

بررسی اثر حشره‌کشی عصاره برخی از گیاهان روی سوسک چهار نقطه‌ای جبوهات  
در آزمایشگاه و کرم برگخوار چغندر قند *Callosobruchus maculatus* F.  
در گلخانه *Laphigma exigua* H.

نفیسه مهدوی عرب<sup>۱</sup>، رحیم عبادی<sup>۱\*</sup>، بیژن حاتمی<sup>۱</sup> و خلیل طالبی جهرمی<sup>۲</sup>

(تاریخ دریافت: ۸۵/۱/۲۶؛ تاریخ پذیرش: ۸۵/۱۱/۲۴)

### چکیده

به منظور بررسی اثر حشره‌کشی برخی از عصاره‌های گیاهی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار روی سوسک چهار نقطه‌ای جبوهات در آزمایشگاه انجام شد. این عصاره‌ها از ۲۲ گیاه با سه حلال استون، متابول و هگزان گرفته شدند. آزمایش در شرایط دمایی ۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی  $5 \pm 70$  درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت تاریکی و ۸ ساعت روشنایی انجام گرفت. هر واحد آزمایشی شامل یک ظرف پتروی مفروش شده با کاغذ صافی بود که به عصاره‌ها آغشته شده بود و در هر یک ۲۵ سوسک چهار نقطه‌ای جبوهات رها سازی شد. حشرات تلف شده بعد از ۳۶ ساعت شمارش شدند. در این پژوهش بر اساس فرض طرح، عصاره‌هایی با کمتر از ۵۰ درصد تلفات، از لیست عصاره‌های مورد آزمایش برای مراحل بعدی حذف گردیدند. به این ترتیب عصاره‌های متابولی برگ کلپوره (با ۵۵ درصد تلفات)، هگزانی شیرتیغال (با ۵۴/۶ درصد تلفات)، استونی برگ استبرق (با ۵۳/۶ درصد تلفات)، متابولی شاتره (با ۵۲/۷ درصد تلفات)، متابولی فلفل دلمه (با ۵۰ درصد تلفات) و استونی آویشن شیرازی (با ۵۰ درصد تلفات) با بالاترین درصد تلفات در غلظت ۳۰۰ میکرولیتر بر میلی لیتر، در مقایسه با شاهد جهت آزمایش اصلی برگزیده شدند. سپس تأثیر شش عصاره فوق، با پنج غلظت ۱۵۰، ۱۵۰، ۳۳۵، ۲۲۴ و ۷۵۰ میکرولیتر بر میلی لیتر روی سوسک چهار نقطه‌ای جبوهات بررسی شدند. این آزمایش نیز در آزمایشگاه به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. حشرات تلف شده بعد از ۳۶ ساعت شمارش شدند. در غلظت ۷۵۰ میکرولیتر بر میلی لیتر، عصاره استونی آویشن شیرازی و متابولی شاتره با ۸۸/۳٪ بالاترین و هگزانی شیر تیغال با ۷۸/۳٪ پایین‌ترین درصد تلفات را نشان دادند. در همه تیمارها با افزایش غلظت درصد تلفات افزایش یافت. مقدار LC<sub>50</sub> محاسبه شده برای سوسک چهار نقطه‌ای جبوهات پس از ۳۶ ساعت از تیمار دهی با عصاره‌های گیاهی نشان داد که این سوسک در برابر عصاره آویشن شیرازی و شیر تیغال به ترتیب با مقدار LC<sub>50</sub> برابر با ۱۲۶/۲۷ و ۳۷۰/۰۹ میکرولیتر بر میلی لیتر پیشترین و کمترین حساسیت را نسبت به سایر عصاره‌ها از خود نشان داد. از بین غلظت‌ها و گیاهان آزمایش شده عصاره ۵ گیاه با غلظتی که بالاترین تلفات را روی سوسک چهار نقطه‌ای جبوهات داشتند جهت آزمایش روی لارو برگخوار چغندر قند در گلخانه استفاده شدند. این آزمایش در قالب طرح بلوك کامل تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. عصاره استونی برگ استبرق با ۵۷/۵٪ پیشترین و آویشن شیرازی با ۲۷/۵٪ کمترین تأثیر را نسبت به سایر عصاره‌ها روی لارو برگخوار چغندر قند داشتند.

