن چهارم *G. pyloalis* تیمار شده با عصاره گندواش
شکل ۱۸-۳ میانگین تعداد تخم گذاشته شده در حشرات کامل ماده *G. pyloalis* حاصل از لاروهای تیمار شده با عصاره گندواش
شکل ۱۹-۳ میانگین درصد تفریخ تخم در حشرات کامل ماده *G. pyloalis* حاصل از لاروهای تیمار شده با عصاره گندواش
شکل ۲۰-۳ میانگین درصد بازدارندگی تقدیه لارو سن پنجم *G. pyloalis* توسط عصاره مтанولی *A. annua*
شکل ۲۱-۳ شاخص قابلیت هضم نسبی (AD) در لاروهای سن ۵ *G. pyloalis* تیمار شده با عصاره متانولی گندواش
شکل ۲۲-۳ شاخص کارآیی تبدیل غذای خورده شده به بیوماس حشره (ECI) در لاروهای سن ۵ *G. pyloalis* تیمار شده با عصاره گندواش
شکل ۲۳-۳ شاخص کارآیی تبدیل غذای خورده شده به بیوماس حشره (ECD) در لاروهای سن ۵ *G. pyloalis* تیمار شده با عصاره گندواش
شکل ۲۴-۳ شاخص نرخ رشد نسبی (RGR) در لاروهای سن ۵ *G. pyloalis* تیمار شده با عصاره متانولی گندواش
شکل ۲۵-۳ شاخص مصرف (CI) در لاروهای سن ۵ *G. pyloalis* تیمار شده با عصاره متانولی گندواش
شکل ۲۶-۳ منحنی استاندارد پروتئین در طول موج ۶۳۰ نانومتر
شکل ۲۷-۳ میزان پروتئین (میکرو گرم/لارو) در لاروهای سن ۵ *G. pyloalis* بعد از تیمار با عصاره *A. annua*
شکل ۲۸-۳ منحنی استاندارد مالتوز در طول موج ۶۳۰ نانومتر
شکل ۲۹-۳ میزان کربوهیدرات (میکرو گرم/لارو) در لاروهای سن ۵ *G. pyloalis* بعد از تیمار با عصاره *A. annua*
شکل ۳۰-۳ منحنی استاندارد کلسترول در طول موج ۵۳۰ نانومتر
شکل ۳۱-۳ میزان لیپید (میکرو گرم/لارو) در لاروهای سن ۵ *G. pyloalis* بعد از تیمار با عصاره *A. annua*
شکل ۳۲-۳ منحنی استاندارد مالتوز
شکل ۳۳-۳ فعالیت ویژه آنزیم آلفا-امیلاز (نانو مول/دقیقه/میلی گرم پروتئین) در لاروهای سن ۵ *G. pyloalis* بعد از تیمار با عصاره *A. annua*
شکل ۳۴-۳ فعالیت آنزیم پروتئاز (جذب نوری/دقیقه/میلی گرم پروتئین) در لاروهای سن ۵ *G. pyloalis* تیمار شده با عصاره *A. annua*
شکل ۳۵-۳ منحنی استاندارد *p*-نیتروفنول
شکل ۳۶-۳ فعالیت آنزیم لیپاز (میکرومول/دقیقه/میلی گرم پروتئین) در لاروهای سن پنجم *G. pyloalis* تیمار شده با عصاره *A. annua*
شکل ۳۷-۳ فعالیت آنزیم استراز (میکرومول/دقیقه/میلی گرم پروتئین) در لاروهای سن پنجم *G. pyloalis* تیمار شده با عصاره *A. annua*
شکل ۳۸-۳ فعالیت گلوتاتیون اس-ترانسفراز (میکرومول/دقیقه/میلی گرم پروتئین) در لاروهای سن پنجم *G. pyloalis* تیمار شده با عصاره گندواش

