Research Article

Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research
Vol. 40, No. 3, Page 506-520 (2024)

DOI:10.22092/IJMAPR.2024.131924

Effects of two botanical pesticides on second instar larvae and adult of *Hypera postica* Gyllenhal (Col.: Curculionidae) in laboratory and field conditions

Elena Hosseini[1], Shahram Aramideh[2*] and Abass Hosseinzadeh[3]

1- Ph.D. student in Entomology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
2*- Corresponding author, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran
E-mail: Sh.aramideh@urmia.ac.ir
3- Department of Plant Protection, Mahabad Branch, Islamic Azad University, Mahabad, Iran

Received: September 2023 Revised: January 2024 Accepted: February 2024

Abstract

Background and objectives: Alfalfa, *Medicago sativa* L. from the leguminous family, is among the best fodder plants due to its richness in protein, calcium, vitamins, palatability, and low percentage of cellulose, which is called green gold. Alfalfa is the first crop that was domesticated and cultivated as fodder. Alfalfa leaf weevil, *Hypera postica* Gyllenhal, is one of the important pests of alfalfa fields in Iran. Its main damage is related to the larval stage, caused by feeding on the plant leaves, especially in the first cut. The most common method of controlling this pest is using chemical pesticides, which cause pesticide residues, the death of natural enemies, resistance, environmental pollution, and the emergence of secondary pests. Therefore, research is necessary today to replace other compounds, such as botanical pesticides. In this research, the effects of Neemarin extracted from the neem plant (*Azadirachta indica* A. Juss) and Matrine extracted from *Sophora flavescens* (Ait.) on second instar larvae and adult insects of alfalfa weevils were investigated in laboratory and field conditions.

Methodology: Laboratory studies were conducted in a completely randomized design, and field evaluation was conducted in the form of completely randomized blocks in the spring of 2023 in Naghadeh City. The botanical insecticide Matrine, with its commercial form on Rui Agro and Neemarin extracted from the neem plant, was used in the experiments. Bioassays were performed on the second instar larvae and adults by immersing the host leaf in the concentrations of both compounds, and the mortality was recorded 24 and 48 hours after the treatment. After determining the LC50 and LC25 of Matrine and Neemarin, their mixed effects on second-instar larvae and adult insects were evaluated. This study used treatments including LC50 Matrine, LC50Neemarin, LC25 Neemarin + LC25 Matrine, and the control treatment on second instar larvae and adults. Also, the effect of sublethal concentration (LC25) on metamorphosis (transformation of the larval stage to pupa and transformation of the pupal stage to the adult insect) was studied. The field experiments were analyzed in three alfalfa fields treated with Neemarin (2000, 3000, and 4000 ppm), Matrine (200, 400, and 600 ppm), and control (water). Each treatment was evaluated in three repetitions using the Henderson-Tilton method.

Results: The results of probit analysis showed that calculated LC_{50} of the two botanical insecticides, Neemarin and Matrine on adult insects and second instar larvae of alfalfa after 48 hours were 544.65, 50.23, 45.86 and 3.76 ppm, respectively. Also, the effect of LC_{25} of both biopesticides showed that the greatest inhibition in the transformation of larva to pupa is related

Copyright: © 2024 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (http://ijmapr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

to Neemarin (30%) and in the transformation of pupa to adult is related to Matrine (51.50%). In the field experiments, the highest mortality in adults was observed in the concentration of 600 ppm Matrine with 53.33% and in the second instar larvae related Neemarin (2000 ppm) with 27.33% mortality.

Conclusion: These investigations showed that Matrine pesticide has a higher lethality effect than Neemarin in laboratory and field conditions on adults and second-instar larvae of alfalfa leaf weevil. The effect of a sublethal dose of Neemarin on pest metamorphosis was more effective. Therefore, both pesticides can be used to manage this important pest.

Keywords: Growth inhibition, lethality, non-chemical control, alfalfa.

اثر دو آفت‌کش گیاهی روی لارو سن دوم و حشره کامل سرخرطومی برگ یونجه (*Hypera postica* Gyllenhal, Col.: Curculionidae) در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه‌ای

النا حسینی[۱]، شهرام آرمیده[*۲] و عباس حسین‌زاده[۳]

۱- دانشجوی دکترای حشره‌شناسی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

۲*- نویسنده مسئول، دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران، پست الکترونیک: Sh.aramideh@urmia.ac.ir

۳- استادیار، گروه گیاه‌پزشکی، واحد مهاباد، دانشگاه آزاد اسلامی، مهاباد، ایران

تاریخ دریافت: مهر ۱۴۰۲ تاریخ اصلاح نهایی: دی ۱۴۰۲ تاریخ پذیرش: بهمن ۱۴۰۲

چکیده

سابقه و هدف: یونجه (*Medicago sativa* L.) از تیره لگومینوز به علت غنی بودن از لحاظ پروتئین، کلسیم، ویتامین‌ها، خوش خوراکی و درصد کم سلولز در ردیف بهترین گیاهان علوفه‌ای است که به آن طلای سبز می‌گویند. یونجه اولین گیاه زراعی است که اهلی و به‌عنوان علوفه کشت شده است. سرخرطومی برگ یونجه (*Hypera postica* Gyllenhal) از آفات مهم مزارع یونجه در ایران است. خسارت عمده آن مربوط به مرحله لاروی با تغذیه از برگ‌ها به ویژه در چین اول می‌باشد. رایج‌ترین روش مبارزه با این آفت، استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی است که موجب ایجاد باقیمانده آفت‌کش‌ها، مرگ دشمنان طبیعی، ایجاد مقاومت، آلودگی محیط زیست و پیدایش آفات ثانویه می‌گردد، ازاین‌رو امروزه تحقیقات در جهت جایگزینی سایر ترکیبات مانند آفت‌کش‌های گیاهی بسیار ضروریست. در این تحقیق اثر نیمارین مستخرج از گیاه چریش (*Azadirachta indica* A .Juss) و ماترین مستخرج از گیاه تلخ بیان، (*Sophora flavescens* Ait.) روی لاروهای سن دوم و حشرات کامل سرخرطومی برگ یونجه در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه‌ای بررسی شد.

مواد و روش‌ها: بررسی‌های آزمایشگاهی در قالب طرح کرت‌های کاملاً تصادفی و ارزیابی مزرعه‌ای در طرح در قالب بلوک‌های کامل تصادفی در بهار ۱۴۰۲ در شهرستان نقده انجام شد. حشره‌کش گیاهی ماترین با فرم تجاری روی آگرو و عصاره گیاه چریش با فرم تجاری نیمارین در آزمایش‌ها بکار برده شد. زیست‌سنجی روی لارو سن دوم و حشرات کامل سرخرطومی برگ یونجه به روش غوطه‌ورسازی برگ میزبان در غلظت‌های هر دو ترکیب انجام شد و شمارش تلفات ۲۴ و ۴۸ ساعت بعد از تیمار انجام گردید. بعد از تعیین LC_{50} و LC_{25} ماترین و نیمارین اثر اختلاط آنها روی لاروهای سن دوم و حشرات کامل ارزیابی شد. در این بررسی، غلظت‌های LC_{50} ماترین، LC_{50} نیمارین، LC_{25} نیمارین+ LC_{25} ماترین به‌همراه تیمار شاهد روی سن دوم لاروی و حشرات کامل استفاده گردید. همچنین تأثیر دوز زیرکشنده (LC_{25}) روی دگردیسی (تبدیل مرحله لاروی به شفیره و تبدیل مرحله شفیرگی به حشره کامل) بررسی شد. آزمایش‌های مزرعه‌ای، در سه مزرعه یونجه تحت تیمارهای نیمارین در غلظت‌های (۲۰۰۰، ۳۰۰۰ و ۴۰۰۰ppm)، ماترین در غلظت‌های (۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ppm) و شاهد (آب) انجام گردید و هر تیمار در سه تکرار به روش هندرسون- تیلتون ارزیابی آنالیز شد .