واژه‌های کلیدی: عصاره‌های گیاهی، حشره‌کش‌های گیاهی، سوسک چهار نقطه‌ای جبوهات، کرم برگخوار چغندر قند، LC<sub>50</sub>

۱. به ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استاد و دانشیار گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۲. دانشیار سم شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

\*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: ebadir@cc.iut.ac.ir

## مقدمه

می‌کند (۱۳). به علاوه مطابق آزمایش توماس و کالاگان (۱۹۹۹) عصاره سیر (*Allium sativum*) روی دوبالان دارای تأثیر لاروکشی است (۲۷). شاکرمی و همکاران اثر تنفسی انسانس مریم گلی و درمنه کوهی را مورد بررسی قرار دادند که روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات در بالاترین غاظت ۰/۹۲۶ میکرولیتر بر میلی‌لیتر انسانس به ترتیب ۷۸ درصد و ۸۴/۴۱ درصد تلفات را نشان داد (۷ و ۸). در بررسی یزدانی و پورمیرزا که تأثیر پودر برگ و مغز دانه چریش، برگ و بذر شوید، برگ نعناع، اکالیپتوس و جعفری روی دو گونه آفت شپشه آرد انجام شد، در همه موارد چریش بالاترین تلفات را ایجاد کرد (۱۱). در مطالعاتی که توسط حقیقیان و جلالی و عیسوی و همکاران انجام شد، نشان دادند که عصاره انگوزه و دو علف هرز حشره کشی بالایی دارند (۶ و ۹). جلالی سندي و همکاران نيز *Sambucus ebulus* روی شپشه آرد تأثیر حشره کشی بالایی دارند (۶ و ۹). *Artemisia annua* اثر حشره کشی عصاره‌های آبی برگ‌های آقطی *Artemisia annua* و گندواش *Sitophilus oryzae* L. و لاروهای سفیده کوچک کلم *Pieris rapae* L. مطالعه کردند و نشان دادند که این عصاره‌ها دارای اثر حشره کشی بالایی روی این دو حشره هستند (۳ و ۴). در آزمایش‌هایی که توسط فاریاز-ریور و همکاران روی لارو شب‌پره *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith هگزانی گیاه *Zea diploperennis* موجب بازدارندگی رشد لارو این شب‌پره گردید. هم‌چنین عصاره متابولی آن موجب کوچک شدن اندازه شفیره‌ها و عدم خروج حشره کامل شد ولی تلفاتی را روی لارو شب‌پره فوق ایجاد نکرد (۱۷). مطابق آزمایش‌های ناظمی رفیع و همکاران تأثیر عصاره‌های گیاهی تولید شده از اسطوخودوس، انگوزه و خرزه ره روی شپشه آرد نشان داد غلطه‌های بالای عصاره‌های خرزه ره و اسطوخودوس به طور مؤثری موجب اجتناب از تغذیه حشره می‌شود و هم‌چنین کاهش مقادیر رشد نسبی در اثر تغذیه از انگوزه را می‌توان به سمیت پس از تغذیه و آثار ضد تغذیه‌ای آن نسبت داد (۱۰). در مراجع مختلف کشور ما گونه‌های مختلفی از گیاهان با

برای دست یافتن به یک نتیجه مطلوب و کنترل منطقی نمی‌توان از استعمال سموم شیمیایی صرف نظر کرد، اما می‌توان از مصرف بیش از حد و بی‌رویه این گونه ترکیبات کاست و از ترکیبات جانشینی استفاده کرد که کمترین خطر را برای محیط زیست و سلامت انسان، دام و گیاه داشته باشد (۱۹). استفاده از ترکیبات گیاهی برای کنترل آفات کشاورزی مخصوصاً آفات انباری از زمان‌های قدیم در کشورهای آفریقایی و بعضی کشورهای آسیایی مثل هندوستان متداول بوده است (۱۹ و ۲۲). در قدیم برگ‌های درخت عرععر (*Ailanthus sp.*) و تمام اندام گیاه سریشک (*Asphodelus sp.*) علیه شته‌ها و ریشه‌های گیشترا یا کتوس (*Periploca sp.*) و اکثر گیاهان خانواده Chenopodiaceae برای کنترل حشرات موذی استفاده می‌شوند که گمان برده می‌شود این گیاهان دارای اثر حشره کشی باشند (۲۲). مطابق آزمایش‌های ویلاکوبوس و ربلدو برخی از ترکیبات گونه‌های گیاهی مثل گل انگشتانه (*Digitalis sp.*) و گند‌لوبیا (*Psoralea sp.*) خاصیت سمی دارند و گیاهان سمی دیگر مثل تاتوره (*Dathura sp.*) و برگ بویی (*Daphne sp.*) می‌توانند برای کنترل آفات استفاده شوند (۲۲). مشخص شده است که ۲ میکرولیتر بر میلی‌لیتر عصاره گیاهان ریکاردیا (*Rechardia tintiana*) و کاسنی (*Cichorium intybus*) سمیت تماسی بالای را روی حشرات بالغ و شفیره شپشه آرد *Tribolium castaneum* HBST. دادند و عصاره متابولی پیر گیاه (*Senecio lopezi*) و عصاره هگزانی سریشک (*Asphodelus fistulosus*) تلفات زیادی را روی لارو و شفیره حشره فوق ایجاد کرد (۲۲ و ۲۳). به علاوه عصاره گیاه عنصل (*Urginea maritime*) تأثیر سمیت بالای را در شفیره‌های شپشه آرد *T. castaneum* داد و شفیره‌های ناقص ایجاد نمود (۲۱). بررسی بوک و همکاران (۲۰۰۳) نشان داد عصاره‌های تاتوره (*Datura stramonium*)، آگالیا (*Zygophillum fabago*) و قیچ لوبیایی (*Agalia iva*) درصد تلفات را روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات ایجاد