فهرست ضمایم

صفحه

جدول ضمیمه-۱- تجزیه واریانس تجزیه شیمیایی برگ‌های واریته‌های کن‌موچی، ایچی نوسه، شین‌ایچی نوسه و گونه توت سفید در تیر	۱۱۰	ماه ۱۳۸۷
جدول ضمیمه-۲- تجزیه واریانس ترجیح میزانی تغذیه لاروهای سن پنجم پروانه برگ‌خوار توت <i>G. pyloalis</i> در دمای 24 ± 1 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی $75 \pm 10\%$ و دوره نوری ۸:۱۶ (تاریکی: روشنایی) ساعت	۱۱۰	
جدول ضمیمه-۳- مقایسه میانگین تأثیر عصاره گندواش روی میانگین تعداد تخم‌های گذاشته شده و درصد تفریخ تخم حشرات کامل <i>G. pyloalis</i> تیمار شده در دوره لاروی سن چهارم	۱۱۰	
جدول ضمیمه-۴- تجزیه واریانس تأثیر عصاره گندواش روی میانگین تعداد تخم‌های گذاشته شده و درصد تفریخ تخم حشرات کامل <i>G. pyloalis</i> تیمار شده در دوره لاروی سن چهارم	۱۱۱	
جدول ضمیمه-۵- مقایسه میانگین تأثیر عصاره گندواش روی رشد و نمو مراحل مختلف زیستی پروانه برگ‌خوار توت <i>G. pyloalis</i> بعد از تیمار با عصاره مтанولی گیاه <i>A. annua</i> در دمای 24 ± 2 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی $75 \pm 10\%$ و دوره نوری ۸:۱۶ (تاریکی: روشنایی) ساعت	۱۱۲	
جدول ضمیمه-۶- تجزیه واریانس تأثیر عصاره گندواش روی رشد و نمو مراحل مختلف زیستی پروانه برگ‌خوار توت <i>G. pyloalis</i> بعد از تیمار با عصاره مтанولی گیاه <i>A. annua</i> در دمای 24 ± 2 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی $75 \pm 10\%$ و دوره نوری ۸:۱۶ (تاریکی: روشنایی) ساعت	۱۱۲	
جدول ضمیمه-۷- مقایسه میانگین شاخص‌های کارآبی لارو سن پنجم پروانه کوچک برگ‌خوار توت <i>G. pyloalis</i> بعد از تیمار با عصاره عصاره مтанولی گیاه <i>A. annua</i> در دمای 24 ± 2 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی $75 \pm 10\%$ و دوره نوری ۸:۱۶ (تاریکی: روشنایی) ساعت	۱۱۳	
جدول ضمیمه-۸- تجزیه واریانس شاخص‌های کارآبی لارو سن پنجم پروانه برگ‌خوار توت <i>G. pyloalis</i> بعد از تیمار با عصاره مтанولی گیاه <i>A. annua</i> در دمای 24 ± 2 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی $75 \pm 10\%$ و دوره نوری ۸:۱۶ (تاریکی: روشنایی) ساعت	۱۱۳	
جدول ضمیمه-۹- مقایسه میانگین تأثیر عصاره گندواش روی میزان پروتئین کل، لیپید و کربوهیدرات لاروهای سن ۵ پروانه برگ‌خوار توت <i>G. pyloalis</i> بعد از تیمار با عصاره مтанولی گیاه <i>A. annua</i> در دمای 24 ± 2 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی $75 \pm 10\%$ و دوره نوری ۸:۱۶ (تاریکی: روشنایی) ساعت	۱۱۴	
جدول ضمیمه-۱۰- تجزیه واریانس تأثیر عصاره گندواش روی میزان پروتئین کل، لیپید و کربوهیدرات لاروهای سن ۵ پروانه برگ‌خوار توت <i>G. pyloalis</i> بعد از تیمار با عصاره مтанولی گیاه <i>A. annua</i> در دمای 24 ± 2 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی $75 \pm 10\%$ و دوره نوری ۸:۱۶ (تاریکی: روشنایی) ساعت	۱۱۴	
جدول ضمیمه-۱۱- مقایسه میانگین تأثیر عصاره گندواش روی میزان فعالیت آنزیم‌های آلفا‌آمیلاز، پروتئاز، لیپاز، استراز و گلوتاتیون اس ترانسفراز لاروهای سن ۵ پروانه برگ‌خوار خوار توت <i>G. pyloalis</i> بعد از تیمار با عصاره مтанولی گیاه <i>A. annua</i> در دمای 24 ± 2 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی $75 \pm 10\%$ و دوره نوری ۸:۱۶ (تاریکی: روشنایی) ساعت	۱۱۵	
جدول ضمیمه-۱۲- تجزیه واریانس میانگین تأثیر عصاره گندواش روی میزان فعالیت آنزیم‌های آلفا‌آمیلاز، پروتئاز، لیپاز، استراز و گلوتاتیون اس ترانسفراز لاروهای سن ۵ پروانه برگ‌خوار خوار توت <i>G. pyloalis</i> بعد از تیمار با عصاره مтанولی گیاه <i>A. annua</i> در دمای 24 ± 2 درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی $75 \pm 10\%$ و دوره نوری ۸:۱۶ (تاریکی: روشنایی) ساعت	۱۱۵	

