مجله پژوهش‌های پنبه ایران
جلد هفتم، شماره دوم، ۱۳۹۸
۱-۲۲
www.jcri.ir

اثرات تغذیه‌ای کیتوزان روی لاروهای سنین سوم و پنجم کرم غوزه پنبه، *Helicoverpa armigera* (Lep.; Noctuidae)

سمیرا کمری حاجی‌شوره[۱]، محسن یزدانیان[۲*]، محمدحسن سرایلو[۲]

[۱]دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد حشره‌شناسی کشاورزی، گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

[۲]به‌ترتیب استادیار و دانشیار گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۱۹ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۰/۱۹

چکیده

در این تحقیق اثرات تغذیه‌ای دو نوع کیتوزان به‌روش گوارشی و با استفاده از دزهای مختلف کیتوزان مخلوط شده با غذای مصنوعی بررسی شد. آزمایش‌ها در شرایط آزمایشگاهی (دمای ۲±۲۷ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۷۰ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی به ۸ ساعت تاریکی) در شش دز ۰، ۲/۵، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ گرم بر کیلوگرم غذای مصنوعی روی لاروهای سنین سوم و پنجم این آفت انجام شدند و مرگ‌ومیر لاروها، و اثرات ضدرشدی و ضدتغذیه‌ای بررسی گردیدند. به دلیل این که طول دوره لاروی سنین سوم و پنجم این حشره در تحقیق حاضر دو روز بود، آزمایش‌ها طی دو روز تغذیه انجام شدند. براساس نتایج، مرگ‌ومیر لاروهای سنین سوم و پنجم طی دو روز تغذیه حتی از دز ۱۰ گرم بر کیلوگرم هر دو نوع کیتوزان مشاهده نشد. با وجود استفاده از دزهای بالای ۶، ۸ و ۱۰ گرم بر کیلوگرم و برخلاف آنچه مورد انتظار بود، تغذیه لاروهای سنین سوم و پنجم کرم غوزه پنبه از دزهای مختلف هر دو نوع کیتوزان در تعدادی از لاروهای هر تکرار باعث تحریک و در تعدادی باعث بازداشته شدن رشد و تغذیه آن‌ها شد. به طور کلی، هر دو نوع کیتوزان بازدارنده رشد و تحریک‌کننده تغذیه لاروهای سن سوم، و تحریک‌کننده رشد و تحریک‌کننده تغذیه لاروهای سن پنجم بودند. نتایج این تحقیق نشان داد که برای درک کامل‌تر اثرات کیتوزان و مشتقات آن روی مرگ‌ومیر و رشد و تغذیه لاروهای حشرات به بررسی‌های بسیار بیشتری روی انواع گروه‌های تاکسونومیک آفات و نیز آنزیم‌های گوارشی آن‌ها نیاز می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: کرم غوزه پنبه، *Helicoverpa armigera*، کیتوزان، رشد، تغذیه.

---

*نویسنده مسئول: mohsenyazdanian@gau.ac.ir

مقدمه

کرم غوزه پنبه *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lep.; Noctuidae)، در ایران اولین بار در سال ۱۳۱۷ توسط افشار گزارش شد. این حشره جدی‌ترین آفت ۱۸۱ گونه گیاهی متعلق به ۴۵ تیره است. این حشره آفتی همه‌جازی است که در اکثر مناطق پنبه‌کاری ایران مانند گرگان، گنبد، دشت مغان، کرمان و فارس انتشار دارد (خانجانی، ۲۰۰۴). چندین‌خوار بودن این آفت به همراه قدرت حرکت زیاد، نرخ زنده‌مانی بالا در شرایط نامساعد، قابلیت تکمیل چندین نسل در سال و میزان بالای مقاوم شدن به حشره‌کش‌ها، مدیریت آن را بسیار دشوار ساخته است (سنچال نونس و همکاران، ۲۰۱۷؛ فنگ و همکاران، ۲۰۰۵). به‌دلیل چندین‌خوار بودن کرم غوزه‌ی پنبه در طبیعت، این آفت به بیش از ۷۰ نوع گیاه زراعی خسارت می‌زند ولی خسارت اقتصادی آن اغلب روی محصولاتی مانند پنبه، نخود، سبزیجات، سورگوم، ذرت، آفتابگردان، بادام زمینی و غیره صورت می‌گیرد (ساریتا گائور، ۲۰۰۷). برای مبارزه با این آفت از حشره‌کش‌هایی مانند تیودیکارب، ایندوکساکارب، تیاکلوپرید، دلتامترین و بسیاری از سموم دیگر استفاده می‌شود (طالبی جهرمی، ۲۰۰۷). استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی برای کنترل چنین آفاتی، موجب بروز خطرات بالفعل برای پستانداران و موجودات غیرهدف، آلودگی‌های زیست‌محیطی و مقاوم شدن آفات گردیده است. به همین دلیل، امروزه تمایل زیادی وجود دارد تا پتانسیل سایر ترکیباتی که احتمالا دارای اثر حشره‌کشی می‌باشند، مورد بررسی قرار گیرد. از بین این مواد، کیتوزان می‌تواند به عنوان یک ترکیب موثر، جایگزین مناسبی برای طیف گسترده‌ای از حشره‌کش‌های شیمیایی رایج تلقی شود، زیرا دارای اثر حشره‌کشی و میکروب‌کشی می‌باشد، برای مهره‌داران و انسان غیرسمی است و در طبیعت به آسانی تجزیه می‌شود (بداوی، ۲۰۰۸؛ بداوی و الاسود ۲۰۱۲).

کیتوزان با نام شیمیایی β-D(1-4)-2-amino-2-deoxy-α-glucan از دِاستیله شدن (حذف گروه‌های استیل) کیتین به دست می‌آید (نوری و همکاران، ۲۰۱۶؛ کما و همکاران، ۲۰۰۲؛ دوتا و همکاران، ۲۰۰۴). اگر کیتین در مجاورت محلول هیدروکسید سدیم غلیظ قرار گیرد، گروه‌های آمینواستیل به عامل‌های آمینی ($-NH_2$) تبدیل می‌شوند (کین و تانو، ۲۰۱۰؛ دوتا و همکاران، ۲۰۰۴). طی این واکنش، یک مشتق مهم و بنیادی به نام کیتوزان به‌دست می‌آید که از لحاظ شیمیایی دارای وزن ملکولی بالا، ساختار خطی و یک هتروپلی‌ساکارید پلی‌کاتیونی شامل دو منوساکارید ان- استیل- گلوکزآمین و گلوکزآمین است (نوری و همکاران، ۲۰۱۶؛ علیشاهی و آیدر، ۲۰۱۲). دامنه کمی درجه داستیلاسیون کیتوزان بین ۵۰ تا ۹۵ درصد می‌باشد (پیلای و همکاران، ۲۰۰۹). کیتوزان به عنوان یک پلیمر زیستی دارای ویژگی‌های ذاتی منحصر به فردی است که آن را از سایر پلیمرها متمایز می‌کند. از جمله ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی آن می‌توان به غیرسمی بودن (بداوی و الاسود، ۲۰۱۲)، سازگاری

زیست‌محیطی بالا، زیست‌تخریب‌پذیر بودن (کما و همکاران، ۲۰۰۲؛ وُنگ، ۱۹۹۲)، خلوص، آب‌دوستی زیاد، وزن ملکولی بالا، میزان بلورینگی[1] بالا و از طرف دیگر ویژگی‌های زیستی آن مانند فعالیت زیستی، ظرفیت جذبی بالا، اثر نفوذپذیری انتخابی، منعقد کردن خون و بند آوردن خونریزی، کاهش دادن التهاب و درد، ترمیم زخم و کاهش کلسترول اشاره کرد (آریولا و همکاران، ۲۰۱۳؛ دایی و همکاران، ۲۰۱۱؛ آرانا‌ز و همکاران، ۲۰۰۹؛ رنالت و همکاران، ۲۰۰۹؛ دوتا و همکاران، ۲۰۰۴). ویژگی ضدمیکروبی کیتوزان ناشی از گروه‌های آمینی دارای بار مثبت می‌باشد (شهیدی و همکاران، ۱۹۹۹). در بین مواد زیستی بررسی شده به منظور کاهش مصرف سموم شیمیایی، بهترین نتایج با استفاده از پلیمرهای زیستی مبتنی بر کیتوزان به دست آمده‌اند (مالربا و سرانا، ۲۰۱۸).

اثرات حشره‌کشی کیتوزان و مشتقات آن نیز در تحقیقاتی مورد بررسی قرار گرفته‌اند. بداوی و همکاران (۲۰۰۵) فعالیت حشره‌کشی مشتقات ارتو-آریل کیتوزان را در دز ۵ گرم بر کیلوگرم رژیم غذایی مصنوعی علیه لاروهای کرم برگخوار پنبه *Spodoptera littoralis* (Boisduval)، مورد بررسی قرار دادند. طبق نتایج، تمامی مشتقات سنتزی در مقایسه با کیتوزان (۷ درصد بازدارندگی رشد) رشد لاروها را به میزان بسیار بیشتری کاهش دادند. در پژوهشی، رابعه و همکاران (۲۰۰۵) کارایی حشره‌کشی ۲۴ مشتق جدید سنتز شده کیتوزان را علیه لاروهای کرم برگخوار پنبه بررسی نمودند. زیست‌سنجی دهانی لاروها نشان داد که تمامی مشتقات در دز ۵ گرم بر کیلوگرم رژیم غذایی مصنوعی دارای اثر حشره‌کشی قابل توجهی بودند. ترکیب ان- (۲-کلرو-۶- فلوئوروبنزیل) کیتوزان موثرترین ترکیب بود و پس از دو تا سه روز تغذیه از دز ۰/۶۲۵ گرم بر کیلوگرم، با LC_{50} برآورد شده ۰/۳۲ گرم بر کیلوگرم، باعث مرگ‌ومیر ۱۰۰ درصدی لاروها شد. این محققان در بررسی بعدی خود (رابعه و همکاران، ۲۰۰۶) روی مشتقات ان- آلکیل کیتوزان نشان دادند که ان- (۳- فنیل‌بوتیل) کیتوزان موثرترین ترکیب علیه لاروهای کرم برگخوار پنبه بود. به علاوه، پس از چهار روز تغذیه از غذای مصنوعی تیمار شده، مشتقات ان- پروپیل کیتوزان، ان- اون‌دکانیل کیتوزان و ان- (فنیل‌پروپیل) کیتوزان به‌ترتیب ۷۶، ۶۶ و ۶۵ درصد از رشد لاروها جلوگیری کردند. بداوی و الاسود (۲۰۱۲) فعالیت حشره‌کشی کیتوزان‌هایی با چهار وزن ملکولی مختلف را علیه شته خرزهره *Aphis nerii* Fonscolombe و کرم برگخوار پنبه بررسی نمودند. مرگ‌ومیر لاروها، درصد بازداشته شدن رشد و فعالیت‌های ضدتغذیه‌ای برای لاروهای سن سوم کرم برگخوار پنبه با استفاده از دز ۴ گرم کیتوزان بر یک کیلوگرم رژیم غذایی ارزیابی شدند. کیتوزان با وزن ملکولی $۲/۲۷\times۱۰^{۵}$ گرم بر مول (کمترین وزن ملکولی) و کمپلکس‌های آن با نیکل و جیوه موثرترین ترکیبات علیه لاروها بودند. نتایج به دست آمده در مورد شته خرزهره نیز نشان داد که در زیست‌سنجی‌های غوطه‌ورسازی برگ با غلظت ۱۰۰۰