به راحتی به منبع غذایی دسترسی داشته باشند. شفیره‌هایی که داخل گهواره گلی درون تشت پلاستیکی تشکیل می‌شدند، به داخل ظرف پلاستیکی استوانه‌ای شکل به ارتفاع ۱۸ و قطر ۱۲ سانتی‌متر که قسمت دهانه آن با پارچه توری پوشانده شده بود متنقل می‌گشتند. غذای مناسب برای حشرات کامل کرم برگخوار چغnder قند با قرار دادن مقداری آب و عسل ۱۰ درصد درون یک لوله آزمایش به طول ۱۰ و قطر ۱/۵ سانتی‌متر تأمین شد و دهانه لوله نیز با پنبه آغشته به آب و عسل مسدود شد. لوله‌های حاوی آب و عسل در ظروف استوانه‌ای مخصوص نگهداری حشرات کامل قرار داده شدند. برای تخم‌گیری از حشرات کامل ماده، باریکه‌های کاغذ سفید در حاشیه داخلی ظرف استوانه‌ای مخصوص نگهداری حشرات کامل قرار داده شد تا حشرات ماده روی آن تخم‌گذاری کنند. پس از تخم‌ریزی پروانه‌های ماده، قطعاتی از نوار کاغذی که تخم روی آن گذاشته شده بود، با قیچی بریده و در ظرف پتروی پلاستیکی به قطر ۸ و ارتفاع ۱/۵ سانتی‌متر قرار داده می‌شد. تخم‌هایی که نزدیک به تفریخ بودند با تغییر رنگ شناسایی و به تشت پرورش لاروها انتقال داده می‌شدند.

### ج) تهیه نمونه گیاهی و عصاره‌گیری

نمونه‌های گیاهی در این پژوهش، با توجه به بررسی منابع مختلف مبنی بر داشتن اثر حشره‌کشی جمع آوری گردیدند (۱۳۸۳ و ۲۲، ۲۳). در اسفند ۱۳۸۲ و فروردین تا خرداد ۱۳۸۳ جمع آوری اندام‌های مختلف ۲۲ نمونه گیاهی (جدول ۱) از مناطق مختلف کرمان و اصفهان انجام شد. تعدادی از گیاهان مزبور از مرکز گیاهان دارویی شهید فروه اصفهان (کیلومتر ۱۷ جاده اصفهان-نجف آباد) به صورت خشک تهیه شدند و بقیه از محل رویش آنها در طبیعت جمع آوری گردیدند. گیاهان را پس از جمع آوری با آب مقطر شستشو داده و در اتاق با دمای حدود  $1 \pm 1$  درجه سانتی گراد دور از تابش مستقیم نور خورشید خشک و سپس در کيسه‌های نایلونی تیره نگهداری شدند. جهت تسريع در خشک کردن بافت‌های گیاهی از دو

خواص حشره‌کشی وجود دارند که با بررسی اثرات آنها روی آفات و شناسایی ترکیبات شیمیایی آنها می‌توان از این ترکیبات جهت کنترل آفات استفاده نمود و یا در سنتز سوم شیمیایی از این ترکیبات گیاهی حشره‌کش استفاده کرد. لزوم بررسی و شناسایی گیاهان سمی ایران، چگونگی استخراج ماده فعال و تهیه فرمولاسیون و نحوه کاربرد آنها برای مطالعه توجیه پذیر است. هدف از انجام این پژوهش، شناسایی و ارزیابی سمیت گیاهان مورد استفاده و همچنین تعیین دز مناسب حشره‌کشی عصاره این گیاهان است.

