

## بررسی سمیت تماسی و دوام اسانس گیاهان دارویی رازیانه، کلپوره و مرزه روی حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات (*Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae))

آرزو حیدرزاده<sup>۱</sup>، غلامحسین مروج<sup>۲\*</sup>، سعید هاتفی<sup>۳</sup> و جواد شباهنگ<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، رشته حشره‌شناسی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- نویسنده مسئول، استادیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، پست الکترونیک: Moravej@ferdowsi.um.ac.ir

۳- مربی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۴- مربی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۳۹۱

تاریخ اصلاح نهایی: بهمن ۱۳۹۱

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۰

### چکیده

سمیت تماسی و دوام اسانس گیاهان رازیانه (*Foeniculum vulgare* Miller)، کلپوره (*Teucrium polium* Boiss.) و مرزه (*Satureja hortensis* L.) روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات، در شرایط دمای  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  و رطوبت نسبی  $5 \pm 65\%$ ، در تاریکی مورد بررسی قرار گرفت. اسانس‌ها با استفاده از دستگاه کلونجر به روش تقطیر با آب تهیه گردید. سمیت تماسی روی حشرات کامل یک روزه در ۶ غلظت و پس از ۲۴ ساعت ارزیابی شد. میزان دوام اسانس‌ها، در یک دوره ۳۰ ساعته، در غلظت معادل LC<sub>99</sub> تماسی بررسی گردید. نتایج سمیت تماسی اسانس‌ها نشان داد که مرگ و میر حشرات کامل یک روزه در هر دو جنس نر و ماده با افزایش غلظت اسانس افزایش یافت. حشرات نر در مقایسه با حشرات ماده نسبت به کلیه اسانس‌ها، حساسیت بیشتری نشان دادند. اسانس رازیانه با LC<sub>50</sub> معادل  $38/390$  و  $46/513$  میکرولیتر بر مترمربع به ترتیب علیه افراد نر و ماده، مؤثرتر از سایر اسانس‌های مورد بررسی بود. مقادیر LC<sub>50</sub> برای اسانس مرزه معادل  $69/535$  و  $99/640$  میکرولیتر بر مترمربع و برای اسانس کلپوره معادل  $09/1263$  و  $72/1469$  میکرولیتر بر مترمربع به ترتیب علیه افراد نر و ماده بدست آمد. نتایج بررسی دوام نشان داد که اسانس مرزه بیشترین ماندگاری و اسانس کلپوره کمترین ماندگاری را داشت. ماندگاری زیاد اسانس مرزه احتمالاً به دلیل میزان بیشتر ترکیب‌های اکسیژنه در ترکیب این اسانس بود. نتایج این بررسی، قابلیت بالای این اسانس‌ها را در کنترل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: اسانس‌های گیاهی، دوام، سمیت تماسی، سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات.

### مقدمه

۳۰ میلیون دلار است در اثر خسارت این آفت از بین می‌رود. در هندوستان خسارت سالانه وارده توسط این آفت به انبارهای لوبیا چشم‌پلبللی در حدود ۴-۳۲٪ است (Chaubey, 2008). در ایران خسارت سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات روی لوبیا چشم‌پلبللی به قدری شدید است که اغلب کشاورزان ایرانی از کشت این محصول روی‌گردان می‌شوند (باقری زنوز، ۱۳۸۶). به منظور حفاظت حبوبات انبار شده از آلودگی به سوسک چهار نقطه‌ای، از حشره‌کش‌های مختلف مصنوعی و به ویژه تدخین شونده‌ها استفاده می‌شود. کاربرد بی‌رویه و مداوم این آفت‌کش‌ها

سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات (*Callosobruchus maculatus* F.) یکی از مهمترین آفات حبوبات انباری در سرتاسر دنیاست. لارو این آفت از محصولات مختلف نظیر برخی ارقام لوبیا، نخود، ماش، عدس، باقلا و غیره تغذیه کرده (Rahman & Talukder, 2006) و باعث کاهش وزن محصول، بازارپسندی، قدرت جوانه‌زنی دانه‌ها و کاهش کیفیت غذایی آنها می‌گردد (Boateng & Kusi, 2008). براساس گزارش Singh (۱۹۸۶) در نیجریه حدود ۴٪ از کل تولید سالانه لوبیا چشم‌پلبللی که دارای ارزشی معادل

نعناعیان و جاشیر کوتوله (*Prangos acaulis* DC.) از خانواده چتریان روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات و شیشه برنج (*Sitophilus oryzae* L.) مورد بررسی قرار گرفته است (Negahban & Moharramipour, 2006; Taghizadeh Saroukolai & Moharramipour, 2011; Moharramipour et al., 2010; Ilboudo et al., 2009). در بررسی حاضر، سمیت تماسی و دوام اثرات حشره‌کشی اسانس گونه‌های گیاهی رازیانه (*Foeniculum vulgare*) از خانواده چتریان و کلپوره (*Teucrium polium* Boiss.) و مرزه (*Satureja hortensis*) از خانواده نعناعیان روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات مورد ارزیابی قرار گرفت.

### مواد و روشها

#### تهیه اسانس

در اواخر فصل تابستان ۱۳۸۷ اندام‌های هوایی گیاه مرزه از مزرعه نمونه دانشگاه فردوسی مشهد جمع‌آوری شد و در محلی تاریک و خشک به مدت یک هفته قرار گرفت تا خشک شود. اندام‌های هوایی دیگر گیاهان موجود در این مطالعه (شامل بذر رازیانه، گل و جوانه کلپوره) به صورت آماده و خشک شده خریداری شد. تأیید نام علمی مرزه توسط پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد و تأیید اسامی علمی و خلوص سایر گیاهان در تحقیق حاضر با ارسال نمونه‌های خریداری شده به بخش گیاهان دارویی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی انجام گردید. به منظور تهیه اسانس، اندام‌های هوایی ذکر شده به شکل پودر درآمدند. در هر نوبت، ۵۰ گرم پودر گیاهی همراه با ۶۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر با استفاده از دستگاه کلونجر (ساخت صنایع Labor Múszéripari Múvek مجارستان) طی مدت ۴ ساعت در دمای ۱۰۰°C به روش تقطیر با بخار آب اسانس‌گیری شد. اسانس‌های جمع‌آوری شده به وسیله سولفات سدیم (بدون آب) آبگیری و تا زمان استفاده در ظروف شیشه‌ای تیره به حجم ۲۰ میلی‌لیتر در یخچال (دمای ۴°C) نگهداری شد.

#### پرورش حشرات

کلنی اولیه سوسک نقطه‌ای حبوبات از آزمایشگاه حشره‌شناسی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه گردید. به منظور تکثیر حشرات تعداد ۵۰ حشره نر و ماده روی ۱۰۰ گرم

سبب بوجود آمدن مشکلات جدی نظیر بروز مقاومت در آفات، اثرات سوء زیست محیطی و بجا ماندن بقایای سمی در محصولات غذایی شده است (Rahman & Talukder, 2006; Mahfuz & Khalequzzaman, 2007). بنابراین با توجه به خسارت بالای آفات انباری و به منظور اجتناب از اثرات نامطلوب تدخین شونده‌های مرسوم در چند دهه اخیر پژوهش‌های گسترده‌ای به منظور توسعه ترکیب‌های جدید و ترجیحاً با منشأ گیاهی صورت گرفته است. استفاده از ترکیب‌ها و متابولیت‌های ثانویه گیاهی به دلیل برخورداری از ویژگی‌هایی مانند مکانیسم عمل پیچیده و اختصاصاتی که مانع از بروز مقاومت در حشرات می‌شود به عنوان بهترین راهبرد جایگزین برای کنترل آفات انباری مطرح شده است (Viglianco et al., 2008). ترکیب‌های سمی گیاهی به دلیل قابلیت تجزیه به متابولیت‌های غیرسمی از قابلیت بالایی برای کاربرد در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات برخوردار می‌باشند (Kim et al., 2003). گیاهان خانواده چتریان (Apiaceae) و نعناعیان (Lamiaceae) از جمله گیاهان اسانس‌داری هستند که خواص حشره‌کشی آنها مورد تحقیق قرار گرفته است (Chaubey, 2008; Ilboudo et al., 2010). براساس گزارش Moravvej و همکاران (۲۰۱۱) اسانس گیاه زیره سیاه کرمانی (*Bunium persicum* Bioss.) از خانواده چتریان سمیت تماسی قابل توجهی روی حشرات کامل نر و ماده شیشه قرمز آرد (*Tribolium castaneum* Herbst) داشت. اثر سمیت تماسی اسانس‌های اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia* Miller) و آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Bioss.) از خانواده نعناعیان روی حشرات کامل نر و ماده سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات توسط گلستانی کلات (۱۳۸۸) گزارش گردید. مطالعات Sampson و همکاران (۲۰۰۵) نشان داد که اسانس گونه‌های گیاهی رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.)، مرزه (*Satureja hortensis* L.) و نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.) از خانواده نعناعیان و رازیانه (*Foeniculum vulgare* Miller) از خانواده چتریان سمیت تماسی بالایی روی ماده‌های زنده‌زای شته شلغم (*Lipaphis pseudobrassicae* Davis) داشتند. دوام سمیت اسانس آویشن ایرانی (*Thymus persicus* (Roniger ex Reach) (F.)، ریحان خاکستری (*Ocimum americanum*)، (*Hyptis suaveolens* Poit. و *Hyptis spicigera* Lam.) از خانواده

