University of Tehran Press

Journal of Crops Improvement

Online ISSN: 2345-6957

Homepage: https://jci.ut.ac.ir/

Effect of Saffron Petal Extract on the Mortality and Enzymatic Changes of the Larvae of Indian Meal Moth, *Plodia interpunctella* (Hübner)

Reza Sadeghi[1]✉ | Mostafa Mirzaei[2] | Asgar Ebadollahi[3] | Arsalan Jamshidnia[4] | Majid Ghorbani Javid[5]

1. Corresponding Author, Department of Entomology and Plant Pathology, College of Aburaihan, University of Tehran, Iran. E-mail: rsadeghi@ut.ac.ir
2. Department of Entomology and Plant Pathology, College of Aburaihan, University of Tehran, Iran. E-mail: m.mirzaei@ut.ac.ir
3. Department of Plant Sciences, Moghan College of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran. E-mail: ebadollahi@uma.ac.ir
4. Department of Entomology and Plant Pathology, College of Aburaihan, University of Tehran, Iran. E-mail: jamshidnia@ut.ac.ir
5. Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Aburaihan, University of Tehran, Iran. E-mail: mjavid@ut.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received: February 03, 2022
Received in revised form: September 10, 2022
Accepted: September 19, 2022
Published online: April 16, 2023

Keywords:
α-Amylase enzyme,
protein,
saffron petal extract,
toxicity,
inhibitory rate.

ABSTRACT

Indian meal moth *Plodia interpunctella* Hübner (Pyralidae) is one of the most important pests of storage products in Iran, which is controlled by chemical fumigants. The use of plant essential oils and their compounds can be a suitable alternative to conventional fumigants due to their low risks to mammals. The present study invesrigates the mortality, inhibition of alpha-amylase enzyme, and the total protein content of Indian meal moth larvae (*Plodia interpunctella* (Hübner)) affected by saffron petal extract with high concentration of anthocyanin under experimental conditions. The concentrations have been 500, 690, 1000, 1380, and 2000 ppm, used against the fifth-instar larvae of the pest in four replications within 24 and 48 h. The lethal concentration to kill fifty percentage of larvae (LC_{50}) by saffron petal extract after 24 and 48 hours is estimated to be 2244.950 and 1434.828 ppm, respectively. Alpha-amylase enzyme activity in the fifth instar larvae of Indian meal moth, treated by saffron petal extract, has been significantly different from the control. The highest activity of the alpha-amylase enzyme in pest larvae treated by saffron petal extract has been recorded with 83.1%, and the inhibitory rate of this enzyme has been 21.8%, which is significantly different from control. Also, the amount of protein in the larvae affected by this extract significantly differs from the control groups. Therefore, due to its fumigant toxicity and the alpha-amylase inhibitory activity of Indian meal moth larvae, saffron petal extract can be considered for additional researches on managing this pest based on an ecological principle.

Cite this article: Sadeghi, R., Mirzaei, M., Ebadollahi, A., Jamshidnia, A., & Ghorbani Javid, M. (2023). Effect of Saffron Petal Extract on the Mortality and Enzymatic Changes of the Larvae of Indian Meal Moth, *Plodia interpunctella* (Hübner). *Journal of Crops Improvement*, 25 (1), 197-208.
DOI: https://doi.org/10.22059/jci.2022.338470.2675

© The Authors.
Publisher: University of Tehran Press.
DOI: https://doi.org/10.22059/jci.2022.338470.2675

انتشارات دانشگاه تهران

به زراعی کشاورزی

شاپا الکترونیکی: ۶۹۵۷-۲۳۴۵

Homepage: https://jci.ut.ac.ir/

تأثیر عصاره گلبرگ زعفران در تلفات و تغییرات آنزیمی لاروهای شب‌پره هندی *Plodia interpunctella* (Hübner)

رضا صادقی[1]✉ | مصطفی میرزایی[2] | عسگر عبادللهی[3] | ارسلان جمشیدنیا[4] | مجید قربانی جاوید[5]

۱. نویسنده مسئول، گروه حشره‌شناسی و بیماری‌های گیاهی، دانشکده فناوری کشاورزی ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران. رایانامه: rsadeghi@ut.ac.ir

۲. گروه حشره‌شناسی و بیماری‌های گیاهی، دانشکده فناوری کشاورزی ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران. رایانامه: m.mirzaei@ut.ac.ir

۳. گروه علوم گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی مغان، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران. رایانامه: ebadollahi@uma.ac.ir

۴. گروه حشره‌شناسی و بیماری‌های گیاهی، دانشکده فناوری کشاورزی ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران. رایانامه: jamshidnia@ut.ac.ir

۵. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده فناوری کشاورزی ابوریحان، دانشگاه تهران، پاکدشت، ایران. رایانامه: mjavid@ut.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: مقالهٔ پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۱/۱۴

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۰۶/۱۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۶/۲۸

تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۱/۲۷

کلیدواژه‌ها:
آنزیم آلفا–آمیلاز،
پروتئین،
عصاره گلبرگ زعفران،
سمیت،
میزان مهارکنندگی.

چکیده

شب‌پره هندی *Plodia interpunctella* Hübner (Pyralidae) یکی از آفات مهم محصولات انباری در ایران می‌باشد که برای کنترل آن از سموم شیمیایی تدخینی استفاده می‌شود. استفاده از اسانس‌های گیاهی و ترکیبات آن به‌دلیل خطرات کم روی پستانداران می‌تواند جایگزین مناسبی برای سموم مرسوم تدخینی باشد. در این پژوهش مرگ‌ومیر، مهارکنندگی آنزیم آلفا–آمیلاز و میزان پروتئین کل لارو شب‌پره هندی تحت تأثیر عصاره گلبرگ زعفران با آنتوسیانین بالا در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. غلظت‌های مورداستفاده شامل ۵۰۰، ۶۹۰، ۱۰۰۰، ۱۳۸۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام بودند که طی زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت در چهار تکرار علیه لاروهای سن پنجم آفت استفاده شدند. مقدار غلظت کشنده پنجاه درصد (LC_{50}) عصاره گلبرگ زعفران روی لارو شب‌پره هندی بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت به‌ترتیب برابر با ۲۲۴۴/۹۵۰ و ۱۴۳۴/۸۲۸ پی‌پی‌ام برآورد شد. فعالیت آنزیم آلفا–آمیلاز در لارو سن پنجم شب‌پره هندی تحت تأثیر تیمارهای عصاره گلبرگ زعفران اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت. بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم آلفا–آمیلاز لارو آفت تحت تأثیر عصاره گلبرگ زعفران برابر با ۸۳/۱ درصد و میزان مهارکنندگی آنزیم مذکور نیز برابر با ۲۱/۸ درصد ارزیابی شد که اختلاف معنی‌داری با شاهد داشتند. علاوه بر آن، میزان پروتئین در لاروهایی که تحت تأثیر این عصاره قرار داشتند با گروه‌های شاهد تفاوت معنی‌داری داشت. بنابراین، با توجه به سمیت تدخینی عصاره گلبرگ زعفران و فعالیت بازدارندگی آن روی آنزیم آلفا–آمیلاز لاروهای شب‌پره هندی، این عصاره می‌تواند جهت انجام پژوهش‌های تکمیلی در راستای مدیریت اکولوژیک آفت مذکور موردتوجه قرار گیرد.