## مواد و روش‌ها

### الف) پرورش سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات

#### (*Callosobruchus maculatus* F.)

سوسک‌های چهار نقطه‌ای حبوبات که از توده‌های محلی حبوبات آلوده در اصفهان جمع آوری شده بودند، با رها سازی حشرات کامل روی لوبیا چشم بلبلی و ماش دانه درشت در تشت‌های پلاستیکی به قطر ۴۰ و ارتفاع ۱۲ سانتی‌متر پرورش داده شدند. پس از پرورش یک نسل و اطمینان از یکنواختی جمعیت این حشره، خصوصیات آن با کلیدهای معتبر بررسی و گونه آن *Callosobruchus maculatus* تأیید شد (۲). پرورش در اتاق حرارت ثابت با دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت تاریکی و ۸ ساعت روشنایی و رطوبت نسبی حدود  $70 \pm 5$  درصد انجام شد.

### (*Laphigma exigua* H.)

در اوایل بهار با بازدیدهای متوالی از مزارع چغnder قند تعدادی دسته‌های تخم و لاروهای سینه مختلف کرم برگخوار چغnder قند جمع آوری گردید و در آزمایشگاه درون تشت‌های پلاستیکی به ارتفاع ۱۲ و قطر ۴۰ سانتی‌متر متنقل شدند. در کف تشت‌ها تا ارتفاع ۵ - ۳ سانتی‌متر خاک ضدغافونی شده به طور یکنواخت ریخته و هر روز برگ‌های تازه کاهو درون ظروف روی خاک قرار داده شد تا لاروهای حاصل از تفریخ تخم‌ها،

## جدول ۱. گیاهان مورد استفاده در عصاره‌گیری

نام فارسی گیاه	نام علمی	مرحله رویشی	اندام مورد استفاده	تاریخ جمع آوری
استبرق	<i>Calotropis procera</i>	گل دهی	گل و برگ	۸۳/۱/۵
شوید	<i>Anethum graveolens</i>	رویشی	برگ	۸۳/۳/۲۷
رزماری	<i>Rosmarinus officinalis</i>	گل دهی	قسمت‌های هوایی	۸۳/۲/۸
برگ بو	<i>Laurus nobilis</i>	رویشی	برگ	۸۳/۲/۱۵
پنیرک	<i>Malva sylvestris</i>	گل دهی	گل	۸۳/۲/۱۹
بذرالبنج	<i>Hyoscyamus niger</i>	رویشی	برگ	۸۳/۴/۲۱
بومادران	<i>Achillea millefolium</i>	گل دهی	قسمت‌های هوایی	۸۳/۲/۱۱
مرزنجوش	<i>Origanum vulgare</i>	گل دهی	قسمت‌های هوایی	۸۳/۲/۱۱
اکالیپتوس	<i>Eucalyptus globulus</i>	رویشی	برگ	۸۳/۲/۱۱
کلپوره	<i>Teucrium polium</i>	رویشی	برگ	۸۳/۳/۱۹
شاتره	<i>Fumaria parviflora</i>	رویشی	برگ	۸۳/۳/۱۹
رازیانه	<i>Foeniculum vulgare</i>	زایشی	بذر	۸۳/۲/۱۱
مریم گلی	<i>Salvia officinalis</i>	گل دهی	قسمت‌های هوایی	۸۳/۲/۱۱
فلفل دلمه	<i>Capsicum annuum</i>	زایشی	میوه	۸۲/۱۲/۲۱
میخک	<i>Dianthus sp.</i>	گل دهی	گل	۸۳/۳/۱۷
ختمی	<i>Althaea officinalis</i>	گل دهی	گل	۸۳/۲/۷
آویشن	<i>Thymus vulgaris</i>	رویشی	برگ	۸۳/۲/۷
نعمان	<i>Mentha piperita</i>	رویشی	برگ	۸۳/۳/۴
شیر تیغال	<i>Sonchus oleraceus</i>	گل دهی	قسمت‌های هوایی	۸۲/۱۲/۵
بابونه	<i>Matricaria chamomile</i>	گل دهی	گل	۸۳/۲/۱۱
مرزه	<i>Satureia hortensis</i>	رویشی	برگ	۸۳/۲/۲۷
فرفیون	<i>Euphorbia helioscopia</i>	رویشی	قسمتهای هوایی	۸۳/۲/۲