چکیده

بررسی زیست‌شناسی پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae) روی میزان ارجح و تأثیر عصاره گیاه گندواش *Artemisia annua* L. روی برخی از پارامترهای زیستی و فیزیولوژیکی آن در شرایط آزمایشگاه.

رویا خسروی

ترجمیح میزانی تغذیه پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* Walker با استفاده از دستگاه بوبایی سنج در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی روی توت سفید و واریته‌های کن‌موچی، شین‌ایچی‌نوسه و ایچی‌نوسه مورد مطالعه قرار گرفت. لاروها بیشترین گرایش را به سمت واریته‌های کن‌موچی و ایچی‌نوسه نشان دادند. همچنین ویژگی‌های زیست شناسی و پارامترهای جدول زندگی پروانه برگ‌خوار توت در شرایط کنترل شده آزمایشگاهی (دما $\text{ }^{\circ}\text{C}$ ۲۴±۲ درجه سانتیگراد، رطوبت ۷۵±۱۰ درصد دوره نوری ۸:۱۶ (تاریکی: روشنایی) ساعت) مورد بررسی قرار گرفت. روزانه آمار مرگ و میر، پوست اندازی، ظهور حشرات بالغ و جنسیت آن‌ها یادداشت شد. دوره رشدی برای تخم، لارو سن ۱، لارو سن ۲، لارو سن ۳، لارو سن ۴، لارو سن ۵، پیش شفیره و شفیره به ترتیب ۴/۰۶، ۲/۹۳، ۲/۰۱، ۲/۰۳، ۲/۱، ۴/۰۹، ۲/۰۴ و ۹/۰۷ روز بود. میانگین کل دوره رشدی از تخم تا حشره بالغ ۳۵/۴۰ روز برآورد شد. حداقل عمر حشرات بالغ نر ۷ و حشرات ماده ۱۱ روز است. داده‌های به دست آمده بر اساس جدول زندگی دو جنس (نر و ماده)، مراحل رشدی-سنی، با در نظر گرفتن تغییرات رشد افراد و جنسیت آن‌ها، تعزیز و تحلیل گردیدند. نرخ ذاتی افزایش جمعیت (r_m)، نرخ متناهی افزایش جمعیت (λ)، نرخ خالص تولید مثل (R_0)، نرخ ناخالص تولید مثل (GRR) و متوسط مدت زمان نسل (T) برای پروانه برگ‌خوار توت به ترتیب ۱۴/۱۵ روز، ۱/۱۵ روز، ۱۳۴/۶۷ تخم ماده، ۲۹۴/۷۱ تخم و ۳۴/۴۴ روز به دست آمد. امید زندگی تخم های گذاشته شده ۳۲/۱۵ روز بود. تأثیر عصاره متابولی گیاه درمنه *Artemisia annua* L. روی مرگ و میر و برخی از پارامترهای زیستی و فیزیولوژیکی *G. pyloalis* مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش‌های سمیت حاد و تأثیر غلظت‌های زیر کشنه روی پارامترهای زیستی با استفاده از روش تست موضعی و لارو سن ۴ انجام شدند. مقدار LC₅₀ برای لاروهای سن چهارم ۲۴ ساعت پس از شروع آزمایش ۱۵/۰۹٪ محاسبه شد. غلظت‌های زیر کشنه عصاره درمنه در رشد و نمو لاروهای تیمار شده اختلال ایجاد کردند و در لاروهای تیمار شده با LC₅₀ افزایش سن لاروی مشاهده شد. میانگین تعداد تخم گذاشته شده و درصد تغیریخ تخم در کلیه تیمارها کاهش یافت. تأثیر عصاره درمنه روی تغذیه و خصوصیات بیوشیمیایی این آفت روی لاروهای سن پنجم در غلظت‌های ۵، ۱/۰۶۲۵ و ۰/۰۶۲۵ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت. با افزایش غلظت عصاره، شاخص بازدارندگی تغذیه نیز افزایش یافت. نرخ رشد نسبی، کارآیی تبدیل غذای خورده شده، کارآیی تبدیل غذای هضم شده، قابلیت هضم نسبی و شاخص مصرف در لاروهای تیمار شده تفاوت معنی داری با شاهد نشان داد. همچنین میزان پروتئین، کربوهیدرات، لیپید، فعالیت آلفا-امیلاز و پروتئاز ۴۸ ساعت پس از تیمار در مقایسه با شاهد به طور معنی داری کاهش یافته است. فعالیت آنزیم‌های لیپاز، استراز و گلوتاتیون اس-ترانسفراز در لاروهای تیمار شده تفاوت معنی داری را با شاهد نشان دادند. می‌توان نتیجه گرفت که عصاره متابولی *A. annua* A. به عنوان ترکیب ضد تغذیه قوی عمل کرده و از این طریق بر میزان ترکیبات بیوشیمیایی این آفت تأثیر می‌گذارد.