استناد: صادقی، ر.، میرزایی، م.، عبادللهی، ع.، جمشیدنیا، ا. و قربانی جاوید، م (۱۴۰۲). تأثیر عصاره گلبرگ زعفران در تلفات و تغییرات آنزیمی لاروهای شب‌پره هندی *Plodia interpunctella* (Hübner). *به‌زراعی کشاورزی*، ۲۵ (۱)، ۱۹۷–۲۰۸.

DOI: https://doi.org/10.22059/jci.2022.338470.2675

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

CC BY NC

۱. مقدمه

در ایران هر ساله به‌طور متوسط ۱۰ تا ۲۰ درصد محصولات کشاورزی در انبارها به‌وسیله آفات و سایر عوامل خسارت‌زا از بین می‌رود (Bagheri Zenouz, 2007). در انبارهایی که شرایط اکولوژیک برای نشو و نمای آفات فراهم است میزان خسارت چنان فزونی می‌یابد که در مدت کوتاهی به بروز خسارت اقتصادی غیرقابل جبران منجر می‌شود (Bagheri Zenouz, 2007). هم‌چنین در مناطق روستایی به‌دلیل سنتی‌بودن انبارها و شرایط نامناسب انبارداری، ۱۰ تا ۸۰ درصد محصول از بین می‌رود (Modares-Najafabadi, 2002). در کل، حدود ۸ تا ۱۰ درصد معادل ۱۳ میلیون تن از غلات انباری در اثر خسارت حشرات آفت در سراسر جهان از بین می‌روند (Ahmad *et al*., 2021).

شب‌پره هندی، *Plodia interpunctella* (Hübner)، آفتی با انتشار جهانی و اهمیت اقتصادی بالا در محصولات انباری مختلف است (Mohandass *et al*., 2007). لاروهای این آفت قادرند به میزبان‌های مختلفی از قبیل غلات، بذور روغنی، میوه‌های خشک‌شده و آجیل خسارت بزنند (El-Shafei *et al*., 2018). اغلب سموم شیمیایی مصنوعی به‌منظور اجتناب از خسارات چنین آفاتی به‌کار گرفته می‌شوند. اگرچه حشره‌کش‌های مصنوعی تاکنون به‌طور موفقیت‌آمیز و مؤثری جهت حفاظت مواد انباری ازجمله حشرات به‌کار برده شده‌اند، اما کاربرد بی‌رویه و اغلب ناآگاهانه این ترکیبات مشکلات جدی نظیر سمیت مستقیم برای انسان، حشرات مفید و ماهی‌ها، بروز مقاومت در آفات نسبت به آفت‌کش‌ها، افزایش حساسیت گیاهان زراعی به حشرات آفت و بالارفتن مخاطرات زیست‌محیطی شده است (Mahmud, 2002; Jbilou *et al*., 2006; Mahfuz & Khalequzzaman, 2007).

ترکیبات گیاهی به‌علت کم‌خطربودن برای انسان و پستانداران، تجزیه سریع و اثرات جانبی بسیار کم‌تر برای محیط زیست، به‌صورت گسترده‌ای در کنترل آفات انباری مورداستفاده قرار گرفته‌اند (Isman, 2000). پژوهش‌گران در کشورهای توسعه‌یافته ترکیبات گیاهی را به‌عنوان جایگزین‌های مناسبی برای ترکیبات شیمیایی مصنوعی معرفی نموده‌اند (Wang *et al*., 2001; Akbar *et al*., 2005; Isman & Grieneisen, 2014). سمیت حشره‌کشی و اثرات بیولوژیکی نظیر خواص دورکنندگی، بازدارندگی تغذیه‌ای و تنظیم‌کنندگی رشد فرمولاسیون‌های پودر، عصاره و اسانس ترکیبات گیاهی روی حشرات آفت موردبررسی قرار گرفته است (Isman, 2006; Isman *et al*., 2011; Ebadollahi *et al*., 2020). برای مثال، سمیت اسانس گیاه بادرشبو[1] روی حشرات کامل شب‌پره هندی آرد و شب‌پره مدیترانه‌ای آرد[2] با مقادیر LC_{50} ۹/۶۳ و ۱۰/۲۵ میکرولیتر بر لیتر گزارش شد (Ebadollahi & Mahdavi, 2019). در پژوهشی دیگر، Akbari *et al.* (2021) سمیت تدخینی قابل‌توجه اسانس‌های مستخرج از پوست پسته[3] و برگ‌های ریحان[4] را روی لاروهای شب‌پره هندی آرد با مقادیر غلظت کشنده ۵۰ درصد (LC_{50}) ۱۷۸/۱۴ و ۸۹/۳۴ میکرولیتر بر لیتر را گزارش کردند. هم‌چنین محتوای پروتئین لاروهای تیمارشده با اسانس‌های مذکور نسبت به گروه شاهد به‌صورت معنی‌داری کاهش یافت.

با توجه به افزایش روزافزون کاربرد ترکیبات گیاهی در کنترل آفات، در پژوهش حاضر اثر کشندگی عصاره گلبرک زعفران علیه لارو سن آخر شب‌پره هندی و هم‌چنین تغییرات آنزیم آلفا–آمیلاز و محتوای پروتئینی این حشره تحت تأثیر عصاره مذکور موردبررسی قرار گرفته است.