نتایج: نتایج تجزیه پروبیت نشان داد بعد از ۴۸ ساعت میزان LC_{50} محاسبه شده دو آفت‌کش گیاهی نیمارین و ماترین روی حشرات کامل و لاروهای سن دوم سرخرطومی برگ یونجه به ترتیب ۵۴۴/۶۵، ۵۰/۲۳، ۴۵/۸۶ و ۳/۷۶ppm بدست آمد. همچنین تأثیر LC_{25} هر دو آفت‌کش نشان داد که بیشترین بازدارندگی در تبدیل لارو به شفیره مربوط به تیمار نیمارین ۳۰٪ و در تبدیل شفیره به حشره کامل مربوط به ماترین ۵۱/۵۰٪ بود. در آزمایش‌های مزرعه‌ای بیشترین میزان تلفات روی حشرات کامل در غلظت ۶۰۰ppm ماترین با ۵۳/۳۳٪ و در لاروهای سن دوم مربوط به غلظت ۲۰۰۰ppm نیمارین با ۲۷/۳۳٪ مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: نتایج این بررسی‌ها نشان داد که آفت‌کش ماترین در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه‌ای قدرت کشندگی بالاتری در مقایسه با آفت‌کش نیمارین روی حشرات کامل و لاروهای سن دوم سرخرطومی برگ یونجه دارد و تأثیر دوز زیرکشنده نیمارین در دگردیسی آفت مؤثرتر بود، ازاین‌رو می‌توان از هر دو آفت‌کش در مدیریت تلفیقی این آفت مهم استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: بازدارندگی رشد، کشندگی، کنترل غیرشیمیایی، یونجه.

مقدمه

یونجه (*Medicago sativa* L.) از مهمترین گیاهان علوفه‌ای است که در مناطق وسیعی از جهان و ایران کشت می‌شود (Ahmadi *et al.*, 2019؛ Delgado & Lloveras, 2020). این گیاه به‌وسیله طیف وسیعی از آفات مورد حمله قرار می‌گیرد (Blodgett *et al.*, 2004). سرخرطومی برگ یونجه (*Hypera postica* Gyllenhal) یکی از مخرب‌ترین آفات یونجه در بیشتر نقاط دنیا بوده و منحصراً از گیاهان لگومینوز جنس Medicago تغذیه می‌کند. این آفت اگر کنترل نشود خسارت زیادی را به لحاظ کمّی و کیفی به چین‌های اول و دوم یونجه وارد می‌کند (Goosey, 2012). بیشترین خسارت این آفت مربوط به لاروهای آن است کـه در آلودگی‌های شدید باعث برگ‌ریزی و کاهش شدید محصول در چین اول می‌شوند. مزارع شدیداً آلوده شده ممکن است سفید یا نقره‌ای با تعداد زیادی از برگ‌های مشبک یا کاملاً خورده شده به نظر برسند (Saeidi & Moharramipour, 2017). استفاده از حشره‌کش‌های شیمیایی برای کنترل این آفت، با از بین بردن دشمنان طبیعی و حشرات مفید، آلودگی محیط‌زیست و وارد شدن حشره‌کش‌ها در زنجیره غذایی، مشکلات موجود را دو چندان کرده است. به همین دلیل، در سال‌های اخیر استفاده از روش‌های غیر شیمیایی کنترل آفات مانند استفاده از آفت‌کش‌های گیاهی در قالب مدیریت تلفیقی آفات بسیار مورد توجه قرار گرفته است (Lopez *et al.*, 2005).

چریش (*Azadirachta indiaca* Juss A.) گیاهی است با خواص حشره‌کشی که به دلیل تأثیرات حشره‌کشی بیشترین مطالعه روی آن انجام شده است، این گیاه حاوی آزادیراختین است که باعث مهار تغذیه، اختلال در رشد مراحل نابالغ، کاهش زادآوری و باروری بالغین، تغییرات رفتاری، ناهنجاری‌های سلولی و مرگ و میر تخم، لارو و بالغین می‌شود (Boeke *et al.*, 2004). گونه‌های مختلف گیاه چریش دارای چندین ترکیب ترپنی و گوگردی مختلف هستند که بعضی از این ترکیب‌ها خاصیت سمّی داشته و می‌توانند به شکل‌های مختلف در حشرات ایجاد مسمومیت نمایند و به‌صورت فرمولاسیون‌های تجاری مختلف به بازار عرضه شوند. ازجمله فرمولاسیون‌های تولید شده می‌توان به Azatin، Ackook، Nemidin، Nimbecidin، Neemark، Repelin، NeemAzal و Kofa اشاره کرد (Nikakhtar *et al.*, 2022).

ماترین یک آلکالوئید کینولیزیدین است که از ریشه گیاه *Sophora flavescens* Ait. گرفته شده است (Mao & Henderson, 2007). این آفت‌کش دارای عملکرد تماسی و گوارشی است (Akdeniz & Ozmen, 2011). نیمه عمر آلکالوئید ماترین هفت روز است، یعنی نسبتاً سریع در محیط تجزیه می‌شود (Xiang *et al.*, 2012). در سال‌های اخیر، ماترین به صورت مجزا یا مخلوط با سایر عصاره‌های گیاهی برای کنترل آفات استفاده شده است (Amirfanak *et al.*, 2023). تحقیقات اثبات کرده است که اکسی ماترین در اثر اکسیداسیون ماترین تولید شده و از طریق اثر روی گیرنده‌های نیکوتینی استیل‌کولین در حشرات عمل می‌کند (Liu *et al.*, 2008). این آفت‌کش فاقد اثر سیتوتوکسیک و ژنوتوکسیک روی گیاهان است، بنابراین می‌توان آن را به‌عنوان یک آفت‌کش طبیعی پیشنهاد کرد (Akdeniz & Ozmen, 2011). همچنین اکسی ماترین اثرهای جزئی بر فعالیت استیل‌کولین استراز موش‌های آلبینو دارد (El-Sayed *et al.*, 2010).

ازاین‌رو، با توجه به اهمیت گیاه یونجه در جیره غذایی دام و لزوم کاهش مصرف حشره‌کش‌های شیمیایی در کنترل سرخرطومی برگ یونجه، در این تحقیق اثر فرم تجاری دو آفت‌کش گیاهی تحت عنوان نیمارین و ماترین روی حشرات کامل و لارو سن دوم سرخرطومی برگ یونجه در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه‌ای بررسی شد.

مواد و روش‌ها

پرورش لاروهای سرخرطومی برگ یونجه

لاروهای سرخرطومی برگ یونجه از مزارع یونجه آلوده به این آفت در فروردین سال ۱۴۰۲ واقع در حاشیه شهرستان نقده (38S 534194.88N, 4087273.01E) که عملیات سمپاشی انجام نشده بود، جمع‌آوری و به آزمایشگاه حشره‌شناسی دانشگاه ارومیه منتقل شد. لاروها درون ظروف پلاستیکی بـه ابعاد ۲۰×۱۰×۵ سانتی‌متری که درب آنها به منظور تهویه سوراخ و با توری مسدود شده بود، منتقل شدند. برای تغذیه لاروها از جوانه‌های یونجه جمع‌آوری شده از مزارع یونجه در شهرستان نقده استفاده شد. به منظور حفظ طراوت، جوانه‌ها درون لوله‌های شیشه‌ای حاوی آب قرار داده شد و اطراف ساقه‌ها با پنبه مسدود گردید. ظروف به داخل ژرمیناتور با دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۶۵٪ منتقل شده تا لاروها رشد خود را کامل کرده و به حشره کامل تبدیل شوند.