واژه‌های کلیدی: پروانه برگ‌خوار توت، زیست شناسی، گیاه درمنه، کشندگی، بازدارنده تغذیه

Abstract

Investigation on the biology of mulberry pyralid *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae) and the effect of *Artemisia annua* L. extract on some of it's biological and physiological parameters in laboratory condition

Roya Khosravi

Food preference of lesser mulberry pyralid, *Glyphodes pyloalis* Walker (Lep: Pyralidae) was studied with olfactometer in controlled conditions on white mulberry *Morus alba* and Kenmochi, Shin Ichinose and Ichinose varieties. Larvae showed the highest tendency to Kenmochi and Ichinose varieties. Biological characteristics and life table parameters of lesser mulberry pyralid was studied in controlled laboratory conditions ($24\pm1^{\circ}\text{C}$, $75\pm10\%$ R.H. and 16 L: 8 D hours). Mortality rate, metamorphosis, appearance of adult insects and adult sex ratio were recorded daily. Data were analyzed based on an age-stage, two-sex life table. Developmental rate among individuals and between sexes were also considerd. The developmental periods for the egg, first through fifth instar larvae, prepupae and pupae were 4.06, 2.93, 2.03, 2.01, 2.10, 4.09, 2.04 and 9.7 days, respectively. The mean total developmental period from egg to adult was 35.4 days. The maximum adult longevity was 7 and 11 days for males and females, respectively. The intrinsic rate of increase (r_m) and the finite rate of increase (λ) were 0.14 d^{-1} and 1.15 d^{-1} , respectively. The net reproductive rate (R_0), gross reproductive rate (GRR) and mean generation time (T) were 134.67 female offspring, 294.71 eggs/female and 34.44 days, respectively. Life expectancy of freshly laid egg was 32.15 days. Methanole extract of *Artemisia annua* L. were evaluated on mortality, biological and physiological characteristics of lesser mulberry pyralid *Glyphodes pyloalis*. Acute toxicity experiments and the effect of sub lethal doses were conducted by topical application method on fourth instar larvae. LC_{50} was calculated 15.09% after 24 hour for fourth instar larvae. Sub lethal concentrations of extract disturbed development of treated larvae ability and in larvae treated by LC_{50} an increase larval instar was observed. The mean fecundity and percentage hatch of eggs were reduced in all treatments. Effect of *A. annua* extract on feeding and biochemical characteristics of fifth instar larvae in 5, 2.5, 1.25 and 0.625 % were also evaluated. Increasing concentration resulted in higher deterrence. Relative growth rate, efficiency of conversion of ingested food, efficiency of conversion of digested food, approximate digestibility and consumption index in treated larvae showed significant differences compared to controls. The amount of total protein, carbohydrate and lipid and activity of α - amylase and protease significantly decreased 48 hours after treatment. The activity of lipase, esterase and glutathione S-transferase enzyme in treated larvae showed significant differences with control. It is concluded that methanol extract of *A. annua* could act as a strong antifeedant and in this way affecting biochemical compounds of this pest.

Key words: lesser mulberry pyralid, biology, *Artemisia annua*, lethal, feeding deterrent.