1. *Dracocephalum moldavica* L.
2. *Anagasta kuehniella* Zeller
3. *Pistacia vera* L.
4. *Ocimum basilicum* L.

۲. مواد و روش‌ها

۲. ۱. پرورش شب‌پره هندی

ابتدا حشرات از روی غذای طبیعی شامل کشمش، پسته، خرما و گردو در شهریورماه ۱۳۹۶ از شهرستان پاکدشت جمع‌آوری شدند. شناسایی حشرات کامل جمع‌آوری‌شده با توجه به ویژگی‌های بال‌ها (یک‌سوم قاعده بال‌های جلویی خاکستری رنگ و دو سوم بقیه قهوه‌ای مایل به قرمز و وجود ریشک‌های ظریف در حاشیه بال‌ها) انجام شد. سپس این حشرات به جیره غذایی مصنوعی با ترکیب مخمر ۱۶۰ گرم، گیسرول ۲۰۰ میلی‌لیتر، عسل ۲۰۰ میلی‌لیتر و سبوس گندم ۸۰۰ گرم منتقل شدند (Sait *et al*., 1997). کلنی حشرات در شرایط آزمایشگاهی و داخل دستگاه ژرمیناتور با شرایط ثابت دمایی ۲±۲۸ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی، حداقل سه نسل پرورش داده شدند. برای تخم‌گیری از استوانه‌های پلاسیکی شفاف به ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر استفاده شد. حشرات کامل خارج‌شده در ظروف پرورش هر روز جدا و به این ظروف منتقل می‌شدند. ظروف بر روی کاغذ سفید معمولی قرار داشته و تخم‌هایی که طی ۲۴ ساعت روی آن گذاشته می‌شد به ظروف پرورش روی مواد غذایی جدید منتقل می‌شدند. لاروهای هم‌سن آفت (سن پنج) جهت انجام زیست‌سنجی‌ها انتخاب شدند. تشخیص سنین مختلف لاروی براساس عرض کپسول سر انجام گرفت، به این صورت که لاروهای دارای عرض کپسول سر بیش از ۰/۹ میلی‌متر به‌طور تصادفی انتخاب شدند.

۲. ۲. آنتوسیانین گلبرگ

به‌منظور بررسی کیفیت گلبرگ گل‌های حاصل از بنه‌های بزرگ و کوچک زعفران جمع‌آوری‌شده از شهرستان کاشمر واقع در استان خراسان رضوی، برای انتخاب بهترین نوع گلبرگ برای عصاره‌گیری، غلظت آنتوسیانین مورداستفاده قرار گرفت. برای اندازه‌گیری آنتوسیانین‌ها ۰/۱ گرم وزن تر گلبرگ را در ۱۰ میلی‌لیتر محلول متانول اسیدی که شامل الکل متیلیک و اسیدکلریدریک به نسبت ۹۹ به ۱ است، خوب ساییده و عصاره حاصل سانتریفیوژ و محلول رویی به‌مدت یک شب در تاریکی قرار داده شد. جذب این ماده در طول موج ۵۵۰ نانومتر توسط دستگاه طیف‌سنج نوری (اسپکتروفوتومتر) (مدل UV-4802 Double bean، ساخت چین) خوانده شد. برای محاسبه غلظت آنتوسیانین از ضریب خاموشی معادل $33000\ cm^2\ mol^{-1}$ استفاده شد (Wagner, 1979). طبق رابطه (۱)، A جذب نمونه، b عرض کووت، c غلظت محلول موردنظر و ε ضریب خاموشی می‌باشد. در نهایت غلظت آنتوسیانین برحسب میکرومول بر گرم وزن تازه محاسبه شد.

$$A=\varepsilon bc$$ رابطه ۱)

۲. ۳. عصاره‌گیری از گلبرگ زعفران

برای تهیه عصاره در هر بار عصاره‌گیری از ۱۰۰ گرم گلبرگ زعفران خشک و آسیاب‌شده و ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استفاده شد. با استفاده از دستگاه سوکسله (مدل 1390a، ساخت ایران) طی مدت چهار ساعت و در دمای ۱۰۰ درجه - سانتی‌گراد عصاره‌گیری انجام شد. از هر ۱۰۰ گرم ماده خشک گیاهی حدود ۲۵ میلی‌لیتر عصاره خالص گلبرگ زعفران به‌دست آمد. برای خالص‌سازی عصاره از دستگاه تبخیرکننده چرخشی (مدل RE100، ساخت آلمان) استفاده شد.

۲. ۴. آزمایش‌های زیست‌سنجی عصاره

آزمایش‌های زیست‌سنجی در بطری‌های پلاستیکی درپوش‌دار به حجم یک لیتر انجام شد. برای به‌دست آوردن محدوده

غلظت‌های لازم به‌منظور تعیین میزان و روابط غلظت- مرگ‌ومیر، آزمایش‌های مقدماتی انجام گرفت و در نهایت از غلظت‌های ۵۰۰، ۶۹۰، ۱۰۰۰، ۱۳۸۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام از عصاره گلبرگ زعفران برای انجام آزمایش‌های اصلی استفاده شد. از هر غلظت ۵ سی‌سی روی پنبه‌هایی که داخل درب بطری پلاستیکی قرار گرفته بود ریخته شد. در تیمار شاهد فقط از آب مقطر استفاده شد. آزمایش‌ها در چهار تکرار انجام شد و در هر تکرار تعداد ۲۰ عدد لارو سن پنجم شب‌پره هندی داخل هر بطری پلاستیکی منتقل شدند. تعداد لاروهای مرده در ظروف تیمار و شاهد پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت عصاره‌دهی شمارش و ثبت شد. آزمایش براساس طرح پایه کاملاً تصادفی و در شرایط دمایی ۲±۲۸ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و دوره روشنایی - تاریکی ۱۶:۸ انجام شد و پس از انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی، داده‌ها به روش پروبیت تجزیه و تحلیل شدند.