حشره‌کش‌های گیاهی مورد استفاده در تحقیق

ماترین با نام تجاری روی آگرو (Rui Agro)، حشره‌کشی تماسی و گوارشی فرآورده عصاره ریشه گیاه تلخ‌بیان (*Sophora flavescens* Ait.) ساخت کشور چین زیر نظر شرکت Ecocert فرانسه است که با اثر بر سیستم عصبی و تنفسی موجب مرگ آفات می‌شود. این فرآورده توسط مؤسسات بین‌المللی برای کشت‌های ارگانیک در اروپا پذیرفته شده است (Amirfanak *et al.*, 2023). حشره‌کش گیاهی نیمارین (Neemarin EC15%) عصاره گیاهی چریش (*Azadirachta indica* Juss A.) حاوی ترکیب آزادیراختین ساخت کشور هندوستان است که از مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور تهیه گردید. حشره‌کش نیمارین دارای اثر ضد تغذیه‌ای بوده و روی پوست‌اندازی حشرات تأثیر دارد (Kumar *et al.*, 2005).

آزمایش‌های زیست‌سنجی در شرایط آزمایشگاهی

زیست‌سنجی روی حشرات کامل و لاروهای سن دوم سرخرطومی برگ یونجه

ابتدا یک مجموعه آزمایش‌های مقدماتی به منظور بدست آوردن غلظت‌های حداقل و حداکثر (۸۰-۲۰٪) حشره‌کش‌های مورد استفاده، روی حشرات کامل و لاروهای سن دوم سرخرطومی برگ یونجه انجام شد. براساس نتایج حاصل از آزمایش‌ها، پنج غلظت به‌صورت لگاریتمی برای هر حشره‌کش به همراه تیمار شاهد برای آزمایش نهایی انتخاب شد (Robertson *et al.*, 2007). غلظت‌های مورد استفاده ماترین ۳/۱۲۵، ۱۴/۸۴، ۲۶/۵۶، ۳۸/۲۸ و ۵۰/۰۰ppm و نیمارین ۵۰/۰۰، ۱۳۷/۵۰، ۲۲۵/۰۰، ۳۱۲/۵۰ و ۴۰۰/۰۰ppm بودند. برای کم تحرک شدن، حشرات کامل و لاروهای سن دوم به مدت دو دقیقه در دمای ۴ درجه سیلسیوس قرار گرفتند. همچنین برگ‌های جوان یونجه به مدت ۲۰ ثانیه در هر یک از تیمارها غوطه‌ور گردیدند و در شرایط آزمایشگاه به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شدند تا کاملاً خشک شوند. سپس برگ‌های تیمار شده به درون پتری‌دیش‌هایی به قطر دهانه ۹ و ارتفاع ۱/۵ سانتی‌متری که درب آنها به منظور تهویه سوراخ و توسط توری ارگانزا پوشانده شده بود، منتقل شدند. تعداد ۱۰ عدد حشره کامل و لارو سن دوم داخل هر پتری‌دیش انتقال یافت. سپس پتری‌دیش‌ها به ژرمیناتور با دمای ۲±۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۶۵٪ منتقل شدند. با گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت از زمان تیمار، تعداد لاروها و حشرات زنده و مرده در هر تیمار شمارش و ثبت شد. لاروها و حشراتی که با وجود تحریک با سوزن داغ پس از گذشت ۵ ثانیه قادر به راه رفتن نبودند مرده تلقی

شدند. این آزمایش در ۴ تکرار انجام شد. برای ارزیابی سمّیت، شاخص سمّیت (Toxicity index) و سمّیت نسبی (Relative potency) روی حشرات کامل و لاروهای سن دوم سرخرطومی برگ یونجه از رابطه‌های ۱ و ۲ استفاده شد (Sun, 1950).

رابطه $$\text{سمّیت نسبی} = \left(\frac{\text{LC50 کم‌اثرترین‌سم}}{\text{LC50 ترکیب‌دیگر}}\right)$$

رابطه ۲ $$\text{شاخص سمّیت} = \left(\frac{\text{LC50 قوی‌ترین‌سم}}{\text{LC50 ترکیب‌دیگر}}\right) \times 100$$

بررسی تأثیر اختلاط نیمارین و ماترین روی حشرات کامل و لاروهای سن دوم

بعد از زیست‌سنجی و تعیین LC_{50} و LC_{25} ماترین و نیمارین، اثر اختلاط آنها روی حشرات کامل و لاروهای سن دوم ارزیابی گردید. در این روش مقادیر هر یک از اختلاط‌ها براساس LC_{50} و LC_{25} با استفاده از سمپلر جدا شد و به‌صورت تیمارهایی شامل LC_{50} ماترین، LC_{50} نیمارین و LC_{25} نیمارین+ LC_{25} ماترین به همراه تیمار شاهد، هر تیمار در سه تکرار روی مرحله سن دوم لاروی و حشره کامل استفاده شد. سپس نتایج حاصل از تأثیر غلظت‌های مختلف هر ترکیب بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت یادداشت گردید.

تأثیر دوز زیرکشنده (LC_{25}) در دگردیسی آفت

در این آزمایش لاروهای سن دوم سرخرطومی برگ یونجه از جوانه‌ها و برگ‌های شاداب آغشته به دوز زیرکشنده (LC_{25}) دو آفت‌کش گیاهی ماترین و نیمارین تغذیه کردند و میزان تبدیل مرحله لاروی به شفیره و تبدیل مرحله شفیرگی به حشره کامل رصد و ثبت شد.

آزمایش‌های مزرعه‌ای

به منظور انجام آزمایش‌های مزرعه‌ای، سه مزرعه یونجه در شهرستان نقده با فاصله ۳۰۰ متر از همدیگر و با مختصات (38S 534194.88N, 4087273.01E)، (38S 533571.40N, 4086899.36E) و (38S 533416.93N, 4086253.44E) انتخاب شد. در بهار ۱۴۰۲ در هر مزرعه کرت‌هایی در ابعاد ۴×۵ مترمربع ایجاد شد. براساس نتایج آزمایش‌های مقدماتی، تیمارهای نیمارین در غلظت‌های ۲۰۰۰، ۳۰۰۰ و ۴۰۰۰ppm، ماترین در غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰ و ۶۰۰ppm و شاهد (آب) و هر تیمار در سه تکرار در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی ارزیابی گردیدند. جمعیت لاروهای زنده و حشرات کامل سرخرطومی برگ یونجه در تمام بلوک‌ها با نمونه‌برداری تصادفی تعداد ۵ بوته از هر کرت جمع‌آوری و پس از قرار دادن درون کیسه‌های پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل و تعداد حشرات کامل و لاروهای سرخرطومی برگ یونجه شمارش شدند. سپس محلول‌های سموم تهیه و با استفاده از سمپاش پشتی موتوری لانسدار مجهز بـه نازل مخروطی محلول‌پاشی گردید. بعد از ۳، ۷ و ۹ روز بعد از محلول‌پاشی (DAT= Day After Treatments) حشرات کامل و لاروهای زنده به روش تصادفی در تمامی بلوک‌ها تخمین زده شد. برای تعیین درصد کارآیی اصلاح شده در کاربرد سموم، با توجه به ناهمگن بودن جمعیت در تیمارهای مختلف از رابطه هندرسون–تیلتون استفاده شد (رابطه ۳) (Henderson and Tilton, 1955؛ Talebi-Jahromi, 2008).