مقدمة

ایران یکی از تولیدکنندگان ابریشم و پیله ابریشمی است. تولید ابریشم در ایران قدمت دیرینه دارد. درخت توت *Morus* spp. به عنوان تنها منبع تغذیه برای کرم ابریشم *Bombyx mori* L. دارای اهمیت زیاد است (اعتباری، ۱۳۶۶). این درخت در فصل‌های مختلف سال مورد حمله آفات گوناگونی قرار می‌گیرد. پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* Walker یکی از آفات جدید درختان توت است که اولین بار در سال ۱۳۸۱ روی درختان توت با تراکم بسیار پایین مشاهده شد و با طغیان نسبی آن در سال ۱۳۸۴ خسارت آفت بسیار محسوس شد (جعفری خالجیری و همکاران، ۱۳۸۵). این پروانه به صورت اختصاصی از درخت توت تغذیه می‌کند و با تغذیه از پارانتیسم برگ باعث کاهش کیفیت و کمیت برگ‌های توت و ایجاد اختلال در فیزیولوژی عمومی درختان می‌شود.

در مدیریت مبارزه و تصمیم‌گیری درست در کنترل آفات لازم است تا شاخص‌های رشد جمعیت حشره مشخص گرددند. برآوردهای رشد جمعیت و تعیین افزایش جمعیت حشرات از روی توانایی تولید مثلی، یک ضرورت قطعی در مطالعه جمعیت‌های حشرات است. افزایش جمعیت را می‌توان توسط یک جدول زندگی باروری که پتانسیل توانایی تولید مثلی حشرات ماده در زمان‌های متفاوت را بیان می‌کند، نشان داد. جداول زندگی باروری با دنبال کردن بقاء گروهی از افراد تازه متولد شده در یک زمان و ثبت بقاء و زمان مرگ آن‌ها تا مرگ آخرین فرد از گروه ایجاد می‌شوند. چنین جداول زندگی را می‌توان برای توصیف زمان رشد و نمو و نرخ بقاء هر مرحله رشدی، پیش‌بینی اندازه جمعیت یک آفت و ساختار سنی آن در یک زمان مشخص به کار برد (Cary, 1993; Medeiros et al., 2000; Southwood and Henderson 2000).

انتخاب گیاه میزبان ارجح اطلاعات پایه را برای توسعه استراتژی‌های مدیریت فراهم می‌کند، که این موضوع منجر به کاهش کاربرد حشره کش‌های شیمیایی خواهد شد (Menezes et al., 2005). پاسخ متفاوت تغذیه پروانه برگ‌خوار توت *G. pyloalis* به واریته‌های گیاه میزبان محتمل است. برای تائید این احتمال که واریته‌هایی را ترجیح می‌دهد، آزمایش ترجیح تغذیه‌ای چند-انتخابی در شرایط آزمایشگاه طراحی شد. اطلاعات در مورد پارامترهای زیست‌شناسی و دموگرافی پروانه برگ‌خوار توت *G. pyloalis* در ایران موجود نیست. با توجه به اهمیت درختان توت برای پرورش کرم ابریشم و زیباسازی محیط شهری و لزوم مبارزه با این آفت، در این تحقیق به مطالعه جنبه‌های عمدۀ زیست‌شناسی و دموگرافی پروانه برگ‌خوار توت پرداخته می‌شود.

استفاده از عصاره‌ها و پودرهای گیاهی یا به عبارتی حشره‌کش‌های گیاهی در کشاورزی به نوعی که امروزه می‌شناسیم، به حدود چند صد سال پیش در چین، مصر، یونان و هند قدیم بر می‌گردد. در اروپا و آمریکای شمالی نیز حدود ۱۵۰ سال است که از