۲. ۵. سنجش‌های فیزیولوژیکی

از لاروهای سن پنجم شب‌پره هندی در انجام آزمایش‌های حاضر استفاده شد. پس از این‌که لاروهای سن پنجم روی یخ بی‌حس شدند، سطح شکمی بدن لارو با قیچی بریده و لوله گوارش با استفاده از پنس جدا شد. زیر میکروسکوپ با احتیاط اندام‌های اضافی و چربی‌ها جدا و درون میکروتیوب قرار گرفت. درون هر میکروتیوب تعداد ۲۰ عدد لوله گوارش کامل قرار داده شد. لازم به ذکر است که میکروتیوب‌ها درون ظرف آب یخ قرار داشتند. برای تهیه عصاره آنزیمی نیاز به هموژنایزکردن نمونه‌ها می‌باشد. برای این منظور از یک هموژنایز دستی که از قبل سرد شده بود، استفاده شد. نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور g ۱۵۰۰۰ برای مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس بخش بالایی میکروتیوب‌ها (رونشین) از بخش ته‌نشین جدا شده و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان بررسی نگه‌داری شدند.

۲. ۶. تعیین pH لوله گوارش آفت

مقدار pH لوله گوارش به‌ویژه روده میانی یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های محیط درونی بدن حشرات است که بر فعالیت آنزیم‌های گوارشی تأثیر می‌گذارد. در بسیاری از حشرات، pH روده میانی با مقدار pH بهینه فعالیت آنزیم‌های آن‌ها متناسب می‌باشد. لذا در پژوهش حاضر pH لوله گوارش شب‌پره هندی نیز تعیین شد.

۲. ۷. تهیه بافر

محیط طبیعی زیست ملکول‌ها و اندامک‌های سلولی به‌شدت از نظر pH تحت کنترل است. کنترل pH و نگه‌داشتن آن در یک نقطه خاص و مقاومت در برابر تغییر pH با کمک بافرها امکان‌پذیر است. بافر Tris-HCl برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم، با غلظت ۵۰ میلی‌مولار تهیه گردید. برای پایین‌آوردن pH از HCl شش مولار استفاده شد (Özgür *et al.*, 2009).

۲. ۸. معرف دی‌نیتروسالیسیلیک اسید

برای تهیه ۱۰۰ میلی‌لیتر از این معرف یک گرم سالیسیلیک‌اسید با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شده و ۳۰ گرم سدیم پتاسیم تارتارات به آن اضافه شد. مخلوط حاصل آن‌قدر به‌هم‌زده شد تا کاملاً یکنواخت شود. سپس ۲۰ میلی‌لیتر از محلول هیدروکسید سدیم ۲ نرمال به آن افزوده و حجم کل با آب مقطر به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد (Mirshekari *et al.*, 2017).

۲. ۹. تعیین فعالیت آنزیم آلفا–آمیلاز

فعالیت آلفاآمیلاز با استفاده از روش‌های Bernfeld (1955) و Baker (1991) با اندکی تغییر سنجیده شد. در این سنجش از محلول نشاسته یک درصد به‌عنوان سوبسترا استفاده شد. واکنش با مقدار ۲۰ میکرولیتر آنزیم، ۱۰ میکرولیتر نشاسته و ۸۰ میکرولیتر بافر انجام شد و به‌مدت ۳۵ دقیقه در حمام بن‌ماری با دمای ۳۸ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. سپس مقدار ۱۰۰ میکرولیتر معرف دی‌نیتروسالیسیلیک‌اسید (DNS) به مجموعه اضافه و برای مدت ۱۰ دقیقه در آب جوش قرار گرفت و جذب در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (Baker, 1991; Bernfeld, 1955).

۲. ۱۰. اندازه‌گیری مقدار پروتئین کل

برای اندازه‌گیری مقدار پروتئین کل از روش Bradford (1976) استفاده شد. بدین ترتیب که بدن یک حشره در ۲۵۰ میکرولیتر آب مقطر با استفاده از یک هموژنایز دستی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد له شده و۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس ۱۰ میکرولیتر محلول رویی با ۵۰۰ میکرولیتر معرف رنگی کوماسی‌بلو درون میکروتیوب مخلوط شد. پس از ۵ دقیقه، جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. این آزمایش در چهار تکرار انجام شد. محاسبه میزان پروتئین با استفاده از منحنی استاندارد صورت گرفت.

۲. ۱۱. تجزیه آماری داده‌ها

آزمایش اثر غلظت‌های مختلف عصاره گلبرگ زعفران در زمان‌های مختلف بر مرگ‌ومیر لاروهای سن پنج شب‌پره هندی در قالب آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی انجام شد. مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. برای تعیین غلظت کشنده (LC_{50}) از روش تجزیه پروبیت استفاده شد. تجزیه داده‌ها با نرم‌افزار آماری SPSS انجام شد.

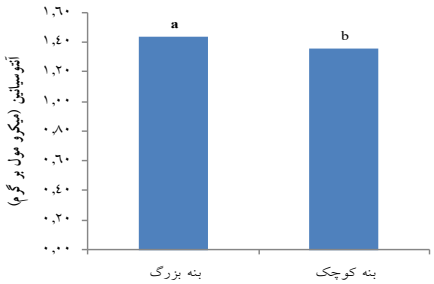
۳. نتایج و بحث

۳. ۱. عصاره گلبرگ زعفران

در ابتدا به‌منظور بررسی کیفیت گلبرگ گل‌های حاصل از بنه‌های بزرگ و کوچک زعفران برای استخراج عصاره گلبرگ، غلظت آنتوسیانین به‌عنوان معیار اساسی اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد غلظت آنتوسیانین گلبرگ در بنه‌های بزرگ ۱/۴۳۷ میکرومول بر گرم وزن گلبرگ و در بنه‌های کوچک ۱/۳۵۸ میکرومول بر گرم وزن گلبرگ بود (شکل ۱). بنابراین از گل‌های بنه‌های بزرگ با غلظت آنتوسیانین بیش‌تر برای استخراج عصاره گلبرگ استفاده شد تا بیش‌ترین تأثیر بر حشرات را داشته باشد.