رابطه ۳

$$\text{درصد تلفات} = \{1-[(Cb\times Ta) \div (Ca\times Tb)]\} \times 100$$

در این فرمول Tb= میانگین تعداد آفت در قطعه تیمار قبل از آزمایش، Ta= میانگین تعداد آفت در قطعه تیمار بعد از آزمایش، Cb= میانگین تعداد آفت در قطعه شاهد قبل از آزمایش و Ca= میانگین تعداد آفت در قطعه شاهد بعد از آزمایش می‌باشد.

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

بررسی‌های آزمایشگاهی در قالب طرح کرت‌های کاملاً تصادفی و آزمایش‌های مزرعه‌ای در قالب طرح بلوک‌های

کامل تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SPSS و روش General Linear Model-Univariate (GLM) تجزیه‌وتحلیل شدند. به منظور تعیین کشندگی سموم در آزمایشگاه، داده‌های حاصل از مرگ و میر لاروها بعد از اصلاح با رابطه آبوت (Abbott, 1925) به روش تجزیه پروبیت آنالیز و مقادیر LC_{50} و LC_{25} محاسبه شد (رابطه ۴).

رابطه ۴

$$\text{درصد مرگ ومیر} = \left(\frac{\text{تلفات شاهد} - \text{تلفات تیمار}}{\text{تلفات شاهد}}\right) \times 100$$

همچنین برای ارزیابی معنی‌داری تأثیر دوز زیرکشنده (LC_{25}) روی تبدیل مرحله لاروی به شفیره و تبدیل مرحله شفیرگی به حشره کامل از تجزیه واریانس یک‌طرفه Anova و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی استفاده شد. برای تجزیه‌وتحلیل آزمایش‌های مزرعه‌ای بعد از اصلاح داده‌های مرگ و میر تیمارها براساس تلفات تیمار شاهد با استفاده از رابطه هندرسون- تیلتون، درصد کارایی عوامل در اثر تیمارهای مختلف و معنی‌دار بودن تیمارها به روش GLM و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی، توسط نرم‌افزار SPSS Ver. 22 انجام شد (Talebi-Jahromi, 2008).

نتایج

تعیین کشندگی

نتایج حاصل از تجزیه پروبیت تأثیر غلظت‌های مختلف نیمارین و ماترین بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت روی حشرات کامل و لاروهای سن دوم سرخرطومی یونجه در جدول‌های ۱ و ۲ ارائه شده است. با توجه به سمّیت نسبی و شاخص سمّیت بر پایه LC_{50} حاصل از آفت‌کش‌های گیاهی، معلوم شد که ماترین دارای سمّیت بیشتری نسبت به نیمارین می‌باشد. همچنین سمّیت این دو حشره‌کش روی مرحله حشره کامل نیز بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت نتایج مشابهی را نشان داد (جدول ۱ و ۲).

جدول ۱- تجزیه پروبیت اثرکشندگی حشره‌کش‌های نیمارین و ماترین روی حشرات کامل سرخرطومی برگ یونجه (*Hypera postica*) بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت در شرایط آزمایشگاهی

Table 1. Probit analysis of Neemarin® and Matrine® insecticides lethal effects on *Hypera postica* adults after 24 and 48 hours under laboratory conditions

Treatment	Concentration (ppm)	Time (h)	Slope ± SE	Intercepts + 5	χ2 (d.f.)	LC_{25} (95% CLs)	LC_{50} (95% CLs)	Toxicity index (%)	Relative potency
Neemarin	50.00 137.50 225.00 312.50 400.00 Control	24	0.916 ± 0.33	-2.388 + 5	0.818 (3)	74.04 (7.22-130.19)	403.12 (230.56-3883.56)	19.61	1
		48	0.459 ± 0.32	-1.256 + 5	0.495 (3)	18.50 (13.13-23.00)	544.65 (247.64-3980.18)	9.22	1
Matrine	3.125 14.84 26.56	24	1.275 ± 0.328	-2.420 + 5	0.485 (3)	23.39 (114.76-43.84)	79.06 (42.60-398.10)	100	5.09
	38.28 50.00 Control	48	0.900 ± 0.267	-1.531 + 5	1.227 (3)	8.94 (3.12-15.58)	50.23 (26.19-343.66)	100	10.84

χ2 (d.f.): Chi Square (degree of freedom), LC: Lethal concentration, CLs: Confidence Limits

جدول ۲- تجزیه پروبیت اثر کشندگی حشره‌کش‌های نیمارین و ماترین روی لاروهای سن دوم سرخرطومی برگ یونجه (*Hypera postica*) بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت در شرایط آزمایشگاهی

Table 2. Probit analysis of Neemarin® and Matrine® insecticides lethal effects on *Hypera postica* second instar larvae after 24 and 48 hours under laboratory conditions

Treatment	Concentration (ppm)	Time (h)	Slope ± SE	Intercepts + 5	χ2 (d.f.)	LC_{25} (95% CLs)	LC_{50} (95% CLs)	Toxicity index (%)	Relative potency
Neemarin	50.00 137.50 225.00 312.50 400.00 Control	24	1.07 ± 0.33	-1.917 + 5	2.136 (3)	14.45 (0.37-37.70)	61.64 (13.52-103.03)	11.78	1
		48	1.83 ± 0.39	-3.039 + 5	6.515 (3)	19.62 (12.33-22.10)	45.86 (29.33-50.00)	8.19	1
Matrine	3.125 14.84 26.56 38.28 50.00 Control	24	1.32 ± 0.27	-1.140 + 5	1.008 (3)	2.25 (0.69-3.94)	7.26 (4.22-10.56)	100	8.49
		48	2.14 ± 0.41	-1.233 + 5	1.149 (3)	1.82 (0.77-2.83)	3.76 (2.27-5.11)	100	12.19

χ2 (d.f.): Chi Square (degree of freedom), LC: Lethal concentration, CLs: Confidence Limits