1- Crystalliazation

میلی‌گرم بر لیتر، پس از ۲۴ ساعت کیتوزان‌های با وزن ملکولی $۳/۶۰\times۱۰^{۵}$، $۵/۹۷\times۱۰^{۵}$ و $۹/۴۷\times۱۰^{۵}$ گرم بر مول فعالیت شته‌کشی بیشتری داشتند اما پس از ۴۸ ساعت، کیتوزان با وزن ملکولی $۲/۲۷\times۱۰^{۵}$ اثر حشره‌کشی بیشتری داشت. تمام ترکیبات علیه شته دارای اثر سیستمیک بودند. در این روش زیست‌سنجی، کیتوزان‌هایی با وزن‌های ملکولی $۲/۲۷\times۱۰^{۵}$، $۳/۶۰\times۱۰^{۵}$ و $۵/۹۷\times۱۰^{۵}$ گرم بر مول و پس از ۴۸ ساعت در تمام غلظت‌های مورد بررسی دارای بالاترین کارایی بودند و در غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به‌ترتیب ۹۶، ۸۷ و ۱۰۰ درصد مرگ‌ومیر ایجاد نمودند. کمپلکس کیتوزان- مس نیز با ایجاد ۹۴ درصد مرگ‌ومیر موثرترین کمپلکس مورد بررسی علیه شته خرزهره بود.

راهل و همکاران (۲۰۱۳) با استفاده از روش آغشته‌سازی پارچه، کارایی کنه‌کشی چند کمپلکس فلزی کیتوزان را روی کنه‌های *Acarus siro* L.، *Dermatophagoides farina* Hughes، *D. pteronyssinus* (Trouessart) و *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) بررسی نمودند. مرگ‌ومیر کنه‌ها پس از ۲۴ ساعت قرار دادن آن‌ها در معرض پارچه‌های تیمار شده مقایسه گردید. کمپلکس کیتوزان- نقره در تمامی گونه‌ها دست‌کم باعث ۸۰ درصد مرگ‌ومیر شد. کارایی کیتوزان- روی و کیتوزان- مس از کیتوزان- نقره کمتر بود. تبدیل کمپلکس کیتوزان- نقره به کیتوزان- اکسید نقره در زیست‌سنجی‌ها روی مرگ‌ومیر تاثیری نداشت، به جز در مورد *T. putrescentiae* که مرگ‌ومیر آن از ۸۶ درصد به ۶۴ درصد کاهش یافت. نتایج این محققان، پتانسیل رشته‌های آغشته به کمپلکس کیتوزان- نقره را در مواد کنه‌کش و یا بسته‌های غذایی محافظ کنه نشان می‌دهند. ضیایی و همکاران (۲۰۱۴) امکان افزایش کارایی حشره‌کشی اسانس زیره سبز *Cuminum cyminum* L. را با استفاده از نانوژل میریستیک اسید- کیتوزان علیه دو آفت انباری شپشه گندم *Sitophilus granarius* (L.) و شپشه آرد *Tribolium confusum* du Val، بررسی نمودند. سمیت تنفسی اسانس و نانوژل‌های حاوی اسانس در غلظت‌های ۴، ۷، ۱۰، ۱۳ و ۱۶ میکرولیتر بر لیتر هوا علیه شپشه گندم و در غلظت‌های ۸، ۱۱، ۱۴، ۱۷ و ۲۰ میکرولیتر بر لیتر هوا علیه شپشه آرد ارزیابی گردید. نتایج نشان دادند که کارایی حشره‌کشی نانوژل‌ها علیه هر دو آفت از اسانس بیشتر بود. اسانس پس از ۱۲ روز فعالیت حشره‌کشی خود را کاملا از دست داد در حالی که طی همین دوره زمانی، نانوژل‌ها حدود ۶۰ درصد از کارایی خود را علیه شپشه گندم و ۱۵ درصد از کارایی خود را علیه شپشه آرد از دست دادند. بنابراین، نتیجه گرفته شد که انکپسوله کردن اسانس‌های فرار گیاهی، دوام و پایداری آن‌ها را افزایش می‌دهد. بررسی کارایی حشره‌کشی کیتوزان و نانوکیتوزان علیه مراحل مختلف نشوونمایی بید گوجه‌فرنگی *Tuta absoluta* (Meyrick)، در شرایط آزمایشگاهی (صبور و سلیمان، ۲۰۱۶) نشان داد که مقادیر LC_{50} برای لاروهای تازه تفریخ‌شده، سنین اول، دوم و سوم، و حشرات کامل نر و ماده به‌ترتیب برابر با ۴۹، ۶۷، ۸۷، ۱۰۱، ۱۲۲ و ۱۳۳ پی‌پی‌ام بودند. این مقادیر در اثر استفاده از نانوکیتوزان و برای همین مراحل نشوونمایی

به‌ترتیب ۱۹، ۲۷، ۲۹، ۴۳، ۴۴، ۶۶ و ۶۹ پی‌پی‌ام برآورد شدند. استفاده از نانوکیتوزان روی بوته‌های گوجه‌فرنگی کاشته شده در گلخانه باعث شد تا جمعیت بید گوجه‌فرنگی از ۹۹ لارو در شاهد به ۱۶ فرد کاهش پیدا نماید. در یک تحقیق میدانی روی کرم گلوگاه انار *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller) (ضیایی، ۲۰۱۶)، کیتوزان در غلظت ۷/۵ درصد مورد استفاده قرار گرفت. پس از بررسی انارها از نظر وجود لارو، ۱۶ درصد از انارهای شاهد خسارت‌دیده بودند و در انارهای تیمارشده میزان خسارت وارد شده برابر با ۵ درصد محاسبه گردید. نتایج نشان‌دهنده آن بودند که کیتوزان به‌صورت معنی‌داری در کنترل و کاهش خسارت کرم گلوگاه انار تاثیرگذار بوده است.

در تحقیق حاضر، میزان تاثیر دو نوع کیتوزان با وزن ملکولی پایین و بالا روی رشد و تغذیه لاروهای سنین سوم و پنجم کرم غوزه پنبه مورد بررسی قرار گرفت. معرفی ترکیبات موثرتر و ایمن‌تر برای کنترل این آفت و سایر آفات مشابه در صورت دارا بودن اثرات حشره‌کشی قابل توجه می‌تواند از نتایج مهم این گونه تحقیقات باشد.

مواد و روش‌ها

پرورش کرم غوزه پنبه

تخم‌های کرم غوزه پنبه در ماه آبان سال ۱۳۹۶ از کلنی موجود در دانشگاه تبریز (کلنی خریداری شده از یک شرکت زیست‌فناوری در تهران و پرورش داده شده به مدت دو سال) تهیه و به آزمایشگاه تحقیقات حشره‌شناسی گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان منتقل گردیدند. پرورش حشره و آزمایش‌ها در شرایط آزمایشگاهی (دمای ۲±۲۷ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۷۰ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی به ۸ ساعت تاریکی) انجام شدند. لاروها روی یک ماده غذایی مصنوعی متشکل از لوبیا چشم‌بلبلی (۲۰۵ گرم)، آگار (۱۴ گرم)، اسید سوربیک (۱/۱ گرم)، اسید آسکوربیک (۳/۵ گرم)، مخمر نان (۳۵ گرم)، روغن آفتابگردان (۵ میلی‌لیتر)، متیل ۴- هیدروکسی بنزوات (۲/۲ گرم)، فرمالدئید (۲/۵ میلی‌لیتر)، پودر جوانه گندم (۳۰ گرم) و آب مقطر (۶۵۰ میلی‌لیتر) (اللهیاری، ۱۹۹۸؛ محمدی، ۲۰۰۴) پرورش یافتند. برای تغذیه تمامی سنین لاروی از همین غذای مصنوعی استفاده شد. لاروهای سنین اول تا چهارم درون ظروف پلاستیکی شفاف به ابعاد ۸×۱۸×۲۶ سانتی‌متر پرورش یافتند. روی درب ظرف مزبور سوراخ‌هایی برای تهویه ایجاد شد و با پارچه توری ریز پوشانده شدند. به‌دلیل همگونه‌خواری شدید، پرورش لاروهای سنین پنجم و ششم به صورت انفرادی و در داخل ظروف پلاستیکی استوانه‌ای شکل به قطر ۴ و ارتفاع ۷ سانتی‌متر انجام شد. لاروها پس از اتمام نشوونمای خود در داخل همین ظروف به شفیره تبدیل می‌شدند.