آنتوسیانین گلبرگ زعفران شاخص مهمی در انتخاب گلبرگ‌های مناسب برای عصاره‌گیری گلبرگ زعفران می‌باشد. زیرا گلبرگ‌های دارای آنتوسیانین بیش‌تر اثرات بیوشیمیایی بیش‌تری در خواص حشره‌کشی زعفران خواهد داشت. آنتوسیانین رنگدانه‌ای فلاونوئیدی است که در واکوئل سلول‌های اپیدرمی گلبرگ‌ها تجمع پیدا می‌کند. این ترکیبات دارای دامنه رنگی از قرمز تا بنفش در گونه‌های مختلف گل بوده و ظاهر بسیار زیبا با الگوهای متفاوتی را ایجاد می‌کند (Meng & Wang, 2004). آنتوسیانین در جذب حشرات برای گرده‌افشانی و پراکنش بذر، محافظت از سلول‌های گیاهی در برابر اشعه ماورای بنفش و به‌عنوان آنتی‌بیوتیک در برابر عوامل بیماری‌زای میکروبی در گیاهان نقش دارد (Chandrasekhar *et al*., 2012). آنتوسیانین‌ها گلیکوزیدهایی دارای یک پایه آگلیکون ناپایدار هستند که چسبیدن قند (گلیکولیزه‌شدن) باعث افزایش پایداری

آن‌ها می‌شود. در اثر هیدرولیز، آنتوسیانین‌ها یک مولکـول قند و حلقه آگلیکون (آنتوسیانیدین) آزاد می‌کنند و آنتوسیانین‌ها براساس تعداد مولکول‌های قند موجود در آن طبقه‌بندی می‌شوند. ۳-گلیکوزید، ۳و ۵- دیگلیکوزیدهای دلفینیدین، سیانیدین و پلارگونیدین آنتوسیانین‌های اصلی در تعیین رنگ می‌باشند (Hasnaoui *et al*., 2011).



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر اندازه بنه[1] زعفران بر میزان آنتوسیانین گلبرگ

ساخته‌شدن آنتوسیانین و تجمع آن در بافت‌های گیاهی تحت تأثیر عامل‌های مختلفی از جمله میزان هیدرات‌های کربن (گلوکز، آرابینوز و گاالکتوز) موجود در بافت‌ها قرار می‌گیرد (Taiz & Zeiger, 2006). به‌عبارت دیگر، توسعهٔ توسعه پیگمان‌های سلول و ساخت آنتوسیانین با بالارفتن میزان کربوهیدرات‌ها نسبت مستقیم داشته و هر عاملی که بتواند روی افزایش، جذب یا ساخته‌شدن قندها مؤثر باشد، باعث افزایش میزان آنتوسیانین کل در گلبرگ‌ها می‌شود (Vitrac *et al*., 2000). حتی از اندازه‌گیری آنتوسیانین می‌توان به‌عنوان شاخصی برای نشان‌دادن شدت تجزیه نشاسته و میزان تجمع قندهای احیاشده به‌واسطه تجزیه طی جوانه‌زنی غده‌های سیب‌زمینی استفاده نمود.

۳. ۲. زیست‌سنجی عصاره

اثر غلظت‌های مختلف عصاره گلبرگ زعفران، زمان‌های در معرض قرارگیری و اثرات متقابل این دو فاکتور در مرگ‌ومیر لاروهای سن پنج شب‌پره هندی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (P<۰/۰۱) (جدول ۱).

جدول ۱. تجزیه واریانس اثرات غلظت‌های مختلف عصاره گلبرگ زعفران روی لاروهای شب‌پره هندی آرد در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت

منبع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات
زمان	۱	۳۳۳۳/۳۳**
غلظت	۵	۴۴۶۳/۳۳**
زمان× غلظت	۵	۲۶۲/۰۸**
اشتباه	۳۶	۲۷/۴۳
کل	۴۷	
ضریب تغییرات (%)	۱۷/۵۷	

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

کم‌ترین میزان مرگ‌ومیر در غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام عصاره گلبرگ زعفران ۱۱/۸۷ درصد بود که با افزایش غلظت عصاره میزان مرگ‌ومیر افزایش یافت، به‌طوری‌که در غلظت ۱۳۸۰ پی‌پی‌ام به ۴۶/۲۵ درصد رسید. بیش‌ترین میزان مرگ‌ومیر در غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام و برابر با ۶۵ درصد بود (جدول ۲).

۱. بنه‌های کوچک به وزن ۵ الی ۸ گرم و بنه‌های بزرگ به وزن ۸ الی ۱۰ گرم بودند.

نتایج حاصل از تجزیه پروبیت مرگ‌ومیر لاروهای شب‌پره هندی در برابر عصاره گلبرگ زعفران در جدول (۳) نشان داده شده است. با توجه به عدم هم‌پوشانی حدود اطمینان‌های مقادیر LC_{50} برآورد شده در زمان‌های ۲۴ ((۳۰۳۵/۰۰۱–۱۸۶۰/۳۰۵) ۲۲۴۴/۹۵۰) و ۴۸ ساعت ((۱۶۷۰/۲۳۶–۱۲۷۵/۹۰۳) ۱۴۳۴/۸۲۸)، اختلاف بین مقادیر مذکور از نظر آماری معنی‌دار است. از طرفی پایین‌بودن مقدار LC_{50} در زمان ۴۸ ساعت نسبت به زمان ۲۴ ساعت نشان می‌دهد که با افزایش زمان میزان حساسیت لاروهای آفت به عصاره گلبرگ زعفران افزایش یافته است.

در پژوهش حاضر از لارو سن آخر (پنجم) شب‌پره هندی برای بررسی سمیت عصاره گلبرگ زعفران استفاده شد. فرض بر این بود که لاروها در این سن نسبت به سایر مراحل لاروی بیش‌تر تحت تأثیر اثر تنفسی عصاره گلبرگ زعفران قرار می‌گیرند. لارو سن آخر برای پیداکردن مکان مناسب برای تبدیل‌شدن به شفیره از داخل غذا و تارهای تنیده‌شده در مراحل قبلی لاروی بیرون می‌آید و تحرک بیش‌تری دارند. لذا بیش‌تر در معرض عصاره گیاهی قرار می‌گیرد. از این‌رو، در پژوهش حاضر از سمیت تدخینی عصاره گلبرگ زعفران در کنترل لارو سن آخر شب‌پره هندی استفاده شد که به‌نظر می‌رسد با آغشته‌کردن دیوارها و سطوح انبارهای نگهداری محصولات غذایی با عصاره‌های گیاهی می‌تواند در کنترل لارو سن آخر شب‌پره هندی آرد مؤثر باشد. نتایج نشان داد که عصاره گلبرگ زعفران روی شب‌پره هندی سمیت تنفسی ایجاد می‌کند. هم‌چنین میزان سمیت تنفسی این عصاره با توجه به افزایش غلظت و مدت زمان قرارگرفتن لاروها در معرض عصاره افزایش یافت. در پژوهش مشابه اثر حشره‌کشی عصاره زنجبیل روی سه گونه سخت‌بالپوش انباری با گذشت زمان و افزایش غلظت عصاره افزایش نشان داد (Park *et al*., 2003). بررسی تأثیر حشره‌کشی عصاره‌های الکلی زبان درقفا، گل استبرق، قیچ، وینکا و عصاره هگزانی برگ استبرق روی لارو سن آخر شب‌پره هندی نشان داد که با افزایش غلظت عصاره‌های الکلی روند مرگ‌ومیر هم افزایش می‌یابد و هم‌چنین میانگین تلفات لاروها تحت تأثیر عصاره گیاهان مختلف دارای اختلاف معنی‌دار بوده و با افزایش غلظت عصاره گیاهی میزان مرگ‌ومیر حشرات تحت تأثیر عصاره‌ها افزایش یافت (Rafiei Kahroudi, 2010).