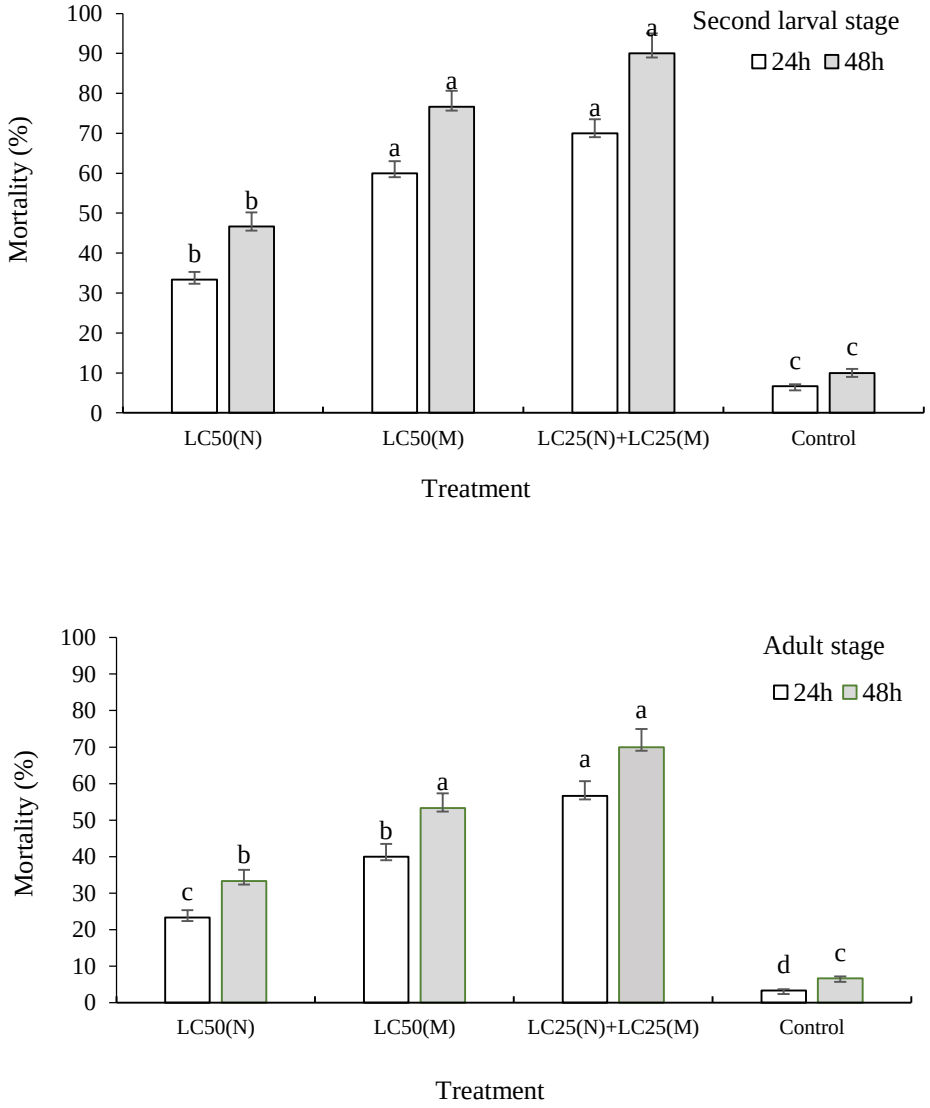
بررسی تأثیر اختلاط حشره‌کش‌های نیمارین و ماترین روی لارو سن دوم و حشره کامل

نتایج حاصل از تجزیه آماری تأثیر تیمارهای نیمارین $LC_{50}(N)$، ماترین $LC_{50}(M)$، $LC_{25}(N)+ LC_{25}(M)$ و تیمار شاهد روی مرحله لارو سن دوم و حشره کامل سرخرطومی برگ یونجه بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت نشان داد که در سطح اطمینان ۹۹٪ بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($F_{3, 8}$= 90.87; P= 0.001)، ($F_{3, 8}$= 58.33; P= 0.001)، ($F_{3, 8}$= 62.56; P= 0.001) و ($F_{3, 8}$= 44.61; P= 0.001) (شکل ۱).

با توجه به نتایج تأثیر تیمار ترکیبی نیمارین و ماترین روی لارو سن دوم و حشره کامل سرخرطومی برگ یونجه، بیشترین درصد کنترلی بعد از ۴۸ ساعت در هر دو مرحله مربوط به تیمار اختلاط آفت‌کش نیمارین با ماترین و تیمار ماترین می‌باشد (شکل ۱).

بررسی تأثیر دوز زیرکشنده (LC_{25}) روی دگردیسی آفت

نتایج حاصل از تجزیه آماری دوز زیرکشنده نیمارین، ماترین و تیمار شاهد روی تبدیل مرحله لاروی به شفیره و شفیرگی به حشره کامل نشان داد که در سطح اطمینان ۹۹٪ بین اثر نیمارین، ماترین و تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($F_{2, 6}$= 22.33; P= 0.001) و ($F_{2, 6}$= 8.11; P= 0.001) (شکل ۲).

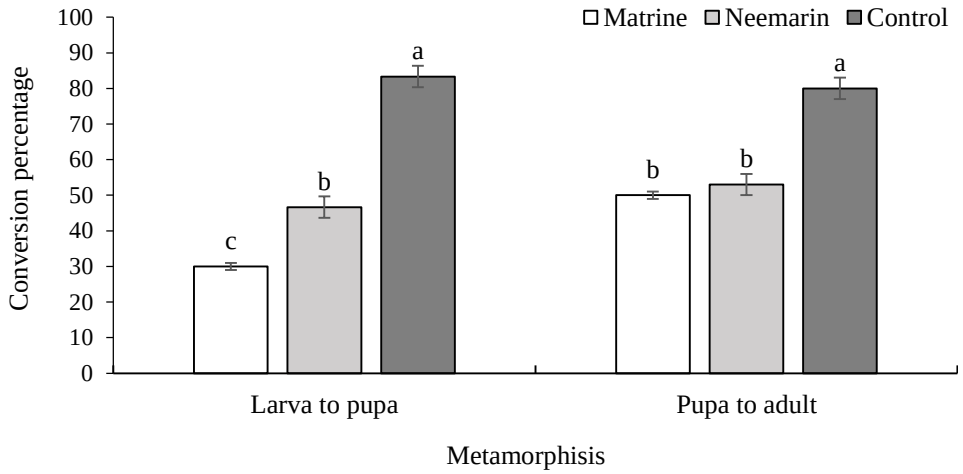


شکل ۱- مقایسه میانگین تأثیر اختلاط حشره‌کش‌های نیمارین و ماترین بر تلفات لاروهای سن دوم و حشرات کامل سرخرطومی برگ یونجه (*Hypera postica*) در شرایط آزمایشگاهی

Figure 1. Means comparison of combining Neemarin® and Matrine® insecticides effects on mortality of second instar larvae and adults of *Hypera postica* under laboratory conditions

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Tukey test); N: Neemarin® insecticide, M: Matrine® insecticide, LC: Lethal concentration

با توجه به نتایج تأثیر غلظت زیرکشنده نیمارین و ماترین روی تبدیل لارو به شفیره و شفیره به حشره کامل، بیشترین میزان بازدارندگی در تبدیل لارو به شفیره مربوط به تیمار نیمارین و در تبدیل شفیره به حشره کامل مربوط به نیمارین و ماترین مشاهده شد (شکل ۲).



شکل ۲- مقایسه میانگین تأثیر حشره‌کش‌های نیمارین و ماترین بر میزان تبدیل مرحله لاروی به مرحله شفیرگی و مرحله شفیرگی به مرحله حشره کامل سرخرطومی برگ یونجه (***Hypera postica***) در شرایط آزمایشگاهی

Figure 2. Means comparison of Neemarin® and Matrine® insecticides effects on conversion rate of larval to pupal and pupal to adult stages of *Hypera postica* under laboratory conditions

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Tukey test).

جدول ۳- مقایسه میانگین تأثیر حشره‌کش‌های نیمارین و ماترین بر تلفات حشرات کامل سرخرطومی برگ یونجه (***Hypera postica***) بعد از ۳، ۷ و ۹ روز در شرایط آزمایشگاهی

Table 3. Means comparison of Neemarin® and Matrine® insecticides effects on mortality of *Hypera postica* adults after 3, 7, and 9 days under laboratory conditions

Treatment	Recommended concentration (ppm)	Mortality percentage ± SE (day after treatment)			Average
		3	7	9	
Neemarin	2000	25.00 ± 2.11^{d}	26.67 ± 2.41^{e}	30.33 ± 2.81^{c}	27.33
Neemarin	3000	27.67 ± 2.45^{cd}	30.67 ± 2.74^{cd}	33.67 ± 3.09^{c}	30.67
Neemarin	4000	31.33 ± 3.33^{c}	33.67 ± 2.91^{c}	37.33 ± 3.31^{c}	34.11
Matrine	200	37.67 ± 3.60^{b}	43.33 ± 3.06^{b}	46.67 ± 3.84^{b}	42.56
Matrine	400	38.67 ± 3.69^{b}	45.00 ± 3.21^{b}	49.67 ± 4.01^{b}	44.45
Matrine	600	47.33 ± 4.00^{a}	52.67 ± 3.58^{a}	60.00 ± 4.28^{a}	53.33
F (5, 18)	-	203.39	294.53	375.92	-
P value	-	0.001	0.001	0.001	-