به‌منظور نگهداری شب‌پره‌ها و تخمگیری از آن‌ها، از ظروف استوانه‌ای شکل سفید رنگ، به ارتفاع ۵۰ و قطر دهانه ۳۲ سانتی‌متر استفاده گردید که دهانه آن‌ها توسط پارچه توری و به کمک یک کش حلقه‌ای مسدود شده بود. اطراف ظروف استوانه‌ای تخمگیری برای جلوگیری از نفوذ نور با نایلون مشکی پوشانده شدند. در دیواره‌های داخلی این ظروف، نوارهایی (از جنس لایه‌های آستر مورد استفاده در خیاطی برای چسباندن دو تکه پارچه به هم؛ مورد ترجیح حشرات کامل برای تخمگذاری) چسبانده شد. برای تغذیه شب‌پره‌ها، درون هر ظرف تخمگیری یک ظرف پلاستیکی استوانه‌ای شکل حاوی ۷۰ میلی‌لیتر آب قند ده درصد در اختیار آن‌ها قرار داده شد. تخم‌های گذاشته شده به صورت روزانه از نوارها و روی پارچه توری جمع‌آوری می‌شدند. این تخم‌ها سپس به داخل ظروف پلاستیکی شفاف به ابعاد ۸×۱۸×۲۶ سانتی‌متر که داخل آن‌ها غذای مصنوعی به مقدار کافی وجود داشت، منتقل می‌گردیدند تا تفریخ شوند.

کیتوزان و دزهای مورد استفاده آن

دو نوع کیتوزان مورد بررسی از شرکت‌های سیگما- آلدریچ آمریکا (با وزن ملکولی پایین؛ ۵۰ تا ۱۹۰ کیلودالتون) و لیان کیمیا آزما ایران (با وزن ملکولی بالا؛ ۵۷۸۰ کیلودالتون) خریداری شدند. آزمایش‌های اثر کیتوزان، روی رشد و تغذیه‌ی لاروهای سنین سوم و پنجم انجام شدند (به دلیل کوچک بودن و وزن بسیار کم لاروهای سن اول، انجام آزمایش روی این لاروها امکان‌پذیر نبود). با توجه به بداوی و الاسود (۲۰۱۲)، ابتدا دزهای مورد استفاده کیتوزان برابر با ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵، ۳، ۳/۵ و ۴ گرم بر کیلوگرم غذا در نظر گرفته شده بودند ولی چون در آزمایش‌های آغازین، این دزهای کم باعث تحریک تغذیه و رشد لاروها شدند، در آزمایش‌های بعدی از دزهای ۰، ۲/۵، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ گرم بر کیلوگرم غذا استفاده شد. برای افزودن دزهای مورد نظر کیتوزان به غذای مصنوعی، در آخرین مرحله تهیه که باقیمانده آب (۳۰۰ میلی‌لیتر) به آن اضافه می‌شود، مقادیر مناسب کیتوزان مطابق با دز مورد نظر در محلول اسید استیک آبی یک درصد (حجم به حجم) به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق حل (بداوی و الاسود، ۲۰۱۲) و سپس به غذای مصنوعی اضافه شدند. رژیم غذایی فاقد کیتوزان اما دارای اسید استیک (۳ میلی‌لیتر اضافه‌شده به ۲۹۷ میلی‌لیتر آب مقطر باقیمانده) به عنوان تیمار دز صفر، و رژیم غذایی مصنوعی معمولی (فاقد اسید استیک و کیتوزان حل شده در آن) به عنوان تیمار شاهد در نظر گرفته شد. لذا، اثر شش تیمار بررسی گردید.

بررسی اثرات ضدرشدی و ضدتغذیه‌ای کیتوزان

آزمایش‌های زیست‌سنجی به روش گوارشی و با استفاده از دزهای مختلف کیتوزان مخلوط شده با غذای مصنوعی انجام شدند. غذاهای مصنوعی حاوی کیتوزان و غذای شاهد به مقدار مناسب (بلوک‌های مکعبی به ابعاد ۱×۱ سانتی‌متر) در ظروف انفرادی آزمایش (ظروف پلاستیکی شفاف به قطر

۴ و ارتفاع ۷ سانتی‌متر؛ همان ظروف پرورش لاروهای سنین پنجم و ششم) گذاشته شدند. برای هر تیمار و نیز شاهد سه تکرار در نظر گرفته شد و در هر تکرار از ۱۰ عدد لارو کاملا هم‌سن سن سوم یا پنجم استفاده گردید (بداوی و الاسود ۲۰۱۲). لاروها پیش از گذاشته شدن در داخل ظروف با ترازوی چهار صفر وزن شدند. دلیل عدم انتخاب لاروهای سن اول یا دوم، کوچکی اندازه و در نتیجه ناممکن بودن توزین آن‌ها و در نتیجه تعیین میزان غذای خورده‌شده یا افزایش وزن آن‌ها با ترازوی چهار صفر بوده است.

پس از دو روز تغذیه مستمر، مرگ‌ومیر لاروها ثبت شد. در صورت حرکت نکردن لاروها آن‌ها مرده در نظر گرفته می‌شدند (بداوی و الاسود، ۲۰۱۲). چون طول سنین لاروی سوم و پنجم در این تحقیق دو روز بود، بازدارندگی رشد لاروها نسبت به شاهد و بر مبنای وزن به دست‌آمده لاروها (اختلاف وزن لاروها پیش از تغذیه و سپس از طریق توزین روزانه لاروها با ترازوی چهار صفر) پس از ۱ و ۲ روز تغذیه و با استفاده از معادله زیر محاسبه شد (الاسود و همکاران، ۲۰۰۳؛ بداوی و الاسود، ۲۰۱۲):

بازدارندگی رشد (درصد) = $[(Wc - Wt)/Wc] \times ۱۰۰$

که در آن: Wc، افزایش وزن لارو در شاهد؛ و Wt، افزایش وزن لارو در تیمار می‌باشد. از میانگین افزایش وزن ۱۰ لارو هر تکرار در معادله استفاده شد. درصد بازدارندگی تغذیه نیز پس از دو روز تغذیه با استفاده از معادله ارایه شده توسط ابیوردی و بنز (۱۹۸۴) محاسبه گردید:

بازدارندگی تغذیه (درصد) = $[(C-T)/C] \times ۱۰۰$

که در آن: C، وزن مقدار رژیم غذایی خورده‌شده در شاهد؛ و T، وزن مقدار رژیم غذایی خورده‌شده در تیمار می‌باشد. در این مورد، وزن رژیم غذایی بلوک‌مانند پیش از گذاشته شدن در اختیار لارو و پس از اتمام تغذیه لاروی با ترازوی حساس اندازه‌گیری شد که اختلاف آن دو برابر با مقدار خورده شده رژیم غذایی می‌باشد.

تجزیه و تحلیل‌های آماری

داده‌های به دست آمده از آزمایش به صورت تجزیه واریانس یکطرفه با شش تیمار (شش دز کیتوزان) و سه تکرار با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS تجزیه و تحلیل آماری شدند. برای نرمال کردن داده‌های دارای توزیع غیرنرمال از تبدیل جذری استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد و به روش آزمون توکی انجام شد.

نتایج

مرگ و میر لاروها

در تمامی آزمایش‌ها، طی دو روز هیچ گونه مرگ‌ومیری در لاروها بر اثر تغذیه از دو نوع کیتوزان

دارای وزن ملکولی پایین و بالا دیده نشد. برخلاف انتظار، تغذیه لاروهای سنین سوم و پنجم کرم غوزه پنبه از دزهای مختلف کیتوزان با وزن ملکولی بالا در تعدادی از لاروهای هر تکرار باعث تحریک و در تعدادی دیگر باعث بازداشته شدن رشد و تغذیه آن‌ها گردید که نتایج در بندهای زیر بیان شده‌اند.

بازدارندگی رشد لاروهای سن سوم

طبق نتایج تجزیه واریانس، تاثیر تغذیه از دزهای مختلف کیتوزان با وزن ملکولی بالا به مدت یک ($F_{5,12} = 6.064$; $P = 0.0050$) و دو روز ($F_{5,12} = 14.064$; $P = 0.0001$) و تغذیه از دزهای مختلف کیتوزان با وزن ملکولی پایین به مدت یک ($F_{5,12} = 41.236$; $P = 0.0000$) و دو روز ($F_{5,12} = 16.160$; $P = 0.0001$) روی بازدارندگی رشد لاروهای تحت تاثیر قرار گرفته در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. در مورد کیتوزان با وزن ملکولی بالا، بازدارندگی رشد پس از یک روز تغذیه از غلظت‌های مورد بررسی حداقل ۲۰/۵۶ و حداکثر ۳۷/۳۴ درصد، و پس از دو روز تغذیه حداقل ۲۱/۴۳ و حداکثر ۳۸/۹۲ درصد بود. دامنه نسبت لاروهایی که از رشد آن‌ها جلوگیری شده بود، در روزهای اول و دوم به ترتیب ۶۰-۹۶/۶۷ و ۵۰-۹۳/۳۳ درصد بود که نشان می‌دهد اثر بازدارندگی رشد از تحریک‌کنندگی رشد بیشتر بوده است (جدول ۱). در مورد کیتوزان با وزن ملکولی پایین، بازدارندگی رشد پس از یک روز تغذیه از غلظت‌های مورد بررسی حداقل ۱۸/۲۱ و حداکثر ۲۹/۷ درصد، و پس از دو روز تغذیه حداقل ۲۱/۷۴ و حداکثر ۳۰/۱۶ درصد بود. دامنه نسبت لاروهایی که از رشد آن‌ها جلوگیری شده بود، در روزهای اول و دوم به ترتیب ۶۰-۸۶/۶۷ و ۶۶/۶۷-۸۳/۳۳ درصد بود که نشان می‌دهد اثر بازدارندگی رشد از تحریک‌کنندگی رشد بیشتر بوده است (جدول ۲).

جدول ۱- درصد بازدارندگی رشد (SE ± میانگین) لاروهای سن سوم کرم غوزه پنبه و درصد لاروهای دچار بازدارندگی رشد پس از یک و دو روز تغذیه از دزهای مختلف کیتوزان با وزن ملکولی بالا

دز (g/Kg)	روز اول		روز دوم	
	بازدارندگی رشد (٪)	درصد لاروها	بازدارندگی رشد	درصد لاروها
۰	۰±۰ c	۰	۰±۰ d	۰
۲/۵	۲۰/۵۶±۵/۲۸ b	۸۶/۶۷	۲۱/۴۳±۱/۷۵ c	۹۳/۳۳
۴	۲۶/۱۳±۲/۷۲ b	۶۰	۳۱/۰۳±۲/۸۶ b	۵۰
۶	۲۶/۰۹±۵/۱۱ ab	۷۰	۳۰/۵±۴/۶۵ ab	۷۶/۶۷
۸	۳۳/۳۶±۳/۹۵ a	۹۶/۶۷	۳۵/۳۶±۳/۰۷ ab	۹۰
۱۰	۳۷/۳۴±۵/۵۳ a	۸۰	۳۸/۹۲±۳/۴۲ a	۸۶/۶۷

- در هر ستون، حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در آزمون توکی است.