پایین‌بودن مقادیر LC_{50} محاسبه شده عصاره گلبرگ زعفران پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت نشان می‌دهد که عصاره گلبرگ زعفران دارای سمیت قابل‌توجهی روی لارو شب‌پره هندی می‌باشد. حساسیت شب‌پره هندی آرد به برخی از عصاره‌های گیاهی نیز در سال‌های اخیر بررسی و ثبت شده است (Sanna Passino *et al*., 2004; Hematpoor *et al*., 2017; Lee *et al*., 2020) که نتایج پژوهش حاضر مبنی بر امکان مدیریت این آفت با ترکیبات مستخرج از گیاهان را تأیید می‌کند.

جدول ۲. درصد تلفات لارو شب‌پره هندی آرد در غلظت‌های مختلف عصاره گلبرگ زعفران بعد از ۲٤ و ٤۸ ساعت

غلظت (µl/l)	۲۴ (h)	۴۸ (h)
۵۰۰	۵/۱۷d	۱۱/۸۷e
۶۹۰	۱۶/۰۲c	۲۳/۱۲d
۱۰۰۰	۲۱/۱۱b	۳۵/۰۰c
۱۳۸۰	۲۶/۱۴b	۴۶/۲۵b
۲۰۰۰	۴۸/۳۶a	۶۵/۰۰a

میانگین‌های دارای حروف متفاوت دارای تفاوت معنی‌دار براساس آزمون توکی هستند (P≤۰/۰۰۵).

جدول ۳. نتایج تجزیه پروبیت داده‌های حاصل از سمیت عصاره گلبرگ زعفران روی لاروهای شب‌پره هندی آرد

زمان (h)	LC_{50} (95% Fiducial limits) (ppm)	شیب	عرض از مبدأ	χ^2 (df=3)	P
۲۴	۲۲۴۴/۹۵ (۱۸۶۰/۳۰۵–۳۰۳۵/۰۰۱)	۲/۲۸۵	–۵/۶۵۹	۳/۵۳۷	۰/۳۱۶
۴۸	۱۴۳۴/۸۲۸ (۱۲۷۵/۹۰۳–۱۶۷۰/۲۳۶)	۲/۴۹۲	–۲/۸۶۶	۰/۴۴۹	۰/۹۳۰

۳. ۳. سنجش‌های فیزیولوژیکی

pH لوله گوارش بال‌پولکداران به‌طور عمده قلیایی می‌باشد که روی فعالیت آنزیم‌های موجود در آن تأثیر می‌گذارد. مقدار pH برای لارو سن پنجم شب‌پره هندی آرد برابر با ۹ تعیین شد. فعالیت آنزیم آلفا–آمیلاز در لاروهای تیمارشده با عصاره گلبرگ زعفران در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت. مقدار فعالیت آنزیم آلفا–آمیلاز در سن پنجم لاروی و تحت تأثیر عصاره گلبرگ زعفران برابر با ۸۳/۱۰ درصد مشاهده شد که به‌صورت معنی‌داری کم‌تر از تیمار شاهد بود. میزان مهارکنندگی عصاره گلبرگ زعفران روی آنزیم آلفا–آمیلاز لارو سن پنجم شب‌پره هندی نیز برابر با ۲۱/۸ درصد بود که با شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان می‌دهد (جدول ۴). تأثیر عصاره گلبرگ زعفران روی میزان پروتئین لارو سن پنجم شب‌پره هندی آرد نیز اندازه‌گیری شد. نتیجه نشان داد که میزان پروتئین در تیمار عصاره گلبرگ زعفران برابر با ۱/۱۹ میلی گرم بود که در مقایسه با شاهد (۱/۰۹میلی گرم) افزایش داشت (جدول ۴).

جدول ٤. اثر عصاره گلبرگ زعفران روی فعالیت نسبی و بازدارندگی آنزیم آلفا-آمیلاز و محتوای پروتئینی لوله گوارش لاروهای شب‌پره هندی آرد

تیمار	فعالیت نسبی (%)	بازدارندگی (%)	پروتئین کل (mg)
گلبرگ زعفران	۸۳/۱۰	۲۱/۸۲	۱/۱۹
شاهد	۹۷/۳۱	۰	۱/۰۹

بسیاری از حشرات به‌ویژه آفات مهم انباری که بر روی رژیم غذایی غنی از ساکاریدها زندگی می‌کنند، برای رشد و زندگی به فعالیت آنزیم آلفا–آمیلاز وابسته هستند. پژوهش در مورد هضم مواد نشاسته‌ای به‌عنوان یک هدف برای کنترل حشرات، در سال‌های اخیر موردتوجه قرار گرفته است. به‌ویژه پس از این‌که مهارکننده‌هایی از برخی گیاهان مانند گندم، لوبیا، تاج خروس به‌دست آمد و ضد حشرات به‌کار گرفته شد (Mendiola-Olaya *et al*., 2000; Franco *et al*., 2002). بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم آلفا–آمیلاز در سن پنجم لاروی تحت تأثیر عصاره گلبرگ زعفران برابر با ۸۳/۱ درصد بود. میزان مهارکنندگی عصاره گلبرگ زعفران روی آنزیم آلفا–آمیلاز لارو سن پنجم شب‌پره هندی آرد برابر با ۲۱/۸ درصد بود که اثر بازدارندگی قابل توجه عصاره گلبرگ زعفران روی آنزیم آلفا–آمیلاز این آفت را اثبات می‌کند (جدول ۴). Őzgür *et al*. (2009) بیان نمودند که عصاره برگ گندم دارای اثر مهارکنندگی روی آنزیم آلفا–آمیلاز *Helicoverpa armigera* Hübner است که در راستای نتایج پژوهش حاضر می‌باشد. pH لوله گوارش بال‌پولکداران بیش‌تر به‌صورت قلیایی می‌باشد که روی فعالیت آنزیم‌های موجود در دستگاه گوارش تأثیر می‌گذارد که مقدار pH برای شب‌پره هندی در پژوهش حاضر ۹ تعیین شد که با پژوهش Őzgür *et al*. (2009) که بیان نمودند بهترین فعالیت آلفا–آمیلاز در سایر گونه‌های بال‌پولکداران در pH قلیایی اتفاق می‌افتد، هم‌خوانی دارد.