In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Tukey test); F (df_e, df_t): F-test (error degrees of freedom, total degrees of freedom)

آزمایش‌های مزرعه‌ای

تأثیر نیمارین و ماترین روی حشره کامل سرخرطومی برگ یونجه

تجزیه واریانس حاصل از تأثیر تیمارهای سه غلظت نیمارین و ماترین روی حشره کامل سرخرطومی برگ یونجه در شرایط مزرعه‌ای ۳، ۷ و ۹ روز بعد از محلول‌پاشی، به‌ترتیب ($F_{2, 18}$= 11.72; *P*= 0.20)، ($F_{2, 18}$=0.50; P= 0.84) و ($F_{2, 18}$= 1.72; P= 0.81) برآورد شد و عدم معنی‌داری بلوک و فرض همگنی واریانس‌ها محقق گردید (P>0.05). با توجه به معنی‌داری تیمارها، مقایسه میانگین

تأثیر تیمارها روی حشره کامل سرخرطومی برگ یونجه با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۹۵٪ مطابق جدول ۳ حاصل شد. در تمام روزهای بعد از محلول پاشی، بیشترین و کمترین تلفات روی حشرات کامل مربوط به تیمارهای ماترین با غلظت ۶۰۰ppm و نیمارین با غلظت ۲۰۰۰ppm بود (جدول ۳).

تأثیر نیمارین و ماترین روی مرحله لاروی سرخرطومی برگ یونجه

تجزیه واریانس حاصل از تأثیر تیمارهای سه غلظت نیمارین و ماترین روی سن دوم لاروی سرخرطومی برگ یونجه در شرایط مزرعه‌ای ۳، ۷ و ۹ روز بعد از محلول‌پاشی به‌ترتیب ($F_{2, 18}$= 16.17; P= 0.94)، ($F_{2, 18}$= 6.17; P= 0.37) و ($F_{2, 18}$= 8.72; P= 0.16) برآورد شد و عدم معنی‌داری بلوک و فرض همگنی واریانس‌ها محقق گردید (P>0.05). با توجه به معنی‌داری تیمارها، مقایسه میانگین تأثیر تیمارها روی مرحله لاروی با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۹۵٪ مطابق جدول ۴ حاصل شد. در تمام روزهای بعد از محلول‌پاشی، بیشترین و کمترین تلفات روی لاروهای سرخرطومی برگ یونجه مربوط به تیمارهای ماترین با غلظت ۶۰۰ppm و نیمارین با غلظت ۲۰۰۰ppm بود (جدول ۴).

جدول ۴- مقایسه میانگین تأثیر حشره‌کش‌های نیمارین و ماترین بر تلفات لاروهای سن دوم سرخرطومی برگ یونجه (*Hypera postica*) بعد از ۳، ۷ و ۹ روز در شرایط آزمایشگاهی

Table 4. Means comparison of Neemarin® and Matrine® insecticides effects on mortality of *Hypera postica* second instar larvae after 3, 7, and 9 days under laboratory conditions

Treatment	Recommended concentration (ppm)	Mortality percentage ± SE (day after treatment)			Average
		3	7	9	
Neemarin	2000	33.33 ± 1.14^{d}	41.66 ± 1.36^{e}	48.67 ± 1.15^{d}	41.22
Neemarin	3000	38.00 ± 2.14^{d}	46.67 ± 1.45^{cd}	57.33 ± 1.35^{c}	47.41
Neemarin	4000	46.66 ± 3.10^{b}	53.33 ± 2.20^{c}	60.33 ± 1.60^{c}	53.44
Matrine	200	52.33 ± 3.24^{b}	61.67 ± 2.40^{b}	68.33 ± 2.02^{b}	60.78
Matrine	400	58.33 ± 3.33^{a}	65.33 ± 3.11^{ab}	71.67 ± 2.12^{b}	65.11
Matrine	600	60.33 ± 4.11^{a}	70.33 ± 3.25^{a}	95.00 ± 3.01^{a}	75.22
F (5, 18)	-	356.63	373.70	768.89	-
P value	-	0.001	0.001	0.001	-

In each column, means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Tukey test); F (df_e, df_t): F-test (error degrees of freedom, total degrees of freedom)

بحث

روش‌های مختلفی برای مدیریت سرخرطومی برگ یونجه در ایران پیشنهاد شده است اما به نظر می‌رسد بهترین و مؤثرترین روش، استفاده از ترکیباتی است که ضمن کنترل مؤثر آفت، دارای کمترین اثر سوء برای دشمنان طبیعی و محیط زیست در قالب مدیریت تلفیقی باشند. حشره‌کش‌های گیاهی مورد استفاده در این بررسی، موجب تلفات زیادی در جمعیت سرخرطومی برگ یونجه شدند. این نتایج با یافته‌های بدست آمده از بررسی‌های بعمل آمده (Khanjani & Pourmirza, 2004؛ Khanjani, 2012؛ Moradi Vajargah *et al.*, 2013) مطابقت دارد. ازجمله گیاهان دارای خواص حشره‌کشی سازگار با محیط زیست، درخت چریش است که بین گیاهان مختلف، ظرفیت حشره‌کشی بالایی دارد و از آن برای ساخت آفت‌کش‌های گیاهی زیادی استفاده می‌شود (Copping & Duke, 2007). قرار دادن حشرات کامل در معرض آزادیراختین به روش‌های موضعی، سطحی یا تغذیه‌ای می‌تواند زادآوری و باروری را در راسته‌های مختلف حشرات به ویژه بال پولک‌داران کاهش دهد (Seljasen & Meadow, 2006). در تحقیقی تأثیر

عصاره گیاهی چریش (*Azadirachta indica*) روی سرخرطومی برگ یونجه، در مقایسه با عصاره خرزهره و اکالیپتوس مرگ و میر بیشتری در لاروها (۷۳/۳۳٪ پس از ۴ روز) و حشرات کامل (۹۶/۶۶٪ پس از ۸ روز) ایجاد کرد (Neima & Mustafa, 2016). همچنین در تحقیقی دیگر با استفاده از چند ترکیب با منشأ بیولوژیک، نتیجه گرفتند که فرمولاسیونی از آزادیراختین سمّیت متوسطی نسبت به سایر ترکیبات به‌ویژه اسپینوساد روی لاروهای سن دوم سرخرطومی برگ یونجه دارد (Reddy *et al*., 2016). استفاده از ترکیب‌های گیاهی مانند پودر حنا در اختلاط با ترکیب ضدتغذیه‌ای آزادیراختین از طریق ایجاد زخم در دستگاه گوارش شب‌پره شمشاد باعث افزایش مرگ و میر قابل توجه این آفت می‌شود (Kouhjani-Gorji *et al*., 2018). نتایج کاربرد آزادیراختین برای کنترل آفت جنگلی جوانه‌خوار صنوبر (*Choristoneura fumiferana* Clemens) نشان داد که تغذیه لاروها از غلظت‌های کشنده این ترکیب باعث مرگ و میر زیاد لاروها شد (Helson *et al*., 2001).