ترکیبات گیاهی استفاده می‌شود. در قرن اول بعد از میلاد مسیح، الدر^۱ پروفسور یونانی، در کتاب "تاریخ طبیعی" تمامی روش‌های شناخته شده کنترل آفات را شرح داده است. در همان زمان گزارش‌هایی از چین وجود دارد که نشان دهنده استفاده از پودر خشک شده گیاه پیرترووم^۲ به عنوان حشره کش است. در قرن ۱۷ اولین حشره کش گیاهی مورد استفاده قرار گرفت، که در آن زمان نیکوتین^۳ بدست آمده از برگ‌های توتون موجب کشته شدن سوسک خرما شد. در سال ۱۸۵۰ با کاربرد نیکوتین از گیاه Lonchocarpus sp. Kunth و Derris elliptica Benth و Nicotiana tabacum^۴ و روتنون^۵ از گیاهان Chrysanthemum cinerariaefolium Benth گیاه‌شناسان^۶ (Arnason et al., 1989) و آنابازین^۷ از دیگر حشره کش‌های گیاهی بودند که به صورت تجاری مصرف گسترده‌ای داشتند. ورود حشره کش‌های سنتزی از قبیل ترکیبات آلی کلره و فسفره، کاربامات‌ها و پیرتروئیدها در سال ۱۹۴۰، روش‌های کنترل آفات کشاورزی را تغییر داد و کاربرد این حشره کش‌ها نقش سوم گیاهی را در کشاورزی کم رنگ کرد. گرچه تمایل به استفاده از سوم شیمیایی به دلیل مشکلاتی از قبیل مسمویت حاد و مزمن برای فروشندگان، کارگران مزرعه و مصرف کنندگان محصولات کشاورزی، از بین رفتن دشمنان طبیعی، آلودگی آب‌های زیر زمینی و گسترش مقاومت به سوم در جمعیت آفات، در حال کاهش است (Isman, 2006). فرآورده‌های گیاهی در مقایسه با ترکیبات سنتزی ممکن است به سرعت در محیط تجزیه شوند، مقاومت به ترکیبات گیاهی به شدت مقاومت به ترکیبات سنتزی رخ نمی‌دهد. بسیاری از این فرآورده‌ها به سرعت از فعالیت تغذیه‌ای حشرات جلوگیری می‌کنند و ممکن است حتی باعث مرگ حشره نشوند. همچنین بسیاری از این فرآورده‌ها می‌توانند در مدت زمان کوتاهی قبل از برداشت مورد استفاده قرار گیرند (Isman, 1994).

در طی سال‌های گذشته، مطالعات متعددی روی پتانسیل استفاده از کاربرد فرآورده‌های گیاهی در کنترل گونه‌های مختلف حشرات آفت انجام شده و تأثیر آن‌ها علیه آفات انباری به صورت گسترده‌ای مورد بررسی قرار گرفته است. علاوه بر این، مشتقات گیاهان به عنوان یک روش جایگزین برای کنترل لاروهای مصر بال پولکداران می‌توانند در نظر گرفته شوند. تحقیقات اخیر تأثیر ضد تغذیه‌ای و لاروکشی، توانایی آن‌ها برای به تأخیر انداختن رشد و نمو و ظهور حشرات بالغ، تأثیر کشنده‌گی تخم‌ها و تأثیر دور کننده‌گی آن‌ها روی تخمریزی را ثابت کرده است (Moretti et al., 2002).

¹ Elder² Pyrethrum³ Nicotin⁴ Rotenone⁵ Ryanodine⁶ Anabasin

همچنین با توجه به کاربرد حداقل حشره‌کش‌های شیمیایی در توستستان و اهمیت توسعه روش‌های جایگزین برای کنترل این آفت، تأثیر عصاره گیاه گندواش *Artemisia annua* L. روی پارامترهای زیستی و فیزیولوژیکی آن مورد مطالعه قرار گرفته می‌شود.

فصل اول:

کلیات و مرور

منابع

۱-۱ درخت توت

درخت توت از خانواده *Moraceae* و از جنس *Morus*, گیاهی است چوبی و چند ساله، به ارتفاع ۲۰-۳۰ متر که اصل آن را از سرزمین چین و ایران یاد کرده‌اند. به همین علت از گذشته دور این دو کشور تولید کننده ابریشم محسوب می‌شدند. یک درخت قدیمی و یا تاریخی در اکثر کشورهای آسیایی، که به طور معمول در هر کشوری دارای قدمت بیش از دویست- سیصد سال است. درخت توت مقاوم و کم نیاز بوده و در اکثر مناطق و آب و هوا رشد می‌کند. این درخت که حتی به صورت خودرو در جنگلهای شمال پراکنده شده، تنها ای راست و قائم داشته و رنگ پوست شیاردار آن، خاکستری مایل به زرد است. برگ‌ها با شکل‌های مختلف، صاف و لوب‌دار یا دندانه‌دار با قاعده نیم قلبی و انتهای تیز است. رنگ آن سبز روشن و براق بوده و دمبرگ آن بلند است. میوه توت مرکب استوانه‌ای یا بیضی شکل کشیده و پایک میوه کم و بیش بلند آن به رنگ سفید تا شکری، و حتی جگری نیز دیده می‌شود. میوه درخت توت دارای مواد قندی سرشار بوده و به صورت تازه و خشک مورد مصرف قرار می‌گیرد (جوادی، ۱۳۷۹).