آنزیم‌های گوارشی آلفا– آمیلاز و پروتئازها می‌توانند هدف خوبی برای کنترل حشرات آفت به‌وسیله مهارکننده‌های پروتئینی موجود در بافت‌های غیر میزبان حشره باشند. بنابراین یکی از جنبه‌های مهم کنترل آفات حشره‌ای، استفاده از خاصیت انتخابی بازدارنده‌های آنزیم‌های گوارشی است که با اختلال در عملکرد آنزیم‌های آفت هدف و اختلال در رشدونمو آن، در موجودات غیر هدف و یا خود گیاه اثر نامطلوبی از خود به جا نگذارد (Borzuei *et al*., 2012). بنابراین یک مهارکننده باید دو ویژگی مهم داشته باشد، اول این که مهارکننده باید در یک غلظت به اندازه کافی پایین و در اسیدیته‌ای که در معده و یا غدد بزاقی حشره یافت می‌شود، فعالیت آنزیم حشره را به میزان قابل‌توجهی مهار کند و ویژگی دیگر این‌که، مهارکننده باید در برابر حمله پروتئازهای کانال گوارشی و غدد بزاقی حشره مقاوم باشد (Valencia

et al., 2000). در حقیقت افزایش میزان پروتئین کل لوله گوارش لاروهای تیمارشده با عصاره گلبرک زعفران در عین بازدارندگی آنزیم آلفا–آمیلاز مؤید همین مطلب می‌باشد.

به‌دلیل وجود اثرات جانبی نامطلوب آفت‌کش‌های شیمیایی، استفاده از ترکیبات مستخرج از گیاهان به‌عنوان عوامل کارآمد و کم‌خطر در کنترل آفات که علاوه بر سمیت حاد دارای اثرات زیر کشندگی متعددی هم می‌باشند، راه‌کار مناسبی برای کنترل حشرات آفت باشند. در پژوهش حاضر علاوه بر سمیت عصاره گلبرک زعفران روی لاروهای شب‌پره هندی آرد، فعالیت بازدارندگی عصاره مذکور روی آنزیم آلفا–آمیلاز آفت قابل‌توجه می‌باشد. با این وجود، انجام پژوهش‌های بیش‌تر در راستای فرمولاسیون‌های با پایداری بالاتر جهت امکان استفاده از عصاره گلبرک زعفران در کنترل شب‌پره هندی آرد و یا آفات مشابه دیگر ضروری به‌نظر می‌رسد.

۴. نتیجه‌گیری

با توجه به سمیت حاد گلبرگ زعفران و خاصیت بازدارندگی آن روی فعالیت آنزیم آلفا–آمیلاز لاروهای شب‌پره هندی آرد، این عصاره می‌تواند به‌عنوان یک ترکیب طبیعی و در عین حال کارآمد برای مدیریت آفت مذکور جهت انجام پژوهش‌های تکمیلی موردتوجه قرار گیرد.

۵. تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی دانشکده فناوری کشاورزی ابوریحان دانشگاه تهران انجام شده است که بدینوسیله تشکر و قدردانی می‌گردد.

۶. تعارض منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

۷. منابع

Ahmad, R., Hassan, S., Ahmad, S., Nighat, S., Devi, Y. K. , Javeed, K., Usmani, S., Ansari, M. J. , Erturk, S., Alkan, M., & Hussain, B. (2021). Stored Grain Pests and Current Advances for Their Management. In M. Ahiduzzaman (Ed.), *Postharvest Technology-Recent Advances, New Perspectives and Applications*. IntechOpen. https://doi.org/10.5772/intechopen.101503

Akbar, W., Lord, J. C., Nechols, J. R., & Loughin, T. M. (2005). Efficacy of *Beauveria bassiana* for red flour beetle when applied with plant essential oils or in mineral oil and organosilicone carriers. *Journal of Economic Entomology, 98*(3), 683-688.

Akbari, G. A., Sadeghi, R., Mirzaei, M., Jamshidnia, A., & Ebadollahi, A. (2021). Toxicity and enzymatic-changes efficiency of pistachio peel and basil essential oils against *Plodia interpunctella* (hűbner) larvae. *Entomological News*, *130(1),* 34-46.

Bagheri-Zenouz, E. (2007). *Pests of stored products and management to maintain*. Tehran: University of Tehran Press. (In Persian)

Baker, J. E. (1991). Purification and partial characterization of α-amylase allozymes from the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica*. *Insect Biochemistry, 21*, 303-311.

Bernfeld, P. (1955). Amylases, α and β. *Method Enzyme, 1*, 149-158.

Borzuei, E., Bandani, A. R., & Moslemi, A. (2012). Effect of inhibitory extract of wheat cultivars on activity of enzyme alpha-amylase of Colorado beetle. *Research of plant pests, 2(4)*, 16-26.

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry, 72*, 248-254.

Chandrasekhar, J., Madhusudhan, M., & Raghavarao, K. (2012). Extraction of anthocyanins from red cabbage and purification using adsorption. *Food and Bioproducts Processing, 90 (4),* 615-623.

Ebadollahi, A., & Mahdavi, V. (2019). Insecticidal effects of Moldavian dragonhead, *Dracocephalum moldavica*, essential oil on the parasitoid wasp *Habrobracon hebetor* and its hosts *Anagasta kuehniella* and *Plodia interpunctella*. *Plant Pest Research, 9(2),* 49-61.