جدول ۲- درصد بازدارندگی رشد (SE ± میانگین) لاروهای سن سوم کرم غوزه پنبه و درصد لاروهای دچار بازدارندگی رشد پس از یک و دو روز تغذیه از دزهای مختلف کیتوزان با وزن ملکولی پایین

دز	روز اول		روز دوم	
(g/Kg)	بازدارندگی رشد (٪)	درصد لاروها	بازدارندگی رشد	درصد لاروها
۰	۰±۰ d	۰	۰±۰ d	۰
۲/۵	۱۸/۲۱±۲/۹۱ c	۶۰	۲۱ /۷۴±۲/۸۴ c	۸۰
۴	۲۱/۷۵±۲/۶۳ bc	۶۶/۶۷	۲۲/۱۷±۴/۷ c	۶۶/۶۷
۶	۲۳/۳۳±۲/۳۴ bc	۸۶/۶۷	۲۳/۹۴±۲/۳۸ bc	۸۳/۳۳
۸	۲۸/۶۶±۴/۵۶ ab	۶۶/۶۷	۲۹/۱۶±۳/۵Ab	۷۶/۶۷
۱۰	۲۹/۷±۱/۶۱ a	۶۰	۳۰/۱۶±۳/۱۵ a	۶۶/۶۷

- در هر ستون، حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در آزمون توکی است.

تحریک‌کنندگی رشد لاروهای سن سوم

طبق نتایج تجزیه واریانس، تغذیه از دزهای مختلف کیتوزان با وزن ملکولی بالا به مدت یک ($F_{5,12}$ = 16.241; P = 0.0001) و دو روز ($F_{5,12}$ = 13.063; P = 0.0002) و تغذیه از دزهای مختلف کیتوزان با وزن ملکولی پایین به مدت یک ($F_{5,12}$ = 42.581; P = 0.0000) و دو روز ($F_{5,12}$ = 8.031; P = 0.0001) روی تحریک‌کنندگی رشدِ لاروهای تحت تاثیر قرار گرفته در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. نتایج نشان داد که درصد تحریک رشد پس از یک روز تغذیه از کیتوزان با وزن ملکولی بالا حداقل ۲/۰۵ و حداکثر ۲۲/۱۴ درصد و پس از دو روز تغذیه حداقل ۰/۳ و حداکثر ۲۸/۲۲ درصد بود. متناسب با تعداد لاروهای بازداشته شده از رشد، تعداد لاروهایی که رشد آن‌ها تحریک شده بود، در روزهای اول و دوم به ترتیب از ۳/۳۳-۴۰ و از ۶/۶۷-۵۰ درصد متغیر بود (جدول ۳). در مورد کیتوزان با وزن ملکولی پایین، درصد تحریک رشد پس از یک روز تغذیه حداقل ۹/۰۵ و حداکثر ۱۲/۹۸ درصد و پس از دو روز تغذیه حداقل ۲/۴۲ و حداکثر ۹/۲۵ درصد بود. متناسب با تعداد لاروهای بازداشته شده از رشد، تعداد لاروهایی که رشد آن‌ها تحریک شده بود، در روزهای اول و دوم به ترتیب از ۱۳/۳۳-۴۰ و از ۱۶/۶۷-۳۳/۳۳ درصد متغیر بود (جدول ۴).

جدول ۳- درصد تحریک‌کنندگی رشد (SE ± میانگین) لاروهای سن سوم کرم غوزه پنبه و درصد لاروهای دچار تحریک رشد پس از یک و دو روز تغذیه از دزهای مختلف کیتوزان با وزن ملکولی بالا

دز (g/Kg)	روز اول		روز دوم	
	تحریک‌کنندگی رشد (٪)	درصد لاروها	تحریک‌کنندگی رشد (٪)	درصد لاروها
۰	۰±۰ c	۰	۰±۰ d	۰
۲/۵	۲/۰۵±۱/۰۹ b	۱۳/۳۳	۰/۳±۰/۱ d	۶/۶۷
۴	۲۲/۱۴±۵/۰۳ a	۴۰	۲۸/۲۲±۵/۷۸ a	۵۰
۶	۳/۹۲±۱/۹۷ b	۳۰	۸/۳۴±۳/۵۳ b	۲۳/۳۳
۸	۳/۴۲±۰/۴۱۷ b	۳/۳۳	۳/۱۴±۱/۵۷ c	۱۰
۱۰	۴/۴۴±۱/۱۱ b	۲۰	۴/۸۳±۱/۵۴ c	۱۳/۳۳

- در هر ستون، حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در آزمون توکی است.

جدول ۴- درصد تحریک‌کنندگی رشد (SE ± میانگین) لاروهای سن سوم کرم غوزه پنبه و درصد لاروهای دچار تحریک رشد پس از یک و دو روز تغذیه از دزهای مختلف کیتوزان با وزن ملکولی پایین

دز (g/Kg)	روز اول		روز دوم	
	تحریک‌کنندگی رشد (٪)	درصد لاروها	تحریک‌کنندگی رشد (٪)	درصد لاروها
۰	۰±۰ c	۰	۰±۰ d	۰
۲/۵	۹/۱±۱/۳ b	۴۰	۵/۱۷±۱/۷۳ b	۲۰
۴	۱۲/۵۹±۱/۵۲ a	۳۳/۳۳	۹/۲۵±۱/۹ a	۳۳/۳۳
۶	۱۲/۹۸±۱/۶۴ a	۱۳/۳۳	۴/۴۷±۱/۲ bc	۱۶/۶۷
۸	۱۰/۵۳±۱/۹ ab	۳۳/۳۳	۳/۶۷±۱/۱۵ bc	۲۳/۳۳
۱۰	۹/۰۵±۱/۷۵ b	۴۰	۲/۴۲±۰/۹ c	۳۳/۳۳

- در هر ستون، حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در آزمون توکی است.

بازدارندگی و تحریک‌کنندگی تغذیه لاروهای سن سوم

تغذیه از دزهای مختلف کیتوزان با وزن ملکولی بالا به مدت دو روز روی بازدارندگی ($F_{5,12} = 0.737$; $P < 0.01$) و تحریک‌کنندگی ($F_{5,12} = 20.197$; $P = 0.0000$) تغذیه لاروهای سن سوم به ترتیب غیرمعنی‌دار و در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. به‌طورکلی، تقریبا تمامی لاروها (۹۶/۶۷ تا ۱۰۰ درصد) دچار تحریک تغذیه شدند و در مقابل، تعداد لاروهایی که تغذیه‌شان بازداشته شده بود بسیار اندک (۰ تا ۳/۳۳ درصد) بود. پس از دو روز تغذیه از دزهای مورد بررسی، میزان بازدارندگی و تحریک-کنندگی تغذیه به ترتیب از ۰-۰/۱۵ و ۲۰/۹۶-۳۵/۱ درصد متغیر بود (جدول ۵). همچنین، نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که تغذیه از دزهای مختلف کیتوزان با وزن ملکولی پایین به مدت دو روز روی

بازدارنـدگی ($F_{5,12}$ = 9.694; P = 0.0007) و تحریـک‌کننـدگی ($F_{5,12}$ = 17.010; P = 0.0000) تغذیـه لاروهای سن سوم در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. طبق نتایج، تعداد بیشتری از لاروها (۵۳/۳۴ تا ۸۰ درصد) دچار تحریک تغذیه شدند و در مقابل، تعداد لاروهایی که تغذیه‌شان بازداشته شده بود کمتر (۲۰ تا ۴۶/۶۶ درصد) بود. پس از دو روز تغذیه از دزهای مورد بررسی، میزان بازدارنـدگی و تحریـک-کنندگی تغذیه به‌ترتیب از ۴/۵۹-۱۱/۵۶ و ۳/۲۴-۱۴/۰۳ درصد متغیر بود (جدول ۶).

جدول ۵- درصد بازدارندگی و تحریک‌کنندگی تغذیه (SE ± میانگین) لاروهای سن سوم کرم غوزه پنبه و درصد لاروهای دچار بازدارندگی و تحریک تغذیه پس از دو روز تغذیه از دزهای مختلف کیتوزان با وزن ملکولی بالا

دز (g/Kg)	بازدارندگی تغذیه (٪)	درصد لاروها	تحریک‌کنندگی تغذیه (٪)	درصد لاروها
۰	۰±۰ a	۰	۰±۰ c	۰
۲/۵	۰±۰ a	۰	۲۰/۹۶±۳/۷۷ b	۱۰۰
۴	۰±۰ a	۰	۳۵/۱±۲/۱۸ a	۱۰۰
۶	۰/۰۲±۰/۰۱ a	۳/۳۳	۳۳/۳۶±۴/۱۵ a	۹۶/۶۷
۸	۰/۱۴±۰/۰۵ a	۳/۳۳	۲۲/۹۱±۲/۴۵ b	۹۶/۶۷
۱۰	۰/۱۵±۰/۰۶ a	۰	۳۲/۹۷±۳/۱۵ a	۱۰۰

- در هر ستون، حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در آزمون توکی است.

جدول ۶- درصد بازدارندگی و تحریک‌کنندگی تغذیه(SE ± میانگین) لاروهای سن سوم کرم غوزه پنبه و درصد لاروهای دچار بازدارندگی و تحریک تغذیه پس از دو روز تغذیه از دزهای مختلف کیتوزان با وزن ملکولی پایین

دز(g/Kg)	بازدارندگی تغذیه (٪)	درصد لاروها	تحریک‌کنندگی تغذیه (٪)	درصد لاروها
۰	۰±۰ d	۰	۰±۰ d	۰
۲/۵	۴/۵۹±۱/۳۸ c	۴۶/۲۶	۸/۲۴±۱/۶۵ b	۵۳/۳۴
۴	۵/۷۴±۱/۴۱ bc	۳۶/۶۷	۱۴/۰۳±۲/۹۲ a	۶۳/۳۳
۶	۷/۰۲±۲/۶ c	۲۰	۱۰/۸±۱/۹۱ ab	۸۰
۸	۸/۹۴±۱/۹۴ ab	۲۳/۳۳	۸/۹±۱/۸۶ b	۷۶/۶۷
۱۰	۱۱/۵۶±۲/۸۸ a	۴۳/۳۳	۳/۲۴±۱/۶ c	۵۶/۶۷

- در هر ستون، حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در آزمون توکی است.