سابقه دیرینه قرابت درخت توت و حشره کرم ابریشم به عنوان تنها منع تغذیه آن در جهت دستیابی به محصول با ارزشی به نام پیله ابریشمی ایجاد می‌نماید که شرایط و منابع بهینه برای توستان فراهم شود. داشت یا نگهداری درختان توت در وضعیت مطلوب بر حسب شرایط اقلیمی و ارقام یا واریته‌های گوناگون آن، پایه و اساس تولید کمی و کیفی برگ و در پی آن، تولید پیله مرغوب است.

درخت توت از گیاهانی است که اگر توسط بذر تکثیر شود، گیاه تولید شده خصوصیات و صفات گیاه مادر را نخواهد داشت. در ایران غالب درختان توت از انواع بومی بوده و به طور غالب از طریق بذر تولید شده‌اند و به همین دلیل دارای صفات مطلوبی نیستند. توت بومی ایران به طور غالب از دو گونه توت سفید *Morus alba L.* و توت سیاه *M. nigra L.* هستند. و از نظر بازدهی برگ برای پرورش کرم ابریشم چندان مناسب نیستند. با استفاده از بذر این نوع توت‌ها می‌توان پایه‌های بسیار مناسبی برای پیوندهای واریته‌های اصلاح شده به دست آورد.

در حدود صد سال پیش متخصصین نوغانداری در کشور ژاپن تحقیقات گسترهای را در زمینه ایجاد واریته‌های اصلاح شده توت آغاز کردند و حاصل آن واریته‌های متعددی بوده است که هر یک دارای ویژگی‌های گیاه‌شناسی خاصی هستند. واریته‌های اصلاح شده به طور غالب از سه گونه زیر به دست آمده‌اند:

الف- *Morus alba*

ب- *Morus bombycis*

ج- *Morus latifolia*

در اینجا ویژگی‌های گیاه‌شناسی گونه و واریته‌های مورد استفاده در این تحقیق به اختصار شرح داده می‌شود.

۱-۱-۱ گونه سفید توت *Morus alba*

این گونه بومی چین بوده اما هم اکنون در همه جا یافت می‌شود. دارای ارتفاع ۲۰ - ۱۸ متر، در مقابل نوسان درجه حرارت مقاوم و در مقابل سرما و کم آبی نیز به نسبت مقاوم است. این گونه شاخه‌های خاکستری رنگ متمایل به قهوه‌ای دارد، تعداد شاخه‌هاییش تا حدودی زیاد و هر شاخه آن متوسط و تا حدودی مستقیم است. برگ‌های کوچک دارد و در مناطق معتدل به خوبی رشد می‌کند. رشد جوانه در بهار متوسط بوده و در پائیز برگ‌ها دیر ضخیم می‌شوند (اعتباری، ۱۳۶۶).

واریته‌های به دست آمده از این گونه به دلیل تولید شاخه‌های زیاد و برگ‌های لطیف با فاصله کم، بیشترین استفاده را در پرورش کرم ابریشم دارند. این واریته‌ها عبارتند از:

کاثو ریو نیزمه کائی شی (K.N)، شین ایچی نویسه (S.I)، ایچی نویسه (I)، کاثو ریو ایچی نویسه (K.I)، چکما اوها (C.O)، مینای ساکاری (M.S) (همان).

۱-۱-۲ واریته ایچی نویسه^۱

این واریته از گونه *M. alba* به دست آمده است. واریته ایچی نویسه دارای برگ‌های کشیده با بریدگی‌های به نسبت عمیق بوده و در پائیز دیر خشبي می‌شود. برای لارو کرم ابریشم در همه سنین مورد استفاده قرار می‌گیرد. واریته ایچی نویسه در اثر باد و طوفان زود نمی‌شکند. در مقابل بیماری‌های باکتریایی به نسبت ضعیف و به بیماری قارچی و سفیدک مقاوم است. شاخه‌های این واریته به رنگ خاکستری مایل به سفید هستند. قطر ساقه‌ها متوسط و رشد خوبی دارند، رشد جوانه در بهار متوسط است (همان).



شکل ۱-۱ واریته ایچی نویسه (اصلی)

¹ Ichinose