Ahmadi و همکاران (۲۰۲۰) کارایی استفاده از فرمولاسیون چریش، نیمارین و متالدئید را روی لیسک (*Agriolimax agrestis* L.) در شرایط آزمایشگاهی و گلخانه‌ای بررسی کردند. نتایج آنان نشان داد که متالدئید با ایجاد ۹۵/۷۵٪ تلفات در جمعیت لیسک در مقایسه با چریش و نیمارین عملکرد بهتری داشت (Ahmadi *et al*., 2020). نیمارین کمترین میزان سمّیت را برای پستانداران دارد و به راحتی تجزیه می‌شود، دارای اثرهای انتخابی روی دشمنان طبیعی آفات بوده و هیچ گونه مقاومت در آفات دیده نشده است (Khater, 2012). در بررسی ترکیب عصاره گیاه چریش و زیتون تلخ، نتایج نشان داد که عصاره چریش و زیتون تلخ خاصیت کنه‌کشی دارند (Sarraf Moayeri *et al*., 2015). نتایج حاصل از تأثیر باکتری باسیلوس تورینجینسیس (*Bacillus thuringiensis*) و آفت‌کش گیاهی آزادیراختین و اثرهای متقابل آنها در کنترل پروانه سفید آمریکایی (*Hyphantria cunea* Drury) نشان داد که اثر متقابل باکتری *Bt* با آزادیراختین اثر افزایشی دارد و می‌توان از مخلوط آزادیراختین و *Bt* در برنامه مدیریت تلفیقی این آفت استفاده کرد (Oftadeh *et al*., 2016). بررسی‌ها نشان داد حشره‌کش‌های اسپینوساد، ماترین و سیرومازین با بیش از ۹۵٪ مرگ و میر بیشترین تأثیر را روی مراحل مختلف لاروی (به‌ویژه سنین اولیه لاروی) مگس مینوز سبزی و جالیز (*Liriomyza sativae* Blanchard) داشتند. همچنین نتایج نشان داد که در بین حشره‌کش‌های مورد آزمایش، ماترین تنها حشره‌کشی بود که غلظت بالای آن در مرحله شفیرگی بیشترین تلفات را ایجاد کرد. به نظر می‌رسد این حشره‌کش نه تنها روی سیستم عصبی آفت مگس مینوز بلکه ممکن است در فیزیولوژی لارو نیز مؤثر باشد (Asghari Tabari *et al*., 2009). به‌نحوی که با نتایج این تحقیق در تأثیر ماترین و چریش در کاهش میزان تبدیل شفیره به حشره کامل مطابقت نشان می‌دهد.

در بررسی فراسنجه‌های جدول زیستی شته مومی کلم (*Brevicoryne brassicae* L.) تحت تأثیر غلظت زیرکشنده حشره‌کش ماترین در شرایط آزمایشگاهی، نتایج نشان داد که این حشره‌کش اثر کشنده و زیرکشنده قابل ملاحظه‌ای روی شته مومی کلم دارد. ازاین‌رو حشره‌کش گیاهی ماترین می‌تواند در برنامه‌های مدیریت تلفیقی شته مومی کلم نیز مورد توجه قرار گیرد (Amirfanak *et al*., 2023). در بررسی اثرهای کشندگی ماترین روی تریپس گل غربی (*Frankliniella occidentalis* Pergande) مقدار LC_{50} آن برای این آفت ۳۴/۹۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر بدست آمد (Kordestani *et al*., 2021). نتایج تحقیقی نشان داد که حشره‌کش ماترین می‌تواند به‌عنوان جایگزینی برای حشره‌کش‌های شیمیایی در ادغام با سن شکارگر (Fieber *Orius laevigatus*) برای کنترل آفات استفاده شود (Kordestani *et al*., 2022).

در یک بررسی، مقایسه کارایی حشره‌کش ماترین با حشره‌کش‌های مالاتیون و هگزافلومرون در کنترل سوسک برگ‌خوار غلات (*Lema melanopa* L.) در شرایط

مزرعه‌ای نشان داد که ماترین توانایی کنترل این آفت را همانند حشره‌کش پر خطر مالاتیون داشته و می‌تواند جایگزین بسیار مناسبی برای آن باشد و با توجه به اینکه منشأ ماترین از عصاره گیاه تلخ‌بیان است، تأثیر سوء اندکی روی محیط زیست دارد (Sharifi *et al*., 2020). نتایج بررسی کشندگی یک فرمولاسیون براساس ماترین در برزیل نشان داد که تأثیر کنه‌کشی آن روی کنه قرمز مرکبات (*Panonychus citri* McGregor) حدود ۱۰ تا ۱۰۰ برابر بیشتر از تأثیر حشره‌کشی آن روی شپشه ذرت (*Sitophilus zeamais* Motschulsky)، کرم برگ‌خوار پاییزه (*Spodoptera frugiperda* Smith) و پسیل آسیایی مرکبات (*Diaphornia citri* Kuwayama) بود (Zanardi *et al*., 2015). در بررسی حساسیت سوسک گرده‌خوار کلزا (*Meligethes aeneus* F.) به حشره‌کش‌های ماترین، آزادیراختین، آلفاسایپرمترین و ایمیداکلوپراید در شرایط آزمایشگاهی، نتایج نشان داد که میزان مرگ و میر در آلفاسایپرمترین بیشتر از سایر آفت‌کش‌های بکار رفته در این آزمایش بود. همچنین حشره‌کش‌های گیاهی ماترین و آزادیراختین روی این آفت اثر قابل قبولی داشتند و با توجه به امن بودن این حشره‌کش‌ها برای حفظ محیط زیست و حشرات مفید، توصیه می‌شود از این حشره‌کش‌ها در کنترل این آفت استفاده شود (Akbari Nodehi *et al*., 2023).

به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی، می‌توان بیان کرد که براساس نتایج این بررسی، آفت‌کش ماترین در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه‌ای قدرت کشندگی بالاتری در مقایسه با آفت‌کش نیمارین روی حشرات کامل و لاروهای سن دوم سرخرطومی برگ یونجه داشت و تأثیر دوز زیرکشنده نیمارین در دگردیسی آفت و مؤثرتر بود، و ازاین‌رو می‌توان از هر دو آفت‌کش در مدیریت تلفیقی این آفت مهم استفاده کرد.

سپاسگزاری

از خانم دکتر ایوبی به دلیل کمک در آنالیز و ویرایش این مقاله، نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

References

- Abbott, W.S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology, 18: 265-267.
- Ahmadi, E., GholamzadehChitgar, M., Majib Hagh Aghdam, Z. and Heidari, A., 2020. Efficacy of the EC formulations of Neem (1.28%) and Neemarin® (1%) on slug *Agriolimax agrestis* in laboratory and greenhouse conditions. Plant Pest Research, 10(3): 61-76.
- Ahmadi, K., Ebadzadeh, H., Hatemi, F., Abdshah, H. and Kazemyan, A., 2019. Agricultural statistics of 2017-2018. Crop production. Information and Communication Technology Center, Deputy of Programing and Economics, Ministry of Jihad-e-Agriculture, Tehran, Iran. (In Persian)
- Akbari Nodehi, N., Mohammadi Sharif, M., Mousavi Toghani, S.Y. and Shayanmehr, M., 2023. The susceptibility of rapeseed *Pollen beetle* (Meligethes aeneus F.) to azadirachtin, alphacypermetrin, matrine and imidacloprid in laboratory and field conditions. Plant Pest Research (A Quarterly Journal), 13(2): 1-17.
- Akdeniz, D. and Ozmen, A., 2011. Antimitotic effects of the biopesticide oxymatrine. Caryologia, 64: 117-120.
- Amirfanak, V., Safavi, S.A. and Forouzan, M., 2023. Study on the life table parameters of the cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae) influenced by sublethal concentrations of the matrine. Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture), 45(4): 19-35.
- Asghari-Tabari, B., Sheikhi-Gorjan, A., Shojaei, M., Rajabi, M.Z. and Yousefi-Porshekoh, A., 2009. Susceptibility of three developmental stages of *Liriomyza sativa* Blanchard (Dip.: Agromyzidae) to biorational insecticides in vitro conditions. Journal of Entomological Research, 1(1): 23-34.
- Blodgett, S.L. and Lenssen, A.W., 2004. Distribution of alfalfa weevil (Coeloptera: Curculionidae) larvae among post cutting locations. Journal of Economic Entomology, 97: 1319-1322.
- Boeke, S.J., Boersma, M.G., Alink, G.M., van Loon, J.J., van Huis, A., Dicke, M. and Rietjens, I.M.,