بازدارندگی رشد لاروهای سن پنجم

تاثیر تغذیه از دزهای مختلف کیتـوزان بـا وزن ملکـولی بـالا بـه مـدت یـک ($F_{5,12}$ = 4.467; P = 0.0157) و دو روز ($F_{5,12}$ = 3.128; P = 0.0490) در سطح احتمال پنج درصد و تغذیه از دزهای مختلف کیتوزان با وزن ملکولی پایین به مدت یک ($F_{5,12}$ = 9.088; P = 0.0009) و دو روز ($F_{5,12}$ = 10.053; P = 0.0006) روی بازدارندگی رشد لاروهای تحت تاثیر قرار گرفته در سطح احتمال یک درصد معنـی‌دار

بود. در مورد کیتوزان با وزن ملکولی بالا، بازدارندگی رشد پس از یک روز تغذیه از غلظت‌های مورد بررسی حداقل صفر و حداکثر ۴/۱۷ درصد، و پس از دو روز تغذیه حداقل ۰/۵۸ و حداکثر ۴/۵۳ درصد بود. تعداد لاروهایی که رشد آن‌ها بازداشته شده بود، در روزهای اول و دوم به‌ترتیب از ۰-۳۶/۶۷ و از ۲۰-۴۶/۶۷ درصد متغیر بود که نشان می‌دهد برخلاف لاروهای سن سوم، اثر بازدارندگی رشد از اثر تحریک‌کنندگی رشد کمتر بوده است (جدول ۷). در مورد کیتوزان با وزن ملکولی پایین، بازدارندگی رشد پس از یک روز تغذیه از غلظت‌های مورد بررسی حداقل ۱/۷۵ و حداکثر ۶/۸ درصد، و پس از دو روز تغذیه حداقل ۳/۸۶ و حداکثر ۲۱/۶۸ درصد بود. تعداد لاروهایی که رشد آن‌ها بازداشته شده بود، در روزهای اول و دوم به ترتیب از ۶/۶۷-۳۰ و از ۲۰-۳۶/۶۷ درصد متغیر بود که نشان می‌دهد برخلاف لاروهای سن سوم، اثر بازدارندگی رشد از تحریک‌کنندگی رشد کمتر بوده است (جدول ۸).

جدول ۷- درصد بازدارندگی رشد (SE ± میانگین) لاروهای سن پنجم کرم غوزه پنبه و درصد لاروهای دچار بازدارندگی رشد پس از یک و دو روز تغذیه از دزهای مختلف کیتوزان با وزن ملکولی بالا

دز(g/Kg)	روز اول		روز دوم	
	بازدارندگی رشد (٪)	درصد لاروها	بازدارندگی رشد (٪)	درصد لاروها
۰	۰±۰ c	۰	۰±۰ d	۰
۲/۵	۰±۰ c	۰	۰/۵۸±۰/۲ c	۴۶/۶۷
۴	۰±۰ c	۰	۱/۶۴±۰/۱۸ b	۲۰
۶	۰±۰ c	۰	۱/۸۷±۰/۳۷ b	۲۰
۸	۰/۸۷±۰/۱۳ b	۶/۶۷	۲/۹۱±۱/۱ ab	۲۳/۳۳
۱۰	۴/۱۷±۱/۹۶ a	۳۶/۶۷	۴/۵۳±۱/۲۵ a	۴۳/۳۳

- در هر ستون، حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در آزمون توکی است..

جدول ۸- درصد بازدارندگی رشد (SE ± میانگین) لاروهای سن پنجم کرم غوزه پنبه و درصد لاروهای دچار بازدارندگی رشد پس از یک و دو روز تغذیه از دزهای مختلف کیتوزان با وزن ملکولی پایین

دز(g/Kg)	روز اول		روز دوم	
	بازدارندگی رشد (٪)	درصد لاروها	بازدارندگی رشد (٪)	درصد لاروها
۰	۰±۰ c	۰	۰±۰ d	۰
۲/۵	۱/۷۴۷±۰/۶۵ b	۲۲/۳۳	۲۲/۸۶±۱/۲۴ c	۳۰
۴	۱/۵۹±۰/۴۳ b	۶/۶۷	۴/۹۸±۱/۳۷ c	۲۰
۶	۲/۶±۰/۹۲ B	۱۰	۳/۸۶±۱/۶۲ c	۲۶/۶۷
۸	۲/۲۸±۰/۴۲ b	۶/۶۷	۱۲/۹۷±۳/۲۷ b	۳۶/۶۷
۱۰	۶/۸±۱/۲۱ a	۳۰	۲۱/۶۸±۴/۶۲ a	۲۳/۳۳

- در هر ستون، حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در آزمون توکی است..

تحریک‌کنندگی رشد لاروهای سن پنجم

تغذیه از دزهای مختلف کیتوزان با وزن ملکولی بالا به مدت یک ($F_{5,12} = 9.646$; $P = 0.0007$) و دو روز ($F_{5,12} = 11.384$; $P = 0.0003$) و تغذیه از دزهای مختلف کیتوزان با وزن ملکولی پایین به مدت یک ($F_{5,12} = 13.949$; $P = 0.0001$) و دو روز ($F_{5,12} = 15.746$; $P = 0.0001$) روی تحریک‌کنندگی رشدِ لاروهای تحت تاثیر قرار گرفته در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. درصد تحریک رشد پس از یک روز تغذیه از کیتوزان با وزن ملکولی بالا حداقل ۱۳/۸۴ و حداکثر ۵۸/۴۵ درصد و پس از دو روز تغذیه حداقل ۶/۵۱ و حداکثر ۱۸/۸۵ درصد بود. متناسب با تعداد لاروهای بازداشته شده از رشد، تعداد لاروهایی که رشد آن‌ها تحریک شده بود، در روزهای اول و دوم به‌ترتیب از ۶۳/۳۳-۱۰۰ و از ۵۳/۳۳-۸۰ درصد متغیر بود (جدول ۹). درصد تحریک رشد پس از یک روز تغذیه از کیتوزان با وزن ملکولی پایین حداقل ۲۹/۴۸ و حداکثر ۹۷/۲۷ درصد و پس از دو روز تغذیه حداقل ۶/۴۶ و حداکثر ۵۴/۹۵ درصد بود. متناسب با تعداد لاروهای بازداشته شده از رشد، تعداد لاروهایی که رشد آن‌ها تحریک شده بود، در روزهای اول و دوم به ترتیب از ۷۰-۹۳/۳۳ و از ۶۳/۳۳-۸۰ درصد متغیر بود (جدول ۱۰).

جدول ۹- درصد تحریک‌کنندگی رشد (SE ± میانگین) لاروهای سن پنجم کرم غوزه پنبه و درصد لاروهای دچار تحریک رشد پس از یک و دو روز تغذیه از دزهای مختلف کیتوزان با وزن ملکولی بالا

دز (g/Kg)	روز اول		روز دوم	
	تحریک‌کنندگی رشد (٪)	درصد لاروها	تحریک‌کنندگی رشد (٪)	درصد لاروها
۰	۰±۰ d	۱۰۰	۰±۰ c	۰
۲/۵	۳۲/۷±۹/۴۱ b	۱۰۰	۱۸/۸۵±۳/۹۷ a	۵۳/۳۳
۴	۴۷/۴۱±۸/۰۵ ab	۱۰۰	۱۶/۷۴±۳/۲۹ a	۸۰
۶	۵۸/۴۵±۷/۸۱ a	۱۰۰	۱۳/۸۹±۲/۲۵ a	۸۰
۸	۳۸/۶۵±۶/۴۵ b	۹۳/۳۳	۱۴/۰۴±۲/۱۳ a	۷۶/۶۷
۱۰	۱۳/۸۴±۴/۱۵ c	۶۳/۳۳	۶/۵۱±۱/۲ b	۵۶/۶۷

- در هر ستون، حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در آزمون توکی است.

جدول ۱۰- درصد تحریک‌کنندگی رشد (SE ± میانگین) لاروهای سن پنجم کرم غوزه پنبه و درصد لاروهای دچار تحریک رشد پس از یک و دو روز تغذیه از دزهای مختلف کیتوزان با وزن ملکولی پایین

دز (g/Kg)	روز اول		روز دوم	
	تحریک‌کنندگی رشد (٪)	درصد لاروها	تحریک‌کنندگی رشد (٪)	درصد لاروها
۰	۰±۰ e	۰	۰±۰ e	۰
۲/۵	۳۳/۱۴±۸/۵۹ cd	۷۶/۶۷	۶/۸۲±۱/۳۶ d	۷۰
۴	۹۷/۲۷±۵/۲۱ a	۹۳/۳۳	۵۴/۹۵±۵/۵۴ a	۸۰
۶	۷۶/۳۸±۹/۴۳ b	۹۰	۳۶/۶۵±۳/۹ b	۷۳/۳۳
۸	۴۵/۴۹±۳/۸۳ c	۹۳/۳۳	۱۲/۶۱±۳/۳۷ c	۶۳/۳۳
۱۰	۲۹/۴۸±۸/۱۸ d	۷۰	۶/۴۶±۱/۴۳ d	۷۶/۶۷

- در هر ستون، حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در آزمون توکی است.