درب‌دار قرار داده شد و ۱۰۰ میلی‌لیتر حلال روی آن ریخته و دور آن با فویل (ورقه آلومینیم) پوشانده شد تا از تابش نور به آن جلوگیری شود. سپس داخل ظرف یک مگنت انداخته و به مدت یک ساعت روی استایر (دستگاه بهم زن) با سرعت ۵۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. این مخلوط عصاره و تفاله گیاهی به مدت ۲۴ ساعت در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری و بعد از خارج کردن از یخچال، یک کاغذ صافی را در قیف شیشه‌ای گذشته و قیف را در ارلن ۵۰۰ میلی‌لیتری قرار داده و عصاره را داخل قیف، روی کاغذ صافی ریخته تا عصاره از تفاله گیاهی جدا شود. بعد از استحصال عصاره رویی مجدداً ۲۰ میلی‌لیتر حلال روی تفاله ریخته شد و به مدت ۱ ساعت روی استایر با سرعت

پنکه در دو طرف نمونه‌ها استفاده شد. معمولاً گل‌ها بعد از سه تا پنج روز و برگ‌ها بعد از دو تا چهار روز و ساقه‌ها بعد از چهار تا پنج روز خشک شدند، که این بستگی به میزان آب بافت گیاه مورد نظر داشت.

جهت عصاره‌گیری از گیاهان مورد نظر ابتدا ۲۰ گرم از هر نمونه گیاه خشک شده، با آسیاب برقی پودر و در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. چون ماده مؤثر موجود در گیاه ممکن است قطبی، غیر قطبی و یا حد واسط باشد، جهت انجام این آزمایش از سه حلال متناول (حلال قطبی)، استون (حلال حد واسط) و هگزان نرمال (حلال غیر قطبی) استفاده شد (۲۲ و ۲۳). برای عصاره‌گیری ۲۰ گرم از گیاه پودر شده در ظرف شیشه‌ای

روی کاغذ صافی کف پتی ریخته شد. در تیمار شاهد نیز بسته به نوع حلال (استون، متابول، هگزان نرمال) ۱/۵ میلی لیتر از حلال را ریخته و درب پتی‌ها را به مدت ۲ ساعت باز گذاشته تا حلال بخار شود و بعد از آن درب پتی را بسته و درون هر پتی ۲۵ عدد حشره قرار داده شد. پتی‌ها در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی حدود  $5 \pm 70$  درصد قرار داده شدند و تعداد حشرات تلف شده بعد از ۳۶ ساعت شمارش گردید. ملاک تشخیص حشرات تلف شده این بود که اگر شاخک‌ها و پاها به وسیله پنس تحریک می‌شد هیچ عکس‌العملی دیده نشود. عصاره‌هایی که حداقل ۵۰ درصد تلفات ایجاد کرده بودند برای انجام آزمایش اصلی برگزیده شدند.

**۵-۱-۲. تعیین غلظت مناسب عصاره‌های انتخابی**  
در این مرحله از هر عصاره گیاهی انتخاب شده، اثر حشره‌کشی ۵ غلظت (۱۵۰، ۲۲۴، ۳۳۵، ۵۰۲ و ۷۵۰ میکرولیتر بر میلی لیتر) مورد بررسی قرار گرفت. این غلظت‌ها پس از انجام یک سری آزمایش‌های اولیه و بر اساس درصد تلفات آنها انتخاب شدند، به این صورت که در آزمایش‌های مقدماتی دزهای مختلفی از یک عصاره را انتخاب و روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات در یک تکرار آزمایش شد. از آنجایی که در این آزمون‌ها دزی که صفر و صد درصد تلفات را ایجاد کند برای زیست‌سنگی مناسب نیست، دزی که بیشتر از ۱۰ درصد تلفات ایجاد کرد به عنوان پایین‌ترین و دزی که حدود ۷۵ درصد تلفات ایجاد کرد به عنوان بالاترین دز مؤثر برای انجام آزمایش‌ها انتخاب شدند. دزهای بین آنها نیز از طریق قرار دادن در فرمول زیر به دست آمدند [۱۹ و ۲۴].

$$a = \frac{\log A - \log E}{n - 1}$$

$$B = \text{Anti log} (\log A - a)$$

$$C = \text{Anti log} (\log A - 2a)$$

$$D = \text{Anti log} (\log A - 3a)$$

E به ترتیب بالاترین و پایین‌ترین غلظت‌ها و C، B و D غلظت‌های بین آنها هستند. هم‌چنین a مقدار ثابت برای تمام غلظت‌ها و n برابر با تعداد غلظت‌هاست. آزمایش مانند مرحله

قبلی گذاشته شد و مانند مرحله قبل عصاره آن گرفته شد. عصاره استخراج شده توسط دستگاه تقطیر در خلاء در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد و سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه تغليظ گشت، به طوری که در پایان استخراج حجم عصاره نهایی تغليظ شده به ۳۰ میلی لیتر رسید. عصاره‌های تهیه شده در شيشه‌های درب‌دار تیره رنگ داخل يخچال نگهداري و روی آنها برچسب زده شد و نام گیاه مزبور و تاريخ عصاره گيری ثبت گشت.