Ebadollahi, A., Ziaee M., & Palla, F. (2020). Essential oils extracted from different species of the Lamiaceae plant family as prospective bioagents against several detrimental pests. *Molecules, 25,* 1556.

El-Shafei, W. K. M., Zinhoum R.A., and Hussain, H. B. H. 2018. Biology and control of Indian meal moth, *Plodia interpunctella* (Hubner) (Lepidoptera: Pyralidae) infesting stored date, almond and peanut fruits. *Journal of Plant Protection and Pathology, Mansoura University, 9 (9),* 595-600.

Franco, O. L., Rigden, D. J., Melo, F. R. and Grossi-de-Sa, M. F. (2002). Plant alpha-amylase inhibitors and their interaction with insect a-amylases structure, function and potential for crop protection. *European Journal of Biochemistry, 269,* 397-412.

Hasnaoui, N., Jbir, R., Mars, M., Trifi, M., Kamal-Eldin, A., Melgarejo, P., & Hernandez, F. (2011). Organic acids, sugars, and anthocyanins contents in juices of Tunisian pomegranate fruits. *International Journal of Food Properties, 14,* 741–757.

Hematpoor, A., Liew, S., Azirun, M., & Awang K. (2017). Insecticidal activity and the mechanism of action of three phenylpropanoids isolated from the roots of *Piper sarmentosum* Roxb. *Scientific Report, 7,* 12576.

Isman, M. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection,* 19(8), 603-608.

Isman, M. B. (2006). Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology, 51,* 45-66.

Isman, M. B., & Grieneisen, M. L. (2014). Botanical insecticide research: Many publications, limited useful data. *Trends in Plant Science, 19,* 140-145.

Isman, M. B., Miresmailli, S., & Machial, C. (2011). Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. *Phytochemical Review, 10,* 197-204.

Jbilou, R., Ennabili, A., & Sayah, F. (2006). Insecticidal activity of four medicinal plant extracts against *Tribolium castaneum* (Herbst.) (Coleoptera: Tenebrionidae). *African Journal of Biotechnology, 5(10),* 936-940.

Lee, H. E., Hong, S. J., Hasan, N., Baek, E. J., Kim, J. T., Kim, Y. D., & Park, M. K. (2020). Repellent efficacy of essential oils and plant extracts against *Tribolium castaneum* and *Plodia interpunctella*. *Entomological Research, 50,* 450-459.

Mahfuz, I., & Khalequzzaman, M. (2007). Contact and fumigant toxicity of essential oils against *Callosobruchus maculatus. University Journal of Zoology Rajshahi University Bangladesh, 26,* 63-66.

Mahmud, M. K., Khan, M. M. H., Husain, M., Alam, M. I., & Afrad, M. S. I. (2002). Toxic effects of different plant oils on pulse beetle *Callosobruchus chinensis* L. (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of the Asiatic Society of Bangladesh Science, 28(1),* 11-18.

Mendiola-Olaya, E., Valencia-Jimenez, A., Valdes- Rodriguez, S., Delano-Frier, J., & Blanco-labra, A. (2000). Digestive amylase from the larger grain borer, *Prostephanus truncatus* Horn. *Comparative Biochemistry and Physiology, 126,* 425-433.

Meng, X., & Wang, X. (2004). Relation of flower development and anthocyanin accumulation in Gerbera hybrida. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, *79,* 131-137.

Mirshekari, M., Einali, A., & Valizadeh, J. (2017). Physiological and biochemical responses of *Hibiscus sabdariffa* to drought stress in the presence of salicylic acid. *Iranian Journal of Plant Biology, 32,* 21-38. (In Persian)

Modares-Najafabadi, S. (2002). Evaluation of stored pests damage to wheat and barley in Sistan region. In: Proceeding of *15th Iranian Plant Protection Congress*, 6-10 Sep., Razi University, Kermanshah, Iran, p. 289.

Mohandass, S., Arthur, F. H., Zuh, K.Y., & Throne, J. E. (2007). Biology and management of *Plodia interpunctella* in stored products. *Journal of Stored Products Research, 43,* 302-311.

Őzgür, E., Yücel, M., & Őktem, H. A. (2009). Identification and characterization of hydrolytic enzymes from the midgut of the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* Hubner (Lepidoptera: Noctuidae). *Turkish Journal of Agriculture, 33,* 285-294.

Park, C., Kin, S., & Ahn, Y. J. (2003). Insecticidal activity of asarones identified in *Acorus gramineus* rhizome against three coleopteran stored-product insects. *Journal of Stored Products Research, 39(3),* 333-342.

Rafiei-Kahroudi, Z. (2010). *Evaluation of Insecticidal effect of essential oils and multiple extracts of medicinal plants on some biological properties of Plodia interpunctella (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae)*. Ph. D. dissertation, Arak branch, Islamic Azad University, Arak.

Sait, S. M., Begon, M., Thompson, D. J., Harvey, J. A., & Hails, R. S. (1997). Factors affecting host selection in an insect host-parasitoid interaction. *Ecological Entomology, 2,* 225-230.

Sanna Passino, G., Bazzoni, E., & Moretti, M. D. L. (2004). Microencapsulated essential oils active against indianmeal moth. *Boletin de Sanidad Vegetal Plagas, 30,* 125-132.

Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). *Plant Physiology.* 4th edition. Publishers Sunderland, Massachusetts, U.S.A.

Valencia, A., Bustillo, A. E., Ossa, G. E., & Chrispeels, M. J. (2000). A-amylase of the coffee berry borer (Hypothenemus hampei) and their inhibition by two plant amylase inhibitors. *Insect Biochemistry and Molecular Biology, 30,* 207-213.

Vitrac, X., Larronde, F., Krisa, S., Decendit, A., Deffieux, G., & Mérillon, J.M. (2000). Sugar sensing and Ca^{2+}–calmodulin requirement in Vitis vinifera cells producing anthocyanins. *Phytochemistry, 53,* 659-665.

Wagner, G.J. (1979). Content and vacuole/extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids and anthocyanins in protoplasts. *Plant Physiolog, 64,* 88-93.

Wang, J. J., Tsai, J. H., Ding, W., Zhao, Z. M., & Li, L. S. (2001). Toxic effects of six oils alone and in combination with controlled atmosphere on *Liposcelis bostrychophila* (Psocoptera: Liposcelididae). *Journal of Economic Entomology, 94(5),* 1296-1301.