بازدارندگی و تحریک‌کنندگی تغذیه لاروهای سن پنجم

تغذیه از دزهای مختلف کیتوزان با وزن ملکولی بالا به مدت دو روز روی بازدارندگی ($F_{5,12}$ = 10.915; P = 0.0004) و تحریک‌کنندگی ($F_{5,12}$ = 13.564; P = 0.0001) تغذیه لاروهای سن پنجم در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. در این مورد نیز همانند لاروهای سن سوم، تعداد بیشتری از لاروها (۵۶/۶۷ تا ۹۶/۶۷ درصد) دچار تحریک تغذیه شدند و از تغذیه تعداد کمتری از آن‌ها (۳/۳۳ تا ۴۳/۳۳ درصد) جلوگیری شد. پس از دو روز تغذیه از دزهای مورد بررسی، میزان بازدارندگی و تحریک‌کنندگی تغذیه به‌ترتیب از ۰/۱۴-۶/۲۸ و ۵/۸۹-۲۹/۱۹ درصد متغیر بود (جدول ۱۱). همچنین، تغذیه از دزهای مختلف کیتوزان با وزن ملکولی پایین به مدت دو روز روی بازدارندگی ($F_{5,12}$ = 7.795; P = 0.0018) و تحریک‌کنندگی ($F_{5,12}$ = 11.533; P = 0.0003) تغذیه لاروهای سن پنجم در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. در این مورد نیز همانند لاروهای سن سوم، تعداد بیشتری از لاروها (۶۳/۳۳ تا ۸۰ درصد) دچار تحریک تغذیه شدند و در مقابل، تعداد لاروهایی که تغذیه‌شان بازداشته شده بود کمتر (۲۰ تا ۳۶/۶۷ درصد) بود. پس از دو روز تغذیه از دزهای مورد بررسی، میزان بازدارندگی و تحریک‌کنندگی تغذیه به ترتیب از ۴/۲۷-۱۰/۰۹ و ۱۶/۲۶-۴۵/۱۷ درصد متغیر بود (جدول ۱۲).

جدول ۱۱- درصد بازدارندگی و تحریک‌کنندگی تغذیه (SE ± میانگین) لاروهای سن پنجم کرم غوزه پنبه و درصد لاروهای دچار بازدارندگی و تحریک تغذیه پس از دو روز تغذیه از دزهای مختلف کیتوزان با وزن ملکولی بالا

دز (g/Kg)	بازدارندگی تغذیه (٪)	درصد لاروها	تحریک‌کنندگی تغذیه (٪)	درصد لاروها
۰	۰±۰ d	۰	۰±۰ d	۰
۲/۵	۰/۱۴±۰/۰۷ c	۴۳/۳۳	۵/۸۹±۱/۶۵ c	۵۶/۶۷
۴	۰/۸±۰/۳ b	۱۶/۶۷	۲۷/۴۵±۸/۰۵ a	۸۳/۳۳
۶	۱/۷۲±۰/۵ b	۳/۳۳	۲۹/۱۹±۵/۲۷ a	۹۶/۶۷
۸	۲/۹۳±۰/۸۴ b	۱۰	۱۷/۷۹±۱/۹۲ b	۹۰
۱۰	۶/۲۸±۱/۳۲ a	۳۰	۸/۳±۱/۰۹ c	۷۰

- در هر ستون، حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در آزمون توکی است.

جدول ۱۲- درصد بازدارندگی و تحریک‌کنندگی تغذیه(SE ± میانگین) لاروهای سن پنجم کرم غوزه پنبه و درصد لاروهای دچار بازدارندگی و تحریک تغذیه پس از دو روز تغذیه از دزهای مختلف کیتوزان با وزن ملکولی پایین

دز (g/Kg)	بازدارندگی تغذیه (٪)	درصد لاروها	تحریک‌کنندگی تغذیه (٪)	درصد لاروها
۰	۰±۰ c	۰	۰±۰ d	۰
۲/۵	۴/۲۷±۰/۴۱ b	۲۰	۲۰/۸۵±۴/۷۱ bc	۸۰
۴	۴/۴۲±۰/۹۵ b	۲۰	۴۵/۱۷±۵/۱۸ a	۸۰
۶	۵/۹۹±۱/۰۲ b	۲۶/۶۷	۲۴/۰۱±۳/۶۷ b	۷۳/۳۳
۸	۹/۲۳±۱/۶۵ a	۳۶/۶۷	۱۶/۲۶±۲/۶۶ c	۶۳/۳۳
۱۰	۱۰/۰۹±۱/۴۵ a	۳۰	۱۶/۴۴±۳/۲۲ c	۷۰

- در هر ستون، حروف غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در آزمون توکی است.

بحث

آفت‌کش‌های شیمیایی با وجودی که در کشاورزی سنتی اغلب اولین و قاطعانه‌ترین روش کنترل آفات بوده‌اند، اما به دلیل معضلاتی که طی سال‌ها استفاده از آن‌ها بروز نموده است، همواره متهمان اصلی بسیاری از مسایل و مشکلات انسانی و زیست‌محیطی به شمار می‌روند. از جمله این مسایل می‌توان به بروز انواع مسمومیت‌های انسانی و جانوری به ویژه بیماری‌های خطرناک و مهمی مانند انواع سرطان‌ها، نازایی و غیره، آلودگی‌های زیست‌محیطی و مشکلات مربوط به آن‌ها، و نیز مقاومت آفات به این آفت‌کش‌ها اشاره نمود. این معضلات باعث شده‌اند تا ایده یافتن ترکیبات موثر جایگزین و در عین حال بی‌خطر یا کم‌خطرتر مطرح شود و در این راستا، ترکیبات آلی و معدنی زیادی از منشاهای مختلف از نظر دارا بودن ویژگی‌های مختلف روی آفات (به مفهوم عام آن) مورد بررسی قرار گیرند. از این میان، مطالعه‌ی تاثیر بیوپلیمر زیست‌سازگار کیتوزان روی حشرات آفت در مراحل بسیار پایه‌ای و در ابتدای

مسیر خود قرار دارد. مطالعات بیشتر در آینده موجب روشن شدن پتانسیل آفتکشی کیتوزان و پاسخ به پرسش‌های موجود خواهند شد.

کاربردهای کیتوزان در گیاه‌پزشکی توسط الحدرمی و همکاران (۲۰۱۰) مرور شده‌اند. از جمله اثرات مهم آن می‌توان به اثرات ضدقارچی (مثلا لی و همکاران، ۲۰۰۸؛ تروتل- عزیز و همکاران، ۲۰۰۶؛ باتیستا بانوس و همکاران، ۲۰۰۴؛ بن‌شالوم و همکاران، ۲۰۰۳؛ فالکون و همکاران، ۲۰۰۲)، ضدمیکروبی (کناوی و همکاران، ۲۰۰۷؛ فوجیموتو و همکاران، ۲۰۰۶؛ رابعه و همکاران، ۲۰۰۳؛ هلاندر و همکاران، ۲۰۰۱) و ضدویروسی (پوسپی‌یزنی، ۱۹۹۷) اشاره نمود. تعدیل و القای مقاومت گیاهی به بیمارگرهای گیاهی نیز گزارش شده است (رودریگز و همکاران، ۲۰۰۷؛ واسیوکووا و همکاران، ۲۰۰۱؛ بهاسکارا ردی و همکاران، ۱۹۹۹). مواد تجدیدپذیر مبتنی بر کیتوزان حتی برای جذب عناصر سنگینی مانند اورانیوم استفاده شده‌اند (اشلوتر و همکاران، ۲۰۱۳).

در معدود مطالعات انجام شده در مورد اثرات حشره‌کشی کیتوزان و مشتقات آن، نتایج بسیار امیدوارکننده‌ای گزارش شده‌اند. جمع‌بندی نتایج مقالات چاپ شده تاکنون نشان می‌دهد که چندین عامل می‌توانند روی میزان حشره‌کشی کیتوزان تاثیر داشته باشند که اصلی‌ترین آن وزن ملکولی کیتوزان مورد استفاده می‌باشد. به طور مثال، بداوی و الاسود (۲۰۱۲) گزارش کرده‌اند که از بین چهار کیتوزان مورد بررسی آن‌ها علیه لاروهای سن سوم برگخوار پنبه با وزن‌های ملکولی مختلف، کیتوزان با کمترین وزن ملکولی ($۲/۲۷\times۱۰^{۵}$ گرم بر مول) موثرترین ترکیب بود. مدت زمان درمعرض قرارگیری نیز روی کارایی حشره‌کشی کیتوزان موثر گزارش شده است به طوری که در یک پژوهش (بداوی و الاسود، ۲۰۱۲)، با استفاده از روش غوطه‌ورسازی برگ‌ها علیه شته خرزهره، کیتوزان‌های با وزن‌های ملکولی بیشتر ($۳/۶۰\times۱۰^{۵}$، $۵/۹۷\times۱۰^{۵}$ و $۹/۴۷\times۱۰^{۵}$ گرم بر مول) پس از ۲۴ ساعت اثر حشره‌کشی بیشتری داشتند اما پس از ۴۸ ساعت، کیتوزان با کمترین وزن ملکولی ($۲/۲۷\times۱۰^{۵}$ گرم بر مول) موثرترین ترکیب بود. با وجود این، پس از ۴۸ ساعت و به روش اثر سیستمیک، سه کیتوزان با وزن‌های ملکولی $۲/۲۷\times۱۰^{۵}$، $۳/۶۰\times۱۰^{۵}$ و $۵/۹۷\times۱۰^{۵}$ گرم بر مول علیه این شته کارایی حشره‌کشی بیشتری داشتند (بداوی و الاسود، ۲۰۱۲) که نشان می‌دهد روش استفاده از کیتوزان نیز روی کارایی آن تاثیر دارد.