شمارش و ثبت گردید. مقادیر LC<sub>50</sub> و LC<sub>90</sub> برای هر اسانس با استفاده از نرم افزار POLO-PC و به روش Finney (۱۹۷۱) محاسبه گردید. آنالیز رگرسیون پروبیت مرگ و میر-غلظت توسط نرم افزار POLO-PC و مقایسه سمیت اسانس ها به روش Robertson و Preisler (۱۹۹۲) انجام شد.

#### بررسی میزان دوام اسانس ها

میزان دوام سمیت اسانس ها در غلظت در زمان های مختلف روی حشرات کامل سوسک چهارنقطه ای حیویات براساس روش Ngamo و همکاران (۲۰۰۷) با اندکی تغییرات مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور، در ابتدا با استفاده از نرم افزار POLO-PC، غلظت LC<sub>99</sub> سمیت تماسی اسانس ها برای جنس نر و ماده مشخص شد. مقادیر این شاخص برای اسانس های رازیانه، کلیپوره و مرزه به ترتیب برابر ۸۲۸، ۲۰۱۰ و ۱۹۲۹ میکرولیتر بر مترمربع علیه حشرات نر و ۱۲۸۲، ۲۶۵۷ و ۲۷۴۵ میکرولیتر بر مترمربع علیه حشرات ماده بود. مقدار مناسب از هر اسانس متناسب با مساحت کاغذ صافی در یک میلی لیتر استون حل گردید و به کمک میکروبیوت روی کاغذ صافی (به قطر ۹ سانتی متر) درون پتری دیش ریخته شد. پس از ۶ ساعت از زمان ریختن اسانس روی کاغذ صافی، تعداد ۱۰ حشره کامل نر یا ماده یک روزه درون هر پتری دیش رها شد و ۲۴ ساعت بعد، درصد مرگ و میر ثبت گردید. همین روند برای ۱۲، ۱۸، ۲۴ و ۳۰ ساعت ادامه یافت. بررسی هر دوره ماندگاری در ظروف پتری دیش جداگانه انجام شد. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با ۵ تکرار برای هر جنس نر یا ماده در شرایط دمایی ۲۸±۲°C و رطوبت نسبی ۶۵±۵٪ انجام گردید. تجزیه واریانس روی داده های درصد مرگ و میر انجام شد. برای تجزیه واریانس نرم افزار SAS V.6 مورد استفاده قرار گرفت. محاسبه LT<sub>50</sub> برای بررسی دوام اسانس های مورد مطالعه مشابه مطالعات Taghizadeh Saroukolai و Moharramipour (۲۰۱۱)، Negahban و Moharramipour (۲۰۰۶) و همکاران (۲۰۰۹) به روش Finney (۱۹۷۱) انجام گردید.

#### نتایج

##### بررسی سمیت تماسی اسانس ها

نتایج حاصل از زیست سنجی نشان داد که در هر سه اسانس مورد مطالعه با افزایش غلظت اسانس، مرگ و میر

لوبیا چشم بلبلی منتقل شد. پس از یک روز حشرات کامل از ظروف پرورش حذف گردید و بذره های لوبیا حاوی تخم تا زمان خروج حشرات کامل نسل جدید در دستگاه انکوباتور در شرایط دمایی ۲۸±۲°C و رطوبت نسبی ۶۵±۵٪ و در تاریکی نگهداری شدند. برای انجام آزمایش های زیست سنجی از حشرات کامل یک روزه استفاده شد. آزمایش ها برای هر یک از جنس های نر و ماده به طور جداگانه انجام شد.

##### بررسی سمیت تماسی اسانس ها

زیست سنجی سمیت تماسی براساس روش Taponjoudjou و همکاران (۲۰۰۵) با اندکی تغییرات در ظروف پتری دیش به قطر ۹ سانتی متر در شرایط دمایی ۲۸±۲°C و رطوبت نسبی ۶۵±۵ درصد انجام شد. به منظور یافتن غلظت های مناسب، چند سری آزمایش مقدماتی انجام گردید. از اسانس رازیانه مقادیر ۱/۷، ۲، ۲/۴، ۲/۸، ۳/۴، ۴ میکرولیتر (به ترتیب معادل ۲۶۷، ۳۱۵، ۳۷۷، ۴۴۰، ۵۳۵ و ۶۲۹ میکرولیتر بر مترمربع) برای حشرات نر و مقادیر ۲، ۲/۵، ۳/۱، ۳/۹، ۴/۸ و ۶ میکرولیتر (به ترتیب معادل ۳۱۵، ۳۹۳، ۴۸۸، ۶۱۳ و ۷۵۵ و ۹۴۴ میکرولیتر بر مترمربع) برای حشرات ماده؛ از اسانس کلیپوره مقادیر ۶، ۶/۸، ۷/۶، ۸/۶، ۹/۷ و ۱۱ میکرولیتر (به ترتیب معادل ۹۴۴، ۱۰۶۹، ۱۱۹۵، ۱۳۵۳، ۱۵۲۵ و ۱۷۳۰ میکرولیتر بر مترمربع) برای حشرات نر و مقادیر ۷، ۷/۸، ۸/۷، ۹/۷، ۱۰/۸ و ۱۲ میکرولیتر (به ترتیب معادل ۱۱۰۱، ۱۲۲۷، ۱۳۶۸، ۱۵۲۶، ۱۶۹۹ و ۱۸۸۷ میکرولیتر بر مترمربع) برای حشرات ماده؛ از اسانس مرزه مقادیر ۲، ۲/۵، ۳/۲، ۴، ۵ و ۶/۳ میکرولیتر (به ترتیب معادل ۳۱۵، ۳۹۳، ۵۰۳، ۶۲۹ و ۷۸۶ و ۹۹۱ میکرولیتر بر مترمربع) برای حشرات نر و مقادیر ۲، ۲/۶، ۳/۵، ۴/۶، ۶/۱ و ۸ میکرولیتر (به ترتیب معادل ۳۱۵، ۴۰۹، ۵۵۰، ۷۲۳، ۹۵۹ و ۱۲۵۸ میکرولیتر بر مترمربع) برای حشرات ماده در یک میلی لیتر استون حل گردید و روی کاغذ صافی درون پتری دیش ریخته شد. در ظروف شاهد تنها استون بکار رفت. به منظور خشک شدن سطح کاغذ صافی و به حداقل رساندن اثرات تنفسی اسانس ها، پتری دیش ها به مدت ۳۰ دقیقه در معرض هوای آزاد قرار گرفت. سپس تعداد ۱۰ حشره کامل یک روزه نر یا ماده به صورت مجزا به درون پتری ها منتقل شد. آزمایش ۶ مرتبه تکرار شد. تعداد حشرات مرده در ظرف تیمار و شاهد ۲۴ ساعت بعد از اسانس دهی

سمیت تماسی بالاتری علیه حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات بود. کمترین میزان سمیت تماسی مربوط به اسانس کلپوره علیه حشرات کامل ماده با  $LC_{50}$  معادل  $1469/72$  میکرولیتر بر مترمربع و بیشترین میزان سمیت مربوط به اسانس رازیانه علیه حشرات نر با  $LC_{50}$  معادل  $390/38$  میکرولیتر بر مترمربع بود (جدول ۲).

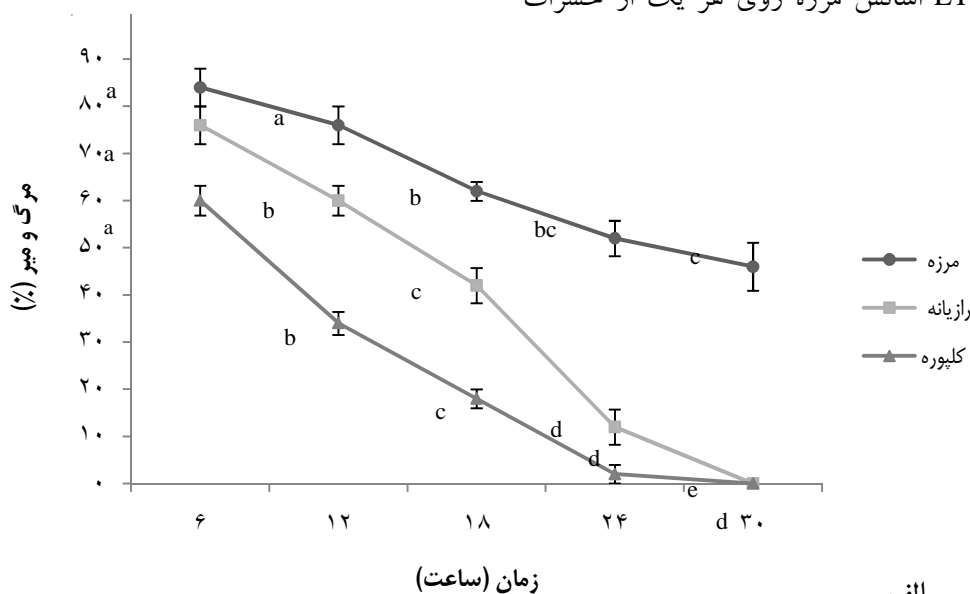
مقایسه بین میزان حساسیت حشرات نر و ماده به هر یک از اسانس‌ها با استفاده از نسبت  $LC_{50}$ ها و حدود اطمینان ۹۵٪ آن نشان داد که میزان  $LC_{50}$  هر یک از اسانس‌های رازیانه، کلپوره و مرزه علیه حشرات ماده به‌طور معنی‌داری بزرگتر از میزان این شاخص علیه حشرات نر بود (جدول ۳). مقایسه بین سمیت اسانس‌ها براساس شاخص  $LC_{50}$  نشان داد که برای هر یک از حشرات نر یا ماده،  $LC_{50}$  اسانس کلپوره به‌طور معنی‌داری بزرگتر از  $LC_{50}$  اسانس‌های رازیانه و مرزه بود. همچنین شاخص‌های  $LC_{50}$  اسانس مرزه علیه هر یک از حشرات نر و ماده به‌طور معنی‌داری بزرگتر از میزان این شاخص‌ها در اسانس رازیانه بودند (جدول ۴).

نتایج میزان ماندگاری سمیت اسانس‌های رازیانه، کلپوره و مرزه نتایج تجزیه واریانس روی داده‌های دوام سمیت تماسی اسانس‌های مورد بررسی نشان داد که اثرات اصلی نوع اسانس ( $F_{(2,149)}=457.80, p < 0.001$ )، زمان ( $F_{(4,149)}=395.84, p < 0.001$ ) و اثر متقابل نوع اسانس  $\times$  زمان ( $F_{(8,149)}=15.92, p < 0.001$ ) معنی‌دار بود، ولی اثر اصلی جنس حشره ( $F_{(1,149)}=395.84, p=0.634$ ) و اثرات متقابل نوع اسانس  $\times$  جنس حشره ( $F_{(2,149)}=0.01, p=0.985$ )، جنس حشره  $\times$  زمان ( $F_{(4,149)}=0.83, p=0.508$ ) و نوع اسانس  $\times$  جنس حشره  $\times$  زمان ( $F_{(8,149)}=0.62, p=0.762$ ) معنی‌دار نبود. براساس نتایج حاصل با گذشت زمان میزان تأثیر اسانس‌ها روی حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات، به شدت کاهش یافت (شکل ۱) و اختلاف معنی‌داری بین دوام اسانس‌های مورد بررسی وجود داشت. اسانس‌های کلپوره و مرزه به ترتیب کمترین و بیشترین ماندگاری را نشان دادند.  $LT_{50}$  محاسبه شده جهت بررسی دوام اسانس‌های کلپوره، رازیانه و مرزه روی حشرات کامل نر به ترتیب برابر  $7/91$ ،  $12/02$  و  $26/99$  ساعت و روی حشرات کامل ماده به ترتیب برابر  $8/37$ ،  $12/25$  و  $25/49$

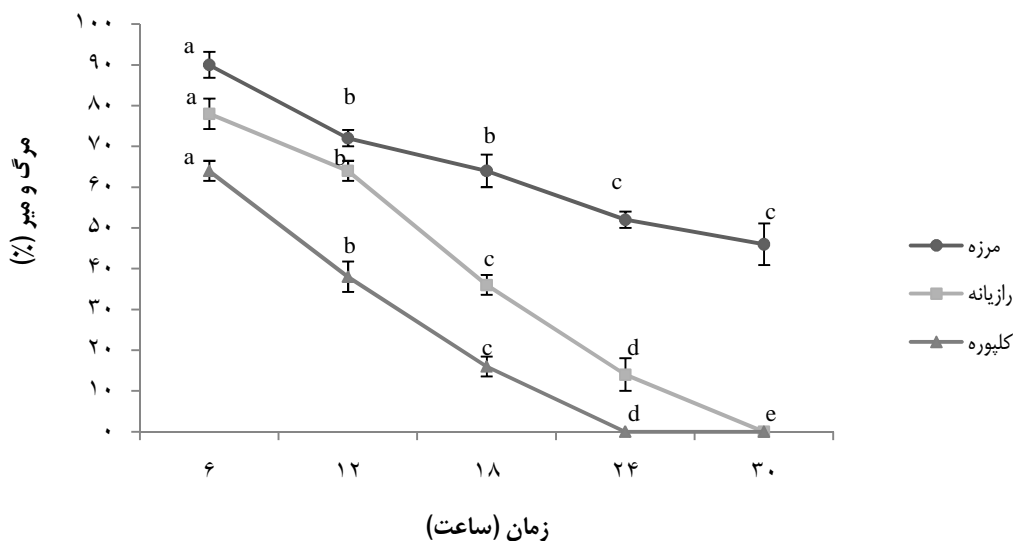
حشرات کامل هر دو جنس نر و ماده افزایش یافت (جدول ۱). براساس نتایج آنالیز پروبیت مقادیر شیب خطوط پروبیت مرگ و میر افراد نر و ماده در اثر اسانس‌ها بین  $3/68-11/52$  متغیر بود (جدول ۲). مقایسه شیب براساس آزمون فرضیه موازی بودن خطوط نشان داد که شیب خطوط پروبیت مرگ و میر حشرات کامل در سه اسانس مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند ( $X^2=88.48, df=5, p < 0.001$ ). مقایسه جفتی شیب‌های خطوط پروبیت مرگ و میر افراد نر در بین اسانس‌ها نشان داد که شیب معادله پروبیت در اثر اسانس کلپوره ( $11/52$ ) به‌طور معنی‌داری بزرگتر از شیب معادل در اثر اسانس‌های رازیانه ( $7/12$ ) ( $X^2=13.08, df=1, p < 0.001$ ) و مرزه ( $4/18$ ) ( $X^2=47.32, df=1, p < 0.001$ ) بود. همچنین شیب معادله پروبیت در اثر اسانس رازیانه به‌طور معنی‌داری بزرگتر از شیب نظیر در اثر اسانس مرزه بود ( $X^2=13.36, df=1, p < 0.001$ ). مقایسه‌ی مشابه برای افراد ماده نشان داد که شیب معادله پروبیت در اثر اسانس کلپوره ( $9/04$ ) به‌طور معنی‌داری بزرگتر از شیب نظیر در اثر اسانس‌های رازیانه ( $5/86$ ) ( $X^2=8.36, df=1, p < 0.05$ ) و مرزه ( $3/68$ ) ( $X^2=47.32, df=1, p < 0.001$ ) بود. همچنین شیب معادله پروبیت افراد ماده در اثر اسانس رازیانه به‌طور معنی‌داری بزرگتر از شیب معادل در اثر اسانس مرزه بود ( $X^2=10.96, df=1, p < 0.001$ ). مقایسه‌ی جفتی شیب خطوط پروبیت مرگ و میر در اثر هر یک از اسانس‌ها بین حشرات نر و ماده براساس آزمون فرضیه موازی بودن نشان داد که در اثر اسانس رازیانه بین شیب معادله‌های پروبیت مرگ و میر جنس نر و ماده اختلاف معنی‌داری وجود نداشت ( $X^2=2.13, df=1, p=0.144$ ). نتایج مشابهی در مورد مقایسه بین شیب معادله‌های پروبیت مرگ و میر جنس نر و ماده در اثر اسانس‌های کلپوره ( $X^2=3.05, df=1, p=0.081$ ) و مرزه ( $X^2=0.69, df=1, p=0.405$ ) نیز بدست آمد. نتایج آنالیز پروبیت نشان داد که در همه‌ی موارد فاکتور  $g$  کمتر از  $0/5$  و مقدار آزمون  $t$  بیشتر از  $1/96$  بود. فاکتور هتروژنیته‌ی جز در زیست‌سنجی اسانس‌های رازیانه و کلپوره علیه حشرات نر، کمتر از  $1$  بود. فاکتور هتروژنیته‌ی بزرگتر از یک نشان‌دهنده اعمال فاکتور  $g$  ( $0/95$ ) در تصحیح مقدار  $LC_{50}$  می‌باشد. شاخص‌های  $LC_{50}$  و  $LC_{90}$  نشان دادند که اسانس رازیانه در مقایسه با اسانس کلپوره و مرزه دارای

کامل نر و ماده سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات حدوداً ۲ برابر بیشتر از اسانس رازیانه و حدود ۳ برابر بیشتر از اسانس کلپوره بود. همچنین  $LT_{50}$  اسانس رازیانه علیه هر یک از حشرات نر و ماده به‌طور معنی‌داری بزرگتر از میزان این شاخص در اسانس کلپوره بود (جدول ۷).

ساعت تعیین گردید (جدول ۵). مقایسه‌ی ماندگاری اسانس‌ها روی حشرات نر و ماده براساس شاخص  $LT_{50}$  نشان داد که جنس حشره تأثیری در میزان شاخص  $LT_{50}$  هیچ یک از اسانس‌ها نداشت (جدول ۶). مقایسه ماندگاری اسانس‌ها با استفاده از نسبت  $LT_{50}$  و حدود اطمینان ۹۵٪ نشان داد که  $LT_{50}$  اسانس مرزه روی هر یک از حشرات



الف



ب

شکل ۱- درصد میرگ و میر ( $n=5$ ، خطای معیار-تیمیانگین) حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات (الف: جنس نر، ب: جنس ماده) در فواصل زمانی مختلف در اثر اسانس‌های رازیانه، کلپوره و مرزه (محور افقی نشانگر فاصله زمانی از آغشته‌کردن کاغذ صافی به غلظت  $LC_{99}$  تماسی اسانس‌ها تا رهاسازی حشرات روی آن است).

جدول ۱- درصد مرگ و میر (n=6) خطای معیار± میانگین) حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حیوانات در اثر سمیت تماسی اسانس‌های رازیانه، کلپوره و مرزه در غلظت‌های مختلف پس از ۲۴ ساعت

خطای معیار± میانگین (%)	غلظت اسانس (µl.m <sup>-2</sup> )	جنس حشره	منبع اسانس
۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۰/۰۰		رازیانه
۶/۶۷ ± ۲/۱۱	۲۷۶/۳۶	نر	
۳۰/۰۰ ± ۳/۶۵	۳۱۴/۵۴		
۵۱/۶۷ ± ۱/۶۷	۳۷۷/۴۵		
۶۵/۰۰ ± ۲/۲۴	۴۴۰/۳۶		
۷۶/۶۷ ± ۳/۳۳	۵۳۴/۷۲		
۹۵/۰۰ ± ۲/۲۴	۶۲۹/۰۸		
۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۰/۰۰		کلپوره
۶/۶۷ ± ۳/۳۳	۳۱۴/۰۰۵۴	ماده	
۲۶/۶۷ ± ۳/۳۳	۳۹۳/۱۷		
۵۰/۰۰ ± ۲/۵۸	۴۸۷/۵۴		
۷۰/۰۰ ± ۲/۵۸	۶۱۳/۳۵		
۸۰/۰۰ ± ۲/۵۸	۷۵۴/۹۰		
۹۳/۳۳ ± ۲/۱۱	۹۴۳/۶۲		
۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۰/۰۰		مرزه
۵/۰۰ ± ۲/۲۴	۹۴۳/۶۲	نر	
۱۶/۶۷ ± ۲/۱۱	۱۰۶۹/۴۳		
۵۰/۰۰ ± ۲/۵۸	۱۱۹۵/۲۵		
۶۵/۰۰ ± ۲/۲۴	۱۳۵۲/۵۲		
۷۶/۶۷ ± ۴/۲۲	۱۵۲۵/۵۲		
۹۵/۰۰ ± ۲/۲۴	۱۷۲۹/۹۷		
۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۰/۰۰		کلپوره
۱۱/۶۷ ± ۱/۶۷	۱۱۰۰/۸۹	ماده	
۲۶/۶۷ ± ۲/۱۱	۱۲۲۶/۷۰		
۳۸/۳۳ ± ۳/۰۷	۱۳۶۸/۲۵		
۵۵/۰۰ ± ۲/۲۴	۱۵۲۵/۵۲		
۷۰/۰۰ ± ۲/۵۸	۱۶۹۸/۵۱		
۸۵/۰۰ ± ۲/۲۴	۱۸۸۷/۲۴		
۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۰/۰۰		رازیانه
۱۳/۳۳ ± ۲/۱۱	۳۱۴/۵۴	نر	
۳۳/۳۳ ± ۲/۱۱	۳۹۳/۱۷		
۴۸/۳۳ ± ۱/۶۷	۵۰۳/۲۶		
۵۸/۳۳ ± ۱/۶۷	۶۲۹/۰۸		
۷۳/۳۳ ± ۲/۱۱	۷۸۶/۳۵		
۸۸/۳۳ ± ۱/۶۷	۹۹۰/۸۰		
۰/۰۰ ± ۰/۰۰	۰/۰۰		کلپوره
۸/۳۳ ± ۱/۶۷	۳۱۴/۵۴	ماده	
۲۶/۶۷ ± ۲/۱۱	۴۰۸/۹۰		
۴۶/۶۷ ± ۲/۱۱	۵۵۰/۴۴		
۵۶/۶۷ ± ۲/۱۱	۷۲۳/۴۴		
۷۰/۰۰ ± ۲/۵۸	۹۵۹/۳۵		
۸۶/۶۷ ± ۲/۱۱	۱۲۵۸/۱۶		

جدول ۲- آنالیز پروبیت رگرسیون مرگ و میر غلظت پس از ۲۴ ساعت ناشی از سمیت تماسی اسانس‌های رازیانه، کلپوره و مرزه علیه حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای به تفکیک جنس

غلظت کشنده ( $\mu\text{l.m}^{-2}$ ) (حدود اطمینان ۹۵٪)		فاکتور g	هتروژنیته	نسبت t	$\chi^2$ (df=4)	(خطای معیار ±) شیب	n	جنس حشره	منبع اسانس
LC <sub>90</sub>	LC <sub>50</sub>								
۵۹۰/۷۴	۳۹۰/۳۸								
-۷۲۲/۶۸	۳۵۷/۴۸-۴۲۳/۹۶	۰/۰۹۷	۱/۳۹	۱۰/۴۸	۱/۳۹	۷/۱۲ (±۰/۶۸)	۴۲۰	نر	رازیانه
۵۲۵/۴۴									<i>F. vulgare</i>
۸۴۹/۸۷	۵۱۳/۴۶								
-۹۶۱/۰۸	۴۸۲/۶۸-۵۴۴/۹۱	۰/۰۳۳	۰/۶۵	۱۰/۷۷	۰/۶۵	۵/۸۶ (±۰/۵۴)	۴۲۰	ماده	
۷۷۶/۰۷									
۱۶۳۱/۶۷	۱۲۶۳/۰۹								
-۱۸۴۳/۵۶	-۱۳۳۲/۵۹	۰/۰۸۸	۱/۴۱	۱۱/۰۹	۵/۶۳	۱۱/۵۲ (±۱/۰۴)	۴۲۰	نر	
۱۵۱۵/۸۲	۱۱۹۵/۹۴								کلپوره
۲۰۳۶/۴۴	۱۴۶۹/۷۲								<i>T. polium</i>
-۲۲۴۸/۷۰	-۱۵۲۵/۹۷	۰/۰۴۴	۰/۱۲	۹/۲۷	۰/۴۹	۹/۰۵ (±۰/۹۸)	۴۲۰	ماده	
۱۹۰۳/۴۰	۱۴۱۷/۰۸								
۱۰۸۵/۱۱	۵۳۵/۶۹								
-۱۳۳۱/۰۵	۴۹۳/۷۷-۵۷۹/۴۷	۰/۰۴۶	۰/۴۷	۹/۱۳	۱/۸۸	۴/۱۸ (±۰/۴۶)	۴۲۰	نر	مرزه
۹۴۴/۲۶									<i>S. hortensis</i>
۱۴۲۸/۴۱	۶۴۰/۹۹								
-۱۸۰۰/۱۲	۵۸۵/۲۳-۷۰۲/۵۵	۰/۰۴۲	۰/۷۳	۹/۵۶	۲/۹۳	۳/۶۸ (±۰/۳۸)	۴۲۰	ماده	
۱۲۱۶/۸۶									

n: تعداد حشرات مورد آزمایش

جدول ۳- نسبت‌های LC<sub>50</sub> و حدود اطمینان ۹۵٪ آنها جهت مقایسه بین حساسیت حشرات نر و ماده

سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات به سمیت تماسی اسانس‌ها

حدود اطمینان ۹۵٪	نسبت LC <sub>50</sub>	متغیر
مقایسه بین حساسیت حشرات ماده و نر	(LC <sub>50</sub> نر / LC <sub>50</sub> ماده)	منبع اسانس
۱/۲۲-۱/۴۲ *	۱/۳۱	رازیانه
۱/۱۱-۱/۲۲ *	۱/۱۶	کلپوره
۱/۰۶-۱/۳۵ *	۱/۲۰	مرزه

¥: حدود اطمینان ۹۵٪ براساس روش Robertson و Preisler (۱۹۹۲) محاسبه شد.

\*: اختلاف معنی‌داری بین LC<sub>50</sub>های مقایسه شده در سطح ۵٪ وجود دارد.

جدول ۴- نسبت‌های  $LC_{50}$  و حدود اطمینان ۹۵٪ آنها جهت مقایسه سمیت تماسی اسانس‌ها روی جنس نر یا ماده

سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات

متغیر	نسبت $LC_{50}$	حدود اطمینان ۹۵٪
جنس حشره	( $LC_{50}$ رازیانه / $LC_{50}$ کلپوره)	مقایسه بین سمیت اسانس‌ها روی هر جنس
نر	۳/۲۴	۳/۰۵-۳/۴۳ *
ماده	۲/۸۶	۲/۶۷-۳/۰۷ *
جنس حشره	( $LC_{50}$ مرزه / $LC_{50}$ کلپوره)	مقایسه بین سمیت اسانس‌ها روی هر جنس
نر	۲/۳۶	۲/۱۶-۲/۵۷ *
ماده	۲/۲۹	۲/۰۸-۲/۵۳ *
جنس حشره	( $LC_{50}$ رازیانه / $LC_{50}$ مرزه)	مقایسه بین سمیت اسانس‌ها روی هر جنس
نر	۱/۳۷	۱/۲۵-۱/۵۱ *
ماده	۱/۲۵	۱/۱۲-۱/۳۹ *

٪ حدود اطمینان ۹۵٪ براساس روش Robertson و Preisler (۱۹۹۲) محاسبه شد.

\*: اختلاف معنی‌داری بین  $LC_{50}$  های مقایسه شده در سطح ۵٪ وجود دارد.

جدول ۵- مقادیر  $LT_{50}$  محاسبه شده برای دوام سمیت تماسی اسانس‌های رازیانه، کلپوره و مرزه در غلظت معادل  $LC_{99}$  تماسی روی

حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات به تفکیک جنس

منبع اسانس	جنس حشره	$X^2$ (df)	P	خطای معیار (±) ثابت	خطای معیار (±) شیب	$LT_{50}$ (hours)
رازیانه <i>F. vulgare</i>	نر	۱۵/۳۵ (۳)	۰/۷۲	۳/۶۵ (±۰/۴۷)	-۳/۳۸ (±۰/۳۹)	۱۲/۰۲ ۶/۶۵-۱۶/۹۸
	ماده	۱۲/۶۴ (۳)	۰/۵۶	۳/۸۶ (±۰/۴۸)	-۳/۵۵ (±۰/۴۱)	۱۲/۲۵ ۷/۷۹-۱۶/۴۹
کلپوره <i>T. polium</i>	نر	۶/۱۹ (۳)	۰/۳۵	۲/۹۸ (±۰/۴۷)	-۳/۲۳ (±۰/۴۳)	۷/۹۱ ۵/۰۴-۱۰/۱۵
	ماده	۸/۰۸ (۳)	۰/۴۰	۳/۴۲ (±۰/۴۹)	-۳/۷۱ (±۰/۴۵)	۸/۳۷ ۵/۳۷-۱۰/۸۱
مرزه <i>S. hortensis</i>	نر	۰/۶۳ (۳)	۰/۱۸	۲/۳۷ (±۰/۴۵)	-۱/۶۵ (±۰/۳۶)	۲۶/۹۹ ۲۱/۰۹-۴۲/۷۰
	ماده	۰/۲۴ (۳)	۰/۱۴	۲/۷۹ (±۰/۴۸)	-۱/۹۹ (±۰/۳۸)	۲۵/۴۹ ۲۱/۴۱-۳۳/۰۵



جدول ۶- نسبت‌های  $LT_{50}$  و حدود اطمینان ۹۵٪ آنها جهت مقایسه میزان دوام سمیت اسانس‌ها در غلظت

معادل  $LC_{99}$  تماسی بین حشرات نر و ماده سوسک چهار نقطه‌ای حیوانات

متغیر	نسبت $LT_{50}$	حدود اطمینان ۹۵٪
متغیر اسانس	( $LT_{50}$ نر / $LT_{50}$ ماده)	مقایسه ماندگاری اسانس‌ها بین حشرات ماده و نر
رازیانه	۱/۰۲	۰/۸۴-۱/۲۲ ns
کلیپوره	۱/۰۶	۰/۸۳-۱/۳۴ ns
مرزه	۰/۹۴	۰/۶۳-۱/۴۰ ns

۳: حدود اطمینان ۹۵٪ براساس روش Robertson و Preisler (۱۹۹۲) محاسبه شد.

ns: اختلاف معنی‌داری بین  $LT_{50}$ ‌های مقایسه شده در سطح ۵٪ وجود ندارد.

جدول ۷- نسبت‌های  $LT_{50}$  و حدود اطمینان ۹۵٪ آنها جهت مقایسه بین میزان دوام سمیت اسانس‌ها در غلظت

$LC_{99}$  تماسی روی جنس نر یا ماده سوسک چهار نقطه‌ای حیوانات

متغیر	نسبت $LT_{50}$	حدود اطمینان ۹۵٪
جنس حشره	( $LT_{50}$ رازیانه / $LT_{50}$ مرزه)	مقایسه بین ماندگاری اسانس‌ها روی هر جنس
نر	۲/۴۶	۱/۶۰-۳/۱۵ *
ماده	۲/۰۸	۱/۵۸-۲/۷۴ *
جنس حشره	( $LT_{50}$ کلیپوره / $LT_{50}$ مرزه)	مقایسه بین ماندگاری اسانس‌ها روی هر جنس
نر	۳/۴۱	۲/۳۸-۴/۸۸ *
ماده	۳/۰۴	۲/۲۷-۴/۰۶ *
جنس حشره	( $LT_{50}$ کلیپوره / $LT_{50}$ رازیانه)	مقایسه بین ماندگاری اسانس‌ها روی هر جنس
نر	۱/۵۲	۱/۲۲-۱/۸۹ *
ماده	۱/۴۶	۱/۱۹-۱/۷۸ *

۳: حدود اطمینان ۹۵٪ براساس روش Robertson و Preisler (۱۹۹۲) محاسبه شد.

\*: اختلاف معنی‌داری بین  $LT_{50}$ ‌های مقایسه شده در سطح ۵٪ وجود دارد.

جدول ۸- مقادیر نسبی (%) منوترپن‌های اکسیژنه و هیدروژنه در اسانس‌های رازیانه، کلپوره و مرزه (اقتباس از حیدرزاده و همکاران، ۱۳۹۰)

ترکیب‌های فعال OMT	ترکیب‌های فعال HMT	HMT (%)	OMT (%)	منبع اسانس
1,8-cineole, fenchone, camphor, carvone, Z-anethole, E-anethole	$\alpha$ -pinene, camphene, sabienne, $\beta$ -pinene, myrcene, $\alpha$ -phellandrene, p-cymene, limonene, $\gamma$ -terpinene	۱۷/۲۵	۷۵/۳۷	رازیانه <i>F. vulgare</i>
cis-verbenol, verbenone, carvone, E-piperitenone oxide, E-anethole, piperitenone, piperitenone oxide, cinerolon	$\alpha$ -pinene, $\beta$ -pinene, myrcene, p-cymene, limonene, Z- $\beta$ -ocimene	۲۸/۴۹	۴۱	کلپوره <i>T. polium</i>
thymol, terpinen-4-ol, carvacrol	$\alpha$ -thujene, $\alpha$ -pinene, $\beta$ -pinene, myrcene, $\alpha$ -phellandrene, $\gamma$ -terpinene, p-cymene, limonene, $\beta$ -phellandrene, $\alpha$ -terpinene	۱۶/۰۶	۷۹/۲۷	مرزه <i>S. hortensis</i>

OMT: Oxygenated monoterpenes

HMT: Hydrocarbon monoterpenes

## بحث

کامل سوسک چهار نقطه‌ای حیوانات داشتند. میزان  $LC_{50}$  اسانس کلپوره حدود ۳ برابر بزرگتر از  $LC_{50}$  اسانس رازیانه و ۲/۳ برابر بزرگتر از میزان این شاخص در اسانس مرزه بود (جدول ۴). البته تفاوت بین میزان سمیت تماسی اسانس‌های مختلف روی یک گونه حشره توسط سایر پژوهشگران نیز گزارش شده‌است (Mahfuz & Tapondjou *et al.*, 2005؛ Khalequzaman, 2007؛ Ngamo *et al.*, 2007). سمیت تماسی اسانس و عصاره رازیانه، کلپوره و مرزه روی برخی آفات از جمله سوسک چینی حیوانات (*Callosobruchus chinensis* L. و شته شلغم (*Lipaphis pseudobrassicae*) در منابع علمی بررسی شده‌است (Kim & Ahn, 2001؛ Sampson *et al.*, 2005). بنابر گزارش Tapondjou و همکاران (۲۰۰۵) سمیت اسانس‌های گیاهی ناشی از عملکرد بیولوژیک ترکیب‌های تشکیل‌دهنده آنها روی حشرات می‌باشد. آنالیز شیمیایی اسانس‌های رازیانه، کلپوره و مرزه نشان داد که اصلی‌ترین ترکیب‌ها در اسانس رازیانه ترانس-آنتول (۶۱/۶۰٪)، فنچون (۱۴/۱۲٪) و لیمونن (۹۲/۸٪)، در اسانس کلپوره کارون (۲۹/۱۱٪) و در اسانس مرزه کارواکرول (۱۳/۵۰٪) و تیمول (۷۷/۲۷٪) بودند (حیدرزاده و همکاران، ۱۳۹۰). اثرات بیولوژیکی متنوع برخی از این ترکیب‌ها روی حشرات توسط محققان مختلف مورد بررسی و تأیید قرار گرفته‌است (Ahn *et al.*, 1998؛ Kim & Ahn, 2001؛

نتایج بررسی سمیت تماسی اسانس‌های رازیانه، کلپوره و مرزه روی حشرات کامل یک روزه سوسک چهار نقطه‌ای نشان داد که همبستگی مثبت بین درصد تلفات و غظت اسانس‌ها وجود داشت (جدول ۱). اثر غلظت اسانس در سمیت تماسی در تحقیقات مختلف نیز نشان داده شده است (Mahfuz & Khalequzaman, 2007؛ Owolabi *et al.*, 2009). مقایسه حساسیت حشرات نر و ماده با استفاده از نسبت  $LC_{50}$  و حدود اطمینان ۹۵٪ آنها نشان داد که حشرات ماده نسبت به سمیت تماسی هر سه اسانس به‌طور معنی‌داری در مقایسه با حشرات نر مقاومتر بودند (جدول ۳). حساسیت بیشتر افراد نر سوسک چهار نقطه‌ای حیوانات نسبت به سمیت تماسی عصاره‌های گیاهی در تحقیقات مختلف نشان داده شده‌است (Mollah & Islam, 2007؛ Mollah & Islam, 2008). تفاوت حساسیت حشرات نر و ماده به اسانس ممکن است ناشی از تفاوت حشرات نر و ماده از نظر اندازه یا وزن، میزان چربی بدن و نیز تفاوت در روش سم‌زدایی اسانس در آنها باشد (Weaver *et al.*, 1994؛ Papachristos & Stamopoulos, 2002؛ Papachristos *et al.*, 2004).

نتایج بررسی حاضر نشان داد که اسانس رازیانه و کلپوره به‌ترتیب بیشترین و کمترین سمیت تماسی را علیه حشرات

اکسیداسیون را به شدت افزایش می‌دهند (Miresmailli & Isman, 2006; Ilboudo *et al.*, 2010).

نتایج حاصل از مقایسه  $LT_{50}$  اسانس‌ها نشان داد که میزان  $LT_{50}$  اسانس مرزه حدود ۲ برابر اسانس رازیانه و ۳ برابر اسانس کلپوره بود (جدول ۷). بدین معنی که مدت زمان لازم برای تبخیر کامل اسانس و از دست دادن خاصیت کشندگی در اسانس مرزه به طور معنی‌داری بیشتر از اسانس‌های رازیانه و کلپوره بود (شکل ۱). میزان دوام اسانس‌های گیاهی به عوامل مختلفی نظیر اجزاء شیمیایی تشکیل‌دهنده اسانس و حساسیت آفت هدف نسبت به ترکیب‌های فعال موجود در اسانس بستگی دارد (Obeng-Ofori *et al.*, 1997; Ilboudo *et al.*, 2010). مطالعات انجام شده حکایت از آن دارد که اسانس‌های گیاهی حاوی مونوترپن‌های هیدروکربنه ماندگاری کمتری نسبت به اسانس‌های حاوی مونوترپن‌های اکسیژنه داشته و خیلی سریع‌تر سمیت خود را از دست می‌دهند (Obeng-Ofori *et al.*, 1997; Huang & Ho, 1998; Ngamo *et al.*, 2007; Ilboudo *et al.*, 2010). سرعت اکسیداسیون مونوترپن‌های هیدروکربنه نظیر آلفا-پینن، گاما-ترپینن، لیمونن، پارا-سیمن و میرسن بسیار بیشتر از مونوترپن‌های اکسیژنه می‌باشد. این اکسیداسیون منجر به کاهش شدید سمیت اسانس‌ها با گذشت زمان می‌شود (Obeng-Ofori *et al.*, 1997; Ilboudo *et al.*, 2010). براساس نتایج آنالیز شیمیایی، مونوترپن‌های اکسیژنه در اسانس‌های کلپوره و رازیانه ۴۱٪ و ۷۵/۳۷٪ از حجم اسانس را تشکیل دادند. مقدار این مونوترپن‌ها در اسانس مرزه ۷۹/۲۷٪ از حجم اسانس بود (جدول ۸). با توجه به نتایج Ngamo و همکاران (۲۰۰۷) می‌توان نتیجه گرفت که ماندگاری بیشتر اسانس مرزه در مقایسه با اسانس‌های رازیانه و کلپوره احتمالاً به دلیل حضور مقادیر بالای مونوترپن‌های اکسیژنه در این اسانس بود.

میزان ماندگاری سمیت تماسی اسانس‌های گیاهی روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات توسط محققان دیگر نیز مورد مطالعه قرار گرفته است (Taghizadeh Saroukolai & Moharramipour, 2011; Ngamo *et al.*, 2007; Moharramipour *et al.*, 2009). براساس نتایج تحقیقات Ngamo و همکاران (۲۰۰۷) میزان ماندگاری سمیت تماسی مرگ و میر حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات در

براساس تحقیقات Kim و Ahn (۲۰۰۱) ترکیب‌های ترانس-آنتول، فنچون و استراگول موجود در اسانس رازیانه سمیت تماسی قابل توجهی علیه سوسک چینی حبوبات داشتند. سمیت تماسی ترکیب‌های خالص کارواکرول، کارون، لیمونن، میرسن و لینالول که از اجزای اسانس‌های مرزه و کلپوره نیز محسوب می‌شوند، روی چندین گونه آفت انباری نظیر شپشه قرمز آرد، سوسک چینی حبوبات، سوسک توتون (*Lasioderma serricorne* F.) و شپشه برنج (*Sitophilus oryzae*) بررسی گردید (Ahn *et al.*, 1998; Abdelgaleil *et al.*, 2009). براساس گزارش Abdelgaleil و همکاران (۲۰۰۹) مونوترپن‌های کارون، لینالول، لیمونن و میرسن سمیت قابل توجهی روی حشرات کامل شپشه برنج داشتند. نامبردگان مقادیر  $LC_{50}$  ترکیب‌های فوق‌الذکر علیه شپشه برنج را به ترتیب معادل ۰/۰۳، ۰/۰۷، ۴/۷۷ و ۵ میلی‌لیتر بر مترمربع برآورد کردند. در تحقیقات مختلف سمیت ترکیب‌های عمده اسانس‌های مورد مطالعه در بررسی حاضر روی آفات مختلف به اثبات رسیده است، به طوری که با استناد به گفته Hummelbrunner و Isman (۲۰۰۱) و Bakkali و همکاران (۲۰۰۸) می‌توان اذعان کرد که سمیت اسانس‌ها تنها مربوط به عناصر عمده تشکیل‌دهنده آنها نمی‌باشد بلکه اثرات برهم‌کنش ترکیب‌های مختلف تشکیل‌دهنده اسانس نقش مهمی در میزان سمیت و سازوکار عمل اسانس‌ها روی حشرات دارد. براساس نتایج بدست آمده توسط این محققان برخی از ترکیب‌های جزئی موجود در اسانس ممکن است به صورت یک سینرژیست عمل کرده و سبب افزایش تأثیر ترکیب‌های عمده اسانس گردد (Hummelbrunner & Isman, 2001; Bakkali *et al.*, 2008).

نتایج بررسی میزان ماندگاری اسانس‌ها روی حشرات کامل نشان‌دهنده روند کاهش غیریکسان اثر تماسی اسانس‌ها روی حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات است. کاهش عملکرد اسانس‌های گیاهی با گذشت زمان به دلیل فرآیند بالا و تجزیه سریع ترکیب‌های شیمیایی موجود در اسانس‌ها می‌باشد (Obeng-Ofori *et al.*, 1997; Ndomo *et al.*, 2010). در طول کاربرد اسانس‌ها عوامل فیزیکی و شیمیایی مختلفی روی عملکرد اسانس‌ها تأثیر منفی می‌گذارند که از مهمترین آنها می‌توان به اکسیداسیون مونوترپن‌ها و سسکوئی‌ترین‌های موجود در اسانس اشاره کرد. دما و نور از جمله عوامل فیزیکی هستند که این فرآیند

- oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst) and their inhibitory effects on acetylcholinesterase activity. *Journal of Chemical Ecology*, 35(5): 518-525.
- Ahn, Y.J., Lee, S.B., Lee, H.S. and Kim, G.H., 1998. Insecticidal and acaricidal activity of carvacrol and /3-thujaplicine derived from *Thujopsis dolabrata* var. *hondai* Sawdust. *Journal of Chemical Ecology*, 24: 81-90.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and Idaomar, M., 2008. Biological effects of essential oils-a review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2): 446-475.
- Boateng, B.A. and Kusi, F., 2008. Toxicity of jatropha seed oil to *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and its parasitoid, *Dinarmus basalis* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Journal of Applied Sciences Research*, 4(8): 945-951.
- Chaubey, M.K., 2008. Fumigant toxicity of essential oils from some common spices against pulse beetle, *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Oleo Science*, 57(3): 171-179.
- Finney, D.L., 1971. *Probit Analysis*. Cambridge University Press, Cambridge, 333p.
- Huang, Y. and Ho, S.H., 1998. Toxicity and antifeedant activities of cinnamaldehyde against grain storage insects, *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Motsch. *Journal of Stored Products Research*, 34: 11-17.
- Hummelbrunner, L.A. and Isman, M.B., 2001. Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lep., Noctuidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(2): 715-720.
- Ilboudo, Z., Dabire, L.C.B., Nebie, R.C.H., Dicko, I.O., Dugravot, S., Cortesero, A.M. and Sanon, A., 2010. Biological activity and persistence of four essential oils towards the main pest of stored cowpeas, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 46(2): 124-128.
- Kim, D.H. and Ahn, Y.J., 2001. Contact and fumigant activities of constituents of *Foeniculum vulgare* fruit against three coleopteran stored-product insects. *Pest Management Science*, 57(3): 301-306.
- Kim, S.I., Park, C., Ohh, M.H., Cho, H.C. and Ahn, Y.J., 2003. Contact and fumigant activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae). *Journal of Stored Products Research*, 39: 11-19.
- Mahfuz, I. and Khaleqzaman, M., 2007. Contact and fumigant toxicity of essential oils against *H. senegalensis* LD<sub>100</sub> اسانس‌های *A. senegalensis* و *H. spicigera* به ترتیب پس از گذشت ۱۲ و ۲۴ ساعت از تیماردهی ظروف با اسانس به صفر درصد کاهش یافت. به طور کلی می‌توان اذعان داشت، با توجه به سمیت تماسی بالای اسانس‌های رازیانه، کلپوره و مرزه در این تحقیق روی حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات و کم‌خطر بودن این ترکیب‌ها برای انسان، پستانداران و سایر موجودات غیرهدف و با توجه به ترکیب‌های مونوترپنوییدی موجود در آنها به نظر می‌رسد که این ترکیب‌ها می‌توانند به‌عنوان جایگزین و یا مکمل سموم شیمیایی جهت کنترل جمعیت سوسک چهار نقطه‌ای در انبار حبوبات مورد استفاده قرار گیرند. بنابراین استفاده کاربردی این اسانس‌ها به‌عنوان حفاظت‌کننده‌های انباری مستلزم انجام تحقیقات گسترده در زمینه استانداردسازی اسانس‌ها، شناسایی و جداسازی ترکیب‌های فعال و دستیابی به روشهای فرمولاسیون مناسب جهت کاربرد آنها در محیط انبار می‌باشد.
- ### سپاسگزاری
- تحقیق حاضر بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول می‌باشد، بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به دلیل حمایت مالی سپاسگزاری می‌نمایم.
- ### منابع مورد استفاده
- باقری زوز، ا.، ۱۳۸۶. آفات و عوامل زیان‌آور انباری و مدیریت کنترل آنها: بیولوژی حشرات، کنه‌ها و میکروارگانیسم‌ها. انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ۴۶۶ صفحه.
- گلستانی کلات، ز.، ۱۳۸۸. اثرات بیولوژیک اسانس‌های آویشن شیرازی و اسطوخودوس روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات (*Callosobruchus maculatus* F. (Bruchidae: Coleoptera)). پایان‌نامه دوره کارشناسی‌ارشد، دانشگاه فردوسی مشهد.
- حیدرزاده، آ.، مروج، غ.ح.، هاتفی، س. و شباهنگ، ج.، ۱۳۹۰. بررسی سمیت تنفسی اسانس سه گیاه دارویی روی حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae). دانش گیاهپزشکی ایران، ۴۲(۲): ۲۸۴-۲۷۵.
- Abdelgaleil, S.A.M., Mohamed, M.I.E., Badawy, M.E.I. and El-arami, S.A.A., 2009. Fumigant and contact toxicities of monoterpenes to *Sitophilus*

- (Fabricius). *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 8(9): 828-835.
- Papachristos, D.P., Karamanoli, K.I., Stamopoulos, D.C. and Menkissoglu-Spiroudi, U., 2004. The relationship between the chemical composition of three essential oils and their insecticidal activity against *Acanthoscelides obtectus* (Say). *Pest Management Science*, 60(5): 514-520.
  - Papachristos, D.P. and Stamopoulos, D.C., 2002. Repellent, toxic and reproduction inhibitory effect of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 38(2): 117-128.
  - Rahman, A. and Talukder, A., 2006. Bioefficacy of some plant derivatives that protect grain against the puuse beetle, *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Insect Science*, 6(3): 17-24.
  - Robertson, J.L. and Preisler, H.K., 1992. *Pesticide Bioassays with Arthropods*. CRC Press. Florida, 127p.
  - Sampson, B.J., Tabanca, N., Kirimer, N., Demirci, B., Baser, K.H.C., Khan, I.A., Spiers, J.M. and Wedge, D.E., 2005. Insecticidal activity of 23 essential oils and their major compounds against adult *Lipaphis pseudobrassicae* (Davis) (Aphididae: Homoptera). *Pest Management Science*, 61(11): 1122-1128.
  - Singh, S.R., 1986. IITA's Cowpea Research Programme. *Tropical Grain Legume Bulletin*, Special Issue; World Cowpea Research Conference, 5-9 November, 1984, 32: 10-24.
  - Taghizadeh Saroukolai, A. and Moharramipour, S., 2011. Oviposition deterrence and persistence of essential oils from *Thymus persicus* (Roniger ex Reach F.) compared to *Prangos acaulis* (Dc.) Bornm against *Callosobruchus maculatus* F. in laboratory. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 27(2): 202-211.
  - Taponjrou, A.L., Adler, C., Fontem, D.A., Bouda, H. and Reichmuth, C., 2005. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. *Journal of Stored Products Research*, 41: 91-102.
  - Viglianco, A.I., Novo, R.J., Cragnolini, C.I., Nassetta, M. and Cavallo, E.A., 2008. Antifeedant and repellent effects of extracts of three plants from Cordoba (Argentina) against *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Bioassay*, 3(4): 1-6.
  - Weaver, K.D., Wells, D.C., Dunkel, V.F., Bertsch, W., Sing, E.S. and Sriharan, S., 1994. Insecticidal activity of floral, foliar, and root extracts of *Tagetes minuta* (Asterales: Asteraceae) against adult Mexican bean weevils (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Economic Entomology*, 87(6): 1718-1725.
  - *Callosobruchus maculatus*. Rajshahi University Journal of Zoology, 26: 63-66.
  - Miresmailli, S. and Isman, M.B., 2006. Efficacy and persistence of Rosemary oil as an acaricide against two spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) on greenhouse tomato. *Journal of Economic Entomology*, 99(6): 2015-2023.
  - Moharramipour, S., Taghizadeh, A., Meshkatsadat, M.H., Fathipour, Y. and Talebi, A.A., 2009. Repellent activity and persistence of essential oil extracted from *Prangos acaulis* to three stored-product beetles. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture*, 3(2): 202-204.
  - Mollah, J.U. and Islam, W., 2008. Toxicity of *Murraya paniculata* L. Jack leaf-derived materials against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Pakistan Entomologist*, 30(1): 61-64.
  - Mollah, J.U. and Islam, W., 2007. Toxicity of *Thevetia peruviana* (Pers) Schum. extract to adults of *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Agricultural and Rural Development*, 5(1&2): 105-109.
  - Moravvej, G., Of-Shahraki, Z and Azizi-Arani, M., 2011. Contact and repellent activity of *Elletaria cardamomum* (L.) Maton. and *Bunium persicum* (Boiss.) Fedtsch. oils against *Tribolium castaneum* (Herbst) adults (Coleoptera: Tenebrionidae). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 27(2): 224-238.
  - Ndomo, A.F., Taponjrou, L.A., Ngamo, L.T. and Hance, T., 2010. Insecticidal activities of essential oil of *Callistemon viminalis* applied as fumigant and powder against two bruchids. *Journal of Applied Entomology*, 134(4): 333-341.
  - Negahban, M. and Moharramipour, S., 2006. Repellent activity and persistence of essential oil from *Artemisia sieberi* Besser on three stored-product insect species. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 22(4): 293-302.
  - Ngamo, T.S.L., Ngatanko, I., Ngassoum, M.B., Mapongmestsem, P.M. and Hance, T., 2007. Persistence of insecticidal activities of crude essential oils of three aromatic plants towards four major stored product insect pests. *African Journal of Agricultural Research*, 2(4): 173-177.
  - Obeng-Ofori, D., Reichmuth, C.H., Bekele, J. and Hassanali, A., 1997. Biological activity of 1,8-cineole, a major component of essential oil of *Ocimum kenyense* against stored product beetles. *Journal of Applied Entomology*, 121: 237-243.
  - Owolabi, M.S., Oladimeji, M.O., Lajide, L., Singh, G., Marimuthu, P. and Isidorov, V.A., 2009. Bioactivity of three plant derived essential oils against the maize weevils *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) and cowpea weevils *Callosobruchus maculatus*

**Evaluation of contact toxicity and persistence of essential oils from *Foeniculum vulgare* Mill., *Teucrium polium* Boiss. and *Satureja hortensis* L. against *Callosobruchus maculatus* L. adults (Coleoptera: Bruchidae)**

**A. Heydarzade<sup>1</sup>, G. Moravej<sup>2\*</sup>, S. Hatefi<sup>3</sup> and J. Shabahang<sup>4</sup>**

1- MSc. student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

2\*- Corresponding author, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

E-mail: Moravej@ferdowsi.um.ac.ir

3- Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

4- Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Received: January 2012

Revised: February 2013

Accepted: February 2013

**Abstract**

Contact toxicity and persistence of essential oils from *Foeniculum vulgare* Mill. (Apiaceae), *Teucrium polium* Boiss. (Lamiaceae) and *Satureja hortensis* L. (Lamiaceae) were investigated against the adults of cowpea seed beetle, *Callosobruchus maculatus* at 28±2 °C and 60±5% R.H. under dark condition. Essential oils were obtained by hydro-distillation using a clevenger-type apparatus. Contact toxicity was studied against one-day-old adult of *C. maculatus* with six concentrations at 24hours exposure time. The persistence of insecticidal activity of essential oils was examined for a period of 30 h at the LC<sub>99</sub> level. The results of contact toxicities showed that the mortality of adults increased with oil concentration. Males were more susceptible to essential oils than females. The essential oil of *F. vulgare* proved to be most toxicant with the LC<sub>50</sub> values of 390.38 and 513.46 µl m<sup>-2</sup> against males and females, respectively. The LC<sub>50</sub> values of *S. hortensis* oil were 535.69 and 640.99 µl m<sup>-2</sup> and the counterpart values of *T. polium* oil were 1263.09 and 1469.72 µl m<sup>-2</sup> against males and females, respectively. The results of persistence test of oils revealed that essential oil of *S. hortensis* was the most persistent and essential oil of *T. polium* was the least persistent. The persistence of *S. hortensis* oil could be attributed to its high proportion of oxygenated compounds compared to other oils. The present study demonstrated that these essential oils could be used as appropriate alternatives to control cowpea seed beetle.

**Key words:** Essential oils, persistence, contact toxicity, cowpea seed beetle.