#### د) آزمایش‌های زیست‌سنگی

د-۱. آزمایش‌های زیست‌سنگی روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات در آزمایشگاه

##### د-۱-۱. غربالگری عصاره‌ها

آزمایش‌های مقدماتی به منظور بررسی پتانسیل حشره‌کشی عصاره هر یک از گیاهان به صورت آزمایش فاکتوریل (فاکتور اول گونه‌های گیاهی و فاکتور دوم نوع حلال) در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات اجرا شد. برای به‌دست آوردن سوسک‌های چهار نقطه‌ای حبوبات هم‌سن، لوبيای چشم بلبلی را به وسیله حشرات بالغ آلوده سازی کرده و لوبياهای آلوده، در کلني جداگانه نگهداري شدند. پس از خروج نسل بعد از دانه‌های لوبيا، که تقریباً هم سن بودند، آنها را از کلني جدا کرده و برای آزمایش استفاده شدند. شب قبل از آزمایش حشرات کامل، سالم و تقریباً هم سن سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات به وسیله اسپیراتور از محل پرورش جدا و به ظرف پلاستیکی استوانه‌ای شکل به ارتفاع ۱۸ و قطر ۱۲ سانتی‌متر که قسمت دهانه آن با پارچه توری پوشانده شده بود منتقل می‌گشتند و تا روز بعد در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد در انکوباتور نگهداري شدند.

هر واحد آزمایشی شامل یک ظرف پتی به قطر ۸ سانتی‌متر و ارتفاع ۱/۵ سانتی‌متر بود که کف آن با کاغذ صافی مفروش شده بود. برای آزمایش محلولی با غلظت ۳۰۰ میکرولیتر بر میلی لیتر از عصاره گیاهی استحصال شده آماده شد و ۱/۵ میلی لیتر از آن توسط نمونه بردار (Sampler) ۱۰۰۰- ۱۰۰۰ میکرولیتری

خیس شود، ولی قطرات آب از سطح برگ ریزش نکند. سپس مقدار آب مصرف شده اندازه گرفته می‌شد و بدین ترتیب میزان سم (عصاره گیاهی) مورد نیاز برای هر بوته مشخص می‌شاد. پس از اسپری عصاره‌ها روی بوته‌های چغندر قند به مدت ۲ ساعت اجازه داده شد تا برگ‌ها کاملاً خشک شوند. پس از خشک شدن کامل سطح برگ‌ها، در هر تیمار ۱۰ عدد لارو سن سوم کرم برگخوار چغندر قند رها سازی شد تا اثر عصاره‌ها به طریق تماسی- گوارشی سنجیده شود. این آزمایش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با پنج تیمار عصاره و دو تیمار شاهد هر یک با چهارتکرار اجرا شد. تیمارهای شاهد شامل حلال و آب بودند. پس از رها سازی لاروها روی بوته‌های چغندر قند روی هر گلدان دو عدد میله آلومینیومی با قطر ۳ میلی‌متر و به طول ۱ متر که به شکل حرف U در آورده شده بود، به صورت متقطع قرار داده شد و روی آنها توری کشیده شد و از پایین با کش بسته شد تا لاروها بعد از رها سازی از روی گلدان خارج نشوند. بعد از گذشت ۳۶ ساعت تعداد لاروهای تلف شده شمارش شد. لاروهای مرده آنهایی بودند که چنانچه با نوک سوزن تحریک می‌شدند هیچ گونه عکس‌عملی نشان نمی‌دادند و به عنوان افراد تلف شده در نظر گرفته می‌شدند.

#### ۱-۲-۱. تعیین غلظت کشنده ۵۰ درصد ( $LC_{50}$ )

به منظور تعیین غلظتی از حشره‌کش که موجب مرگ و میر ۵۰ درصد از افراد مورد آزمایش شد،  $LC_{50}$  محاسبه شد.

#### تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS مورد تجزیه آماری واقع شدند و برای مقایسه میانگین از روش LSD در سطح ۵ درصد استفاده شد و قبل از تجزیه آماری، برای تثیت واریانس، داده‌های درصد مرگ و میر با تبدیل زاویه‌ای  $\sqrt{Y/100} / Arcsin(8)$ . برای ترسیم خط دز-پاسخ و پرویست از نرم افزارهای Excel، POLO-PC و SAS استفاده شد(۵ و ۲۵). در تمام آزمایش‌ها در صورت مشاهده تلفات در تیمار شاهد، تلفات به وسیله فرمول

قبل انجام شد و در هر تیمار از ۲۰ حشره هم سن و تعداد نر و ماده‌های تقریباً برابر استفاده شد. تفاوت حشرات نر و ماده این بود که حشرات ماده دارای پیژیدیوم کشیده‌ای هستند که از بالا کاملاً دیده می‌شود و روی آن دو لکه سیاه وجود دارد اما پیژیدیوم حشرات نر کشیده نیست بلکه کوتاه و از بالا به سختی دیده می‌شود. پتری‌ها در انکوباتور و در شرایط حرارتی و رطوبتی مثل آزمایش قبل قرار داده شدند. این آزمایش با یک تیمار شاهد از هر حلال، همراه با ۵ تیمار در غلظت‌های فوق به صورت فاکتوریل (فاکتور اول گونه‌های گیاهی و فاکتور دوم غلظت‌ها) در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد و تعداد حشرات تلف شده بعد از ۳۶ ساعت شمارش شدند. چون در تمام عصاره‌ها حلال (استون، متانول و هگزان) به کار برده شد، در تیمار شاهد نیز از همین حلال‌ها استفاده شد تا اثر احتمالی حلال بر میزان مرگ و میر حشرات مشخص شود و به همین دلیل از آب استفاده نشد.

#### ۲-۲. آزمایش‌های زیست‌سنگی در گلخانه روی کرم

##### برگخوار چغندر قند

ابتدا در ۵۰ گلدان بذر چغندر قند کاشته شد. بعد از این که بوته‌های چغندر به ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر رسیدند، برای آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. در این آزمایش با توجه به نتایج مرحله قبل، عصاره گیاهانی که در بالاترین غلظت بالاترین تلفات را روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات داشتند، جهت آزمایش زیست‌سنگی روی لارو کرم برگخوار چغندر قند استفاده شدند. عصاره‌های انتخابی عبارت بودند از عصاره‌های استونی آویشن‌شیرازی، متانولی شاتره، متانولی فلفل دلمه و استونی استبرق. عصاره‌های فوق روی بوته‌های چغندر قند با استفاده از یک محلول پاش دستی یا آب‌فشنان که کالیبره شده بود پاشیده شد. برای کالیبره کردن آب فشنان، ۱۰۰ میلی‌لیتر آب داخل آب فشنان با فاصله ۱۰ سانتی‌متر روی برگ‌های یک بوته چغندر پاشیده شد. اسپری کردن به گونه‌ای انجام می‌شد که یک لایه آب کاملاً روی سطح برگ را پوشاند و سطح برگ کاملاً

همین دلیل یک گیاه در حلال‌های مختلف اثر سمیت متفاوتی را از خود نشان می‌دهد. به این ترتیب و با توجه به جدول ۲ در غلظت ۳۰۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر، عصاره‌های مтанولی برگ کلپوره (با ۵۵ درصد تلفات)، هگزانی شیرتیغال (با ۵۴/۶ درصد تلفات)، استونی برگ استبرق (با ۵۳/۶ درصد تلفات)، مтанولی شاتره (با ۵۲/۷ درصد تلفات)، مтанولی فلفل‌دلمه (با ۵۰/۴ درصد تلفات) و استونی آویشن شیرازی (با ۵۰ درصد تلفات) دارای بالاترین درصد تلفات روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات بودند و جهت آزمایش اصلی برگزیده شدند. شاکرمی و همکاران (۱۳۸۲) اظهار می‌دارند احتمالاً عصاره برخی از این گیاهان حاوی متابولیت‌های ثانویه آکالالویلیدی، ترپنوبیدی، لیمنوبیدی، ترکیبات فلئی، اتری و غیره هستند (۸) که در شرایط به کار برده شده روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات بخوبی اثر گذاشته و باعث تلفات روی آنها شده‌اند و شناسایی ترکیبات مؤثر در آزمایشات بعدی ضروری به نظر می‌رسد. جدول مقایسه میانگین حلال‌ها (جدول ۴) نشان می‌دهد که عصاره‌های مтанولی در مجموع سه حلال بیشترین درصد تلفات را (با ۳۳/۳ درصد) دارا بودند. اختلاف بین دو حلال هگزانی و استونی در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار نبود. در بررسی ویال‌لوس و همکاران (۲۲ و ۲۳) با استفاده از ۵۰ گونه گیاهی روی شیشه آرد *T. castaneum* با سه حلال فوق، نشان داده شد که عصاره‌های تهیه شده با حلال مтанولی سمیت بالاتری را به صورت تأثیر تماسی ایجاد می‌کنند. آنها اظهار کردند که حلال مтанول بهتر از سایر حلال‌ها می‌تواند متابولیت‌های ثانویه گیاهی را حل کند. نتایج پژوهش حاضر نیز مؤید عملکرد بهتر حلال مтанولی برای استخراج مواد حشره‌کش گیاهی است.