برای افزایش کارایی حشره‌کشی کیتوزان روش‌های مختلفی مورد بررسی قرار گرفته‌اند. یک روش، استخلاف‌دار کردن کیتوزان می‌باشد. برای مثال، بداوی و همکاران (۲۰۰۵) نشان دادند که مشتقات ارتو- آریل کیتوزان در مقایسه با خود کیتوزان رشد لاروهای کرم برگخوار پنبه را به میزان بسیار بیشتری کاهش دادند. رابعه و همکاران (۲۰۰۵، ۲۰۰۶) نیز گزارش کردند که ۲۴ مشتق سنتزی کیتوزان علیه لاروهای همین آفت دارای اثر حشره‌کشی قابل توجهی بودند و حتی مرگ‌ومیر ۱۰۰

درصدی را نیز باعث شدند. همچنین، صاحب‌زاده و همکاران (۲۰۱۷) مشتقات ان- آلکیل کیتوزان را به عنوان شته‌کش‌های امیدوارکننده در آینده معرفی کرده‌اند. سنتز کمپلکس‌های کیتوزان- فلز نیز روش دوم مورد استفاده بوده است. برای مثال، کمپلکس‌های فلزی کیتوزان در مقایسه با کیتوزان علیه لاروهای سن سوم کرم برگخوار پنبه اثر کشندگی بهتری داشتند و از بین کمپلکس‌ها، کمپلکس‌های کیتوزان- نیکل و کیتوزان- جیوه کارایی بیشتری را نشان دادند. همچنین، کمپلکس کیتوزان- مس در روش اثر سیستمیک در مقایسه با سایر کمپلکس‌های سنتزی مرگ‌ومیر بیشتری را در شته خرزهره ایجاد نمود (بداوی و الاسود، ۲۰۱۲). به علاوه، راهل و همکاران (۲۰۱۳) با بررسی اثرات کنه‌کشی کمپلکس‌های فلزی کیتوزان گزارش کردند که کیتوزان- نقره از کیتوزان- روی و کیتوزان- مس موثرتر بود. در سومین روش، استفاده از ذرات میکرو و نانو مد نظر می‌باشد. مثلا مقایسه میزان اثر کیتوزان و نانوکیتوزان علیه بید گوجه‌فرنگی (صبور و سلیمان، ۲۰۱۶)، شپشک سیاه زیتون *Saissetia oleae* (Olivier) (صبور، ۲۰۱۹)، سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات *Callosobruchus maculatus* (F.)، سوسک چینی حبوبات *C. chinensis* (L.)، شته جالیز *Aphis gossypii* (Glover) (سحاب و همکاران، ۲۰۱۵) و سوسک برگخوار *Cassida vittata* (Vill) (صبور و عبدالحکیم، ۲۰۱۸) نشان داد که ذرات نانو اثر حشره‌کشی بهتری داشتند ، یا میکرو و نانوذرات کیتوزان برای کنترل آلودگی‌های میکروبی در کشاورزی بررسی شده‌اند (آریولا و همکاران، ۲۰۱۳). گزارشی نیز در مورد استفاده از غلظت ۷/۵ درصد کیتوزان روی میوه‌های انار در شرایط مزرعه‌ای و کاهش خسارت کرم گلوگاه انار وجود دارد (ضیایی، ۲۰۱۶). کیتوزان علاوه بر استفاده به عنوان یک حشره‌کش و کنه‌کش، برای فرموله کردن اسانس‌های گیاهی حشره‌کش نیز مورد بررسی قرار گرفته که از آن جمله می‌توان به افزایش اثر حشره‌کشی اسانس زیره سبز با استفاده از نانوژل میریستیک اسید- کیتوزان علیه حشرات کامل شپشه گندم و شپشه آرد اشاره نمود (ضیایی و همکاران، ۲۰۱۴). لذا، کیتوزان علاوه بر استفاده مستقیم به عنوان حشره‌کش یا کنه‌کش می‌تواند در سایر موارد مربوط کنترل آفات نیز مورد توجه قرار گیرد.

نتایج به‌دست آمده در پژوهش حاضر با نتایجی که تاکنون توسط محققان فوق گزارش شده‌اند، مغایرت زیادی دارند. در این بررسی، مرگ‌ومیر لاروهای سنین سوم و پنجم طی دو روز تغذیه حتی از دز ۱۰ گرم بر کیلوگرم هر دو نوع کیتوزان، در مقایسه با دز ۴ گرم بر کیلوگرم مورد استفاده توسط بداوی و الاسود (۲۰۱۲)، مشاهده نشد. این نتیجه آشکارا در تضاد با نتایجی همانند محققان قبلی است که مرگ‌ومیر لاروهای بالپولکداران آفت را در اثر تغذیه از کیتوزان مشاهده کرده‌اند.

دزهای اولیه انتخابی با توجه به نتایج بداوی و الاسود (۲۰۱۲) (برابر با ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵، ۳، ۳/۵ و ۴ گرم بر کیلوگرم غذا) در آزمایش‌های اولیه کاملا باعث تحریک تغذیه و رشد لاروها شدند که این امر باعث انتخاب دزهای بالاتر تا ۱۰ گرم بر کیلوگرم غذا گردید. با وجود این، در تمام آزمایش‌های

انجام شده با دز بالا، تعدادی از لاروهای هر تکرار دچار بازداشته شدن رشد و تغذیه، و تعدادی دیگر دچار تحریک رشد و تغذیه شدند. برخلاف آنچه انتظار می‌رفت، اصولا تحریک رشد و تحریک تغذیه درلاروها دیده شد به‌طوری‌که به استثنای بازداشته شدن رشد لاروهای سن سوم (که در این حالت هم تعداد اندکی از لاروها دچار تحریک رشد شدند)، در سایر آزمایش‌ها اثرات تحریک‌کنندگی مشاهده گردیدند. جمع‌بندی نتایج نشان داد که هم کیتوزان با وزن ملکولی بالا و هم کیتوزان با وزن ملکولی پایین به طور کلی بازدارنده رشد و تحریک‌کننده تغذیه لاروهای سن سوم، و تحریک‌کننده رشد و تحریک‌کننده تغذیه لاروهای سن پنجم بودند. به عبارت دیگر، اثرات کیتوزان روی لاروهای سنین سوم و پنجم بسته به دز و سن لاروی به‌صورت بازدارنده یا تحریک‌کننده رشد و بازدارنده یا تحریک‌کننده تغذیه بوده است. بازداشته شدن رشد لاروهای سن سوم به رغم تحریک شدن تغذیه آن‌ها نشان می‌دهد که احتمالا کیتوزان با وجود افزایش دادن تغذیه این لاروها، از نظر کارایی گوارش و جذب برای آن‌ها مناسب نبوده است. دو عامل احتمالی دخیل در این زمینه، یعنی افزایش احتمالی فعالیت گیرنده‌های چشایی (علت احتمالی افزایش تحریک تغذیه) و پروفایل نامناسب آنزیم‌های گوارشی لاروهای سن سوم (علت احتمالی عدم گوارش و بهره‌برداری مناسب از کیتوزان)، در این زمینه مهم به نظر می‌رسند و جای بررسی دارند. در توضیح این که چرا برخی لاروهای یک تکرار تغذیه و رشدشان تحریک و برخی دیگر تغذیه و رشدشان بازداشته شده است، شاید بتوان به اثر جنسیت لاروها اشاره کرد. با وجود این، توضیح این پدیده دشوار است و ابتدا لازم است که با انجام آزمایش‌های تکمیلی، بروز آن در بررسی‌های دیگری نیز تایید شود. این نتایج نشان می‌دهند که برای درک کامل‌تر اثرات کیتوزان و مشتقات آن روی مرگ‌ومیر، و رشد و تغذیه لاروهای حشرات و در نهایت استفاده کاربردی از آن‌ها به عنوان ترکیبات حشره‌کش جدید، به بررسی‌های بسیار بیشتری روی انواع گروه‌های تاکسونومیک آفات نیاز می‌باشد. بدیهی است که عوامل مختلف و متعددی مانند وزن ملکولی کیتوزان، درجه داستیله شدن آن، نوع استخلاف و کمپلکس فلزی ایجاد شده در کیتوزان، روش زیست‌سنجی مورد استفاده، متغیرهای زیستی آفت مورد بررسی (گونه، جنسیت، سن، مرحله نشوونمایی، پروفایل آنزیم‌های گوارشی و غیره)، و استفاده از شکل‌های نانو و سایر عوامل می‌توانند روی کارایی حشره‌کشی کیتوزان تاثیرات زیادی داشته باشند. این عوامل ضمن این که می‌توانند باعث دستیابی به نتایج متفاوت در این بررسی شده باشند، مواردی هستند که تحقیق در مورد آن‌ها در جهت شناخت بهتر اثرات حشره‌کشی کیتوزان و مشتقات آن پیشنهاد می‌گردد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهند که پیش از معرفی کیتوزان به عنوان یک ترکیب حشره‌کش مناسب جایگزین، اثرات مختلف آن روی آفات گوناگون و همچنین عوامل موثر بر افزایش کارایی حشره‌کشی آن باید به خوبی شناخته شوند. تحریک شدن رشد و تغذیه لاروهای یک حشره در اثر تغذیه از کیتوزان برای اولین بار گزارش می‌شود.

سپاسگزاری

این تحقیق با استفاده از اعتبارات پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شده است که بدین وسیله سپاسگزاری می‌شود.

منابع

1. Abivardi, C., and Benz, G. 1984. Tests with the extracts of 21 medicinal plants for antifeedant activity against larvae of *Pieris brassicae* L. (Lep., Pieridae). Journal of the Swiss Entomological Society, 57: 383-392.
2. Alishahi, A., and Aider, M. 2012. Applications of chitosan in the seafood industry and aquaculture: a review. Food and Bioprocess Technology, 5:3. 817-830.
3. Allahyari Kookalani, M. 1998. Sensitivity of some populations of cotton bollworm to etrimphos, profenophos, chlorpyriphos, endosulfan, fenvalerate and fenpropathrin. M.Sc. Thesis, Tabriz University. (In Persian).
4. Aranaz, I., Mengibar, M., Harris, R., Panos, I., Miralles, B., Acosta, N., Galed, and Heras, A. 2009. Functional characterization of chitin and chitosan. Current Chemical Biology, 3:2. 203-230.
5. Arriola, O.C., Rocha, M.O.C., Hernandez, A.B., Brauer, J.M.E., and Jatomea, M.P. 2013. Controlled release matrices and micro/nanoparticles of chitosan with antimicrobial potential: development of new strategies for microbial control in agriculture. Journal of the Science of Food and Agriculture, 93:7. 1525-1536.
6. Badawy, M.E. 2008. Chemical modification of chitosan: synthesis and biological activity of new heterocyclic chitosan derivatives. Polymer International, 57: 254-261.
7. Badawy, M.E., and El-Aswad, A.F. 2012. Insecticidal activity of chitosan of different molecular weights and chitosan-metal complexes against cotton leafworm *Spodoptera littoralis* and oleander aphid *Aphis nerii*. Plant Protection Science, 48:3. 131-141.
8. Badawy, M.E.I., Rabea, E.I., Rogge, T.M., Stevens, C.V., Steurbaut, W., Höfte, M., and Smagghe, G. 2005. Fungicidal and insecticidal activity of O-acyl chitosan derivatives. Polymer Bulletin. 54: 279-289.
9. Bautista-Banos S., Hernandez-Lopez, M., and Bosquez-Molina, E. 2004. Growth inhibition of selected fungi by chitosan and plant extracts. Mexican Journal of Phytopathology, 22: 178-186.
10. Bhaskara Reddy, B.M.V., Arul, J., Angers, P., and Couture, L. 1999. Chitosan treatment of wheat seeds induces resistance to *Fusarium graminearum* and improves seed quality. Food Chemistry, 47: 1208-1216.