2004. Safety evaluation of neem (*Azadirachta indica*) derived pesticides. Journal of Ethnopharmacology, 94: 25-41.
- Copping, L.G. and Duke, S.O., 2007. Natural products that have been used commercially as crop protection agents. Pest Management Science, 63(6): 524-554.
- Delgado, I. and Lloveras, J., 2020. Historia y distribución de la alfalfa, 17-32. In: Lloveras, J., Delgado, I. and Chocarro, C. (Eds.). La Alfalfa-Agronomía Y Utilización, Edicions de la Universitat de Lleida. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón. Lleida-Zaragoza, 368p.
- El-Sayed, S., Shalaby, M., El-Sayed, A. and El-Mageed, M.A., 2010. Biochemical targets affected by subacute doses of new pesticide mixtures tested on albino rats. Journal of Plant Protection Research, 50: 513-519.
- Goosey, H.B., 2012. A degree-day model of sheep grazing influence on alfalfa weevil and crop characteristic. Journal of Economic Entomology, 105: 102-112.
- Helson, B.V., Lyons, D.B. and Wanner, K.W., 2001. Control of conifer defoliators with neem-based systemic bioinsecticides using a novel injection device. The Canadian Entomologist, 133(5): 729- 744.
- Henderson, C.F. and Tilton, E.W., 1955. Tests with acaricides against the brown wheat mite. Journal of Economic Entomology, 48: 157-161.
- Khanjani, M. and Pourmirza, A.A., 2004. A comparison of various control methods of alfalfa weevil, *Hypera postica* (Col.: Curculionidae) in Hamadan. Journal of Entomological Society of Iran, 1: 67-81.
- Khanjani, M., 2012. Field Crop Pests in Iran (Insects and Mites). 6th ed, Hamedan, Iran, Bu-Ali Sina University Publication. 729p. (In Persian)
- Khater, H.F., 2012. Prospects of botanical biopesticides in insect pest management. Pharmacologia, 3(12): 641-656.
- Kordestani, M., Mahdian, K., Baniameri, V. and Sheikhi Garjan, A., 2021. Lethal and sublethal effects of proteus, matrine, and pyridayl on *Frankliella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae). Environmental Entomology, 50(2): 1137-1144.
- Kordestani, M., Mahdian, K., Baniameri, V. and Sheikhi Garjan, A., 2022. Proteus, Matrine, and Pyridalyl toxicity and their sublethal effects on *Qrius laevigatus* (Hemiptera: Anthocoridae). Journal of Economic Entomology, 115(2): 573-581.
- Kouhjani-Gorji, M., Farashiani, M.E., Farahani, S., Kazerani, F. and Ahangaran, I., 2018. The effect of botanical pesticide *Azadirachtin* and its combination with Henna on bux moth, *Cydalima perspectalis* Walker (Lep: Crambidae). Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 26(4): 542-550.
- Kumar, P., Poehling, H.M. and Borgemeister, C., 2005. Effects of different application methods of azadirachtin against sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci* Gennadius (Homoptera: Aleyrodidae) on tomato plants. Journal of Applied Entomology, 129: 489-497.
- Liu, L., Alam, M.S., Hirata, K., Matsuda, K. and Ozoe, Y., 2008. Actions of quinolizidine alkaloids on *Periplaneta americana* nicotinic acetylcholine receptors. Pest Management Science, 64: 1222-1228.
- Lopez, O., Fernandez-Bolanos, J.G. and Gil, M.V., 2005. New trends in pest control: the search for greener insecticides. Green Chemistry Journal, 7: 431-442.
- Moradi Vajargah, M., Rafiee-Dastjerdi, H., Golizadeh, A., Hassanpour, M. and Naseri, B., 2013. Laboratory toxicity and field efficacy of lufenuron, dinotefuran and thiamethoxam against *Hypera postica* (Gyllenhal) (Coleoptera: Curculionidae). Munis Entomology and Zoology, 8(1): 448-457.
- Neima, H.A. and Mustafa, R.A., 2016. Insecticidal effect of some plant extracts on the alfalfa weevil *Hypera postica* (Col.: Curculionidae). Journal of Entomology and Zoology Studies, 4(6): 545-549.
- Nikakhtar, S., Aramideh, Sh., Mirfakhraie, Sh. and Frouzan, M., 2022. Effect of three commercial formulations includes Nimbecidine, NeemAzal T/S and Kofa from plant compound of neem on the biological stages of *Trialeurodes vaporariorum* (Hem.: Aleyrodidae) and its parasitoid, *Encarsia formosa*. Plant Pest Research, 12(1): 59-72.
- Oftadeh, M., Jalali Sanadi, J. and Valizadeh, B., 2016. The effect of *Bacillus thuringiensis* bacteria and *Azadirachtin* insecticide and their mutual effects in controlling the American white butterfly (*Hyphantria cunea* Drury). 22nd Iranian Plant Protection Congress, UT, Karaj, IRAN, 234-238.
- Reddy, G.V.P., Antwi, F.B., Shrestha, G. and Kuriwada, T., 2016. Evaluation of toxicity of biorational insecticides against larvae of the alfalfa weevil. Toxicology Reports, 3: 473-480.
- Robertson, J.L., Russell, R.M., Preisler, H.K. and Savin, N.E., 2007. Bioassays with arthropods. Boca Raton, CRC Press, 199p.
- Saeidi, M. and Moharramipour, S., 2017. Physiology of cold hardiness, seasonal fluctuations and cryoprotectant contents in overwintering adults of *Hypera postica* (Coleoptera: Curculionidae). Environmental Entomology, 46: 960-966.

- Sarraf Moayeri, H.R., Pirayeshfar, F., Azizian, N. and Bolandnazar, A.R., 2015. Acaricidal effect of some formulated compositions based on cinabery extract and herbal essential oils on the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 31(1): 102-114.
- Seljasen, R. and Meadow, R., 2006. Effects of neem on oviposition and egg and larval development of *Mamestra brassicae* L.: Dose response, residual activity, repellent effect and systemic activity in cabbage plants. Crop Protection, 25: 338-345.
- Sharifi, M., Mobasheri, M.T., GHaderi, K. and Shahkoii, S.M., 2020. Comparing the efficacy of new insecticide on agro with Malathion and Hexafluorene insecticides to control the cereal leaf beetle *Lema melanopa* (Col.: Chrysomelidae) in field conditions. Iranian Journal of Entomological Research, 45(1): 51-60.
- Sun, Y.P., 1950. Toxicity indexes an improved method of comparing the relative toxicity of insecticides. Journal of Economic Entomology, 43: 45-53.
- Talebi-Jahromi, K., 2008. Pesticide Toxicology. Tehran University Press, 4th ed, 507p. (In Persian)
- Zanardi, O.Z., Ribeiro, L.D.P., Ansante, T.F., Santos, M.S., Bordini, G.P., Yamamoto, P.T. and Vendramim, J.D., 2015. Bioactivity of a matrine-based biopesticide against four pest species of agricultural importance. Crop Protection, 67: 160-167.