بوک و همکاران اعلام کردند عصاره فلفل‌دلمه (*Capsicum frutescens*) موجب ایجاد تلفات بالایی روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات می‌شود (۱۳). ویال‌لوس و همکاران (۲۲ و ۲۳) با مطالعه روی عصاره مтанولی گیاهان گل انگشتانه (*Digitalis* sp.), ریکاردیا (*Rechardia tintiana*) و کاسنی (*Cichorium intybus*) نشان دادند که این عصاره‌ها تلفات

ابوت  $\frac{T-C}{100-C}$  Abbot formula: (درصد مرگ و میر تیمار= T و درصد مرگ و میر شاهد=C) اصلاح می‌شدن، لذا از آوردن شاهد در نتایج خودداری شد (۱۲).

## نتایج و بحث

### نتایج آزمایش مقدماتی

نتایج تأثیر حشره‌کشی ۶۹ عصاره گیاهی استخراج شده توسط حلال‌های مختلف از قسمت‌های مختلف ۲۲ گونه گیاه مورد آزمایش روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات در جدول ۲ ارائه شده است. از بین این عصاره‌ها، عصاره‌هایی که بیش از ۵۰ درصد تلفات روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات ایجاد کردند و در جدول فوق الذکر مشخص شده‌اند، برای مرحله دوم آزمایش انتخاب شدند.

نتایج تجزیه واریانس اثر سمیت گیاهان مختلف در غلظت ۳۰۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات در جدول ۳ نشان داده شده است.

همان‌طور که در جدول ۳ مشخص است درصد مرگ و میر سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات، برای گونه‌های گیاهی مختلف، حلال‌های مختلف هگزانی، استونی و مтанولی و اثرات متقابل بین حلال‌های مورد آزمایش در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار است. به عبارت دیگر عکس العمل حشره در برابر عصاره گیاهان مختلف که با حلال‌های متفاوت استخراج شده‌اند یکسان نبوده است. به این معنی که میزان سمیت عصاره این گیاهان که توسط حلال‌های مختلف استخراج شده‌اند متفاوت بود و سمیت عصاره یک گیاه در یک حلال، متفاوت از سمیت عصاره همان گیاه در حلال دیگر بود. علت اختلاف معنی‌دار بین حلال‌های مختلف این است که ممکن است متابولیت‌های ثانویه گیاهی که اثر سمیت را روی حشرات دارا هستند قطبی، غیر قطبی یا حد واسطه باشند و حلال‌های مختلف متابولیت‌های ثانویه متابولیت‌های خود حل می‌کنند (۲۱، ۲۲ و ۲۳). حلال هگزان متابولیت‌های ثانویه غیر قطبی، حلال مтанول متابولیت‌های ثانویه قطبی و حلال استون متابولیت‌های ثانویه حد واسطه را در خود حل می‌کنند. به

جدول ۲ . میانگین درصد تلفات اصلاح شده ناشی از اثر عصاره‌های گیاهی بر سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات در آزمایشگاه

نوع عصاره گیاهی	۳۶ ساعت	نوع عصاره گیاهی	۳۶ ساعت	نوع عصاره گیاهی	۳۶ ساعت
هگزانی-گل استبرق	۳۵/۳۳	هگزانی-اکالیپتوس	۲۱/۹۴	هگزانی-فلفل	۳۷/۵
استونی-گل استبرق	۲۱/۷۳	استونی-اکالیپتوس	۵/۷	استونی-فلفل	۴۰/۱
متانولی-گل استبرق	۱/۶	متانولی-اکالیپتوس	۶/۹۱	متانولی-فلفل	۵۰/۴
هگزانی-برگ استبرق	۲۱/۲۱	هگزانی-کلپوره	۱۵/۱۳	هگزانی-میخک	۲۶/۰۷
استونی-برگ استبرق	۵۳/۶	استونی-کلپوره	۴/۵۴	استونی-میخک	۲