11. Ben-Shalom N., Ardi, R., Pinto, R., Aki, C., and Fallik, E. 2003. Controlling gray mould caused by *Botrytis cinerea* in cucumber plants by means of chitosan. Crop Protection, 22: 285-290.
12. Coma, V., Martial-Gros, A., Garreau, S., Copinet, A., Salin, F., and Deschamps, A. 2002. Edible antimicrobial films based on chitosan matrix. Journal of Food Science, 67:3). 1162-1169.
13. Dai, T., Tanaka, M., Huang, Y.Y., and Hamblin, M.R. 2011. Chitosan preparations for wounds and burns: antimicrobial and wound-healing effects. Expert Review of Anti-infective Therapy, 9:7. 857-879.
14. Dutta, P.K., Dutta, J., and Tripathi, V.S. 2004. Chitin and chitosan: chemistry, properties and applications. Journal of Scientific and Industrial Research, 63:1. 20-31.
15. El-Aswad, A.F., Abdelgaleil, S.A.M., and Nakatani, M. 2003. Feeding deterrent and growth inhibitory properties of limonoids from *Khaya senegalensis* against the cotton leafworm, *Spodoptera littoralis*. Pest Management Science, 60: 199-203.
16. El Hadrami, A., Adam, L.R., El Hadrami, I., and Daayf, F. 2010. Chitosan in plant protection. Marine Drugs, 8: 968-987.
17. Falcon, A., Ramrez, M., Marquez, R., and Hernandez, M. 2002. Chitosan physico-chemical properties modulate defense responses and resistance in tobacco plants against the oomycete *Phytophthora nicotianae*. Pesticide Biochemistry and Physiology. 100: 221-228.
18. Feng, H.Q., Wu, K.M., Ni, Y.X., Cheng, D.F., and Guo, Y.Y. 2005. High-altitude windborne transport of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) in mid-summer in northern China. Journal of Insect Behavior, 18: 335-349.
19. Fujimoto, T., Tsuchyia, Y., Terao, M., Nakamura, K., and Yamamoto, M. 2006. Antibacterial effects of chitosan solution against *Legionella pneumophila*, *Escherichia coli*, and *Staphylococcus aureus*. International Journal of Food Microbiology, 112:2. 96-101.
20. Helander, I.M., Nurmiaho-Lassila, E.L., Ahvenainen, R., Rhoades, J., and Roller, S. 2001. Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of Gram-negative bacteria. International Journal of Food Microbiology, 71: 235-244.
21. Kean, T., and Thanou, M. 2010. Biodegradation, biodistribution and toxicity of chitosan. Advanced Drug Delivery Reviews, 62: 3-11.
22. Kenawy, E.R., Worley, S.D., and Broughton, R. 2007. The chemistry and applications of antimicrobial polymers: a state-of-the-art review. Biomacromolecules, 8:7. 1359-1384.
23. Khanjani, M. 2004. Field crop pests in Iran (Insects and Mites). Bu-Ali Sina University Publications. 719 pp. (in Persian).

24. Li, X.F., Feng, X.Q., Yang, S., Wang, T.P., and Su, Z.X. 2008. Effects of molecular weight and concentration of chitosan on antifungal activity against *Aspergillus niger*. Iranian Polymer Journal, 17:11. 843-852.
25. Malerba, M., and Cerana, R. 2018. Recent advances of chitosan applications in plants. Polymers, 10: 118.
26. Mohammadi, D. 2004. Effects of some chitin synthesis inhibitors on cotton bollworm (*Helicoverpa armigera* Hubner) in laboratory. M.Sc. Thesis, Tabriz University. (in Persian).
27. Nouri, M., Khodaiyan, F., Razavi, S.H., and Mousavi, M. 2016. Improvement of chitosan production from Persian Gulf shrimp waste by response surface methodology. Food Hydrocolloids, 59: 51-58.
28. Pillai, C.K.S., Paul, W., and Sharma, C.P. 2009. Chitin and chitosan polymers: Chemistry, solubility and fiber formation. Progress in Polymer Science, 34:7. 641-678.
29. Pospiezny, H. 1997. Antiviroid activity of chitosan. Crop Protection, 16: 105-106.
30. Rabea, E.I.., Badawy, M.E., Stevens, C.V., Smagghe, G., and Steurbaut, W. 2003. Chitosan as antimicrobial agent: Applications and mode of action. Biomacromolecules, 4:5. 1457-1465.
31. Rabea, E.I., Badawy, M.E.I., Rogge, T.M., Stevens, C.V., Höfte, M., Steurbaut, W., and Smagghe, G. 2005. Insecticidal and fungicidal activity of new synthesized chitosan derivatives. Pest Management Science, 61: 951-960.
32. Rabea, E.I., Badawy, M.E.I., Rogge, T.M., Stevens, C.V., Steurbaut, W., Höfte, M., and Smagghe, G. 2006. Enhancement of fungicidal and insecticidal activity by reductive alkylation of chitosan. Pest Management Science, 62: 890-897.
33. Rahel, J., Jonasova, E., Nesvorna, M., Klubal, R., Erbanb, T., and Hubert, J. 2013. The toxic effect of chitosan/metal-impregnated textile to synanthropic mites. Pest Management Science, Sci. 69: 722-726.
34. Renault, F., Sancey, B., Badot, P.M., and Crini, G. 2009. Chitosan for coagulation/ flocculation processes- An eco-friendly approach. European Polymer Journal, 45:5. 1337-1384.
35. Rodrigues, A.T., Ramirez, M.A., Cardenas, R.M., Hernandez, A.N., Velazquez, M.G., and Bautista, S. 2007. Induction of defense response of *Oryza sativa* L. against *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc. by treating seeds with chitosan and hydrolyzed chitosan. Pesticide Biochemistry and Physiology, 89: 206-215.
36. Sabbour, M.M. 2019. Effect of chitosan and nano-chitosan on *Saissetia oleae* (Hemiptera: Coccidae). Journal of Applied Sciences, 19(2): 128-132.
37. Sabbour, M.M., and Abdel-Hakim E.A. 2018. Control of *Cassida vittata* (Vill) (Coleoptera: Chrysomelidae) using chitosan and nano chitosan. Middle East Journal of Applied Sciences, 8(1): 141-144.

38. Sabbour, M.M., and Solieman, N.Y. 2016. The efficacy effect of using chitosan and nano-chitosan against *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). J. Chem. Pharmac. Res. 8:3. 548-554.
39. Sahab, A.F., Waly, A.I., Sabbour, M.M., and Nawar, L.S. 2015. Synthesis, antifungal and insecticidal potential of Chitosan (CS)-g-poly (acrylic acid) (PAA) nanoparticles against some seed borne fungi and insects of soybean. International Journal of ChemTech Research, 8(2): 589-598.
40. Sahebzadeh, N., Ghaffari-Moghaddam, M., and Sabagh, S.K. 2017. Toxicity of N-alkyl derivatives of chitosan obtained from adult of *Chrotogonus trachypterus* (Orthoptera, Acrididae) against the wheat, cabbage and oleander aphid (Hemiptera: Aphididae) species. Jordan Journal of Biological Sciences, 10(1): 49-55.
41. Sarita Gaur, S. 2007. Bioecology and management of *Helicoverpa armigera* (Hubner) in chickpea. Ph.D. Dissertation, Bundelkhand University, Jhansi.
42. Schleuter, D., Günther, A., Paasch, S., Ehrlich, H., Kljajić, Z., Hanke, T., Bernhard, G., and Brunner, E. 2013. Chitin-based renewable materials from marine sponges for uranium adsorption. Carbohydrate Polymers, 92:1. 712-718.
43. Senechal Nunes, M., Figueiredo, L.L., Silva Andrade, R., Rezende, M., Czepak, C., and Karina Albernaz-Godinho, K.C. 2017. Biology of *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) rearing on artificial or natural diets in Laboratory. Journal of Entomology, 14: 168-175.
44. Shahidi, F., Arachchi, J.K.V., and Jeon, Y.J. 1999. Food application of chitin and chitosan. Trends in Food Science and Technology, 10:2. 37-51.
45. Talebi-Jahromi, Kh. 2007. Pesticides toxicology. 2nd edition. Tehran University Publications. (in Persian).
46. Trotel-Aziz, P., Couderchet, M., Vernet, G., and Aziz, A. 2006. Chitosan stimulates defense reactions in grapevine leaves and inhibits development of *Botrytis cinerea*. European Journal of Plant Pathology, 114: 405-413.
47. Vasyukova, N.I., Zinoveva, S.V., Iinskaya, L.I., Perekhod, E.A., Chalenko, G.L., Gerasimova, N.G., Lina, A.V., Varlamov, V.P., and Ozeretskovskaya, O.L. 2001. Modulation of plant resistance to disease by water soluble chitosan. Applied Biochemistry and Microbiology, 37: 103-109.
48. Wong, D.W.S., Gastineau, F.A., Gregorski, K.S., Tillin, S.J., and Pavalth, E. 1992. Chitosan lipid films: microstructure and surface energy. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 40: 540-544.
49. Ziaee, H. 2016. Application of chitosan biopolymere for control of carob moth, *Spectrobates ceratoniae* Zeller. M.Sc. Thesis, Baharan High Educational Institute. (In Persian).
50. Ziaee, M., Moharramipour, S., and Mohsenifar, A. 2014. MA-chitosan nanogel loaded with *Cuminum cyminum* essential oil for efficient management of two stored product beetle pests. Journal of Pest Science, 87: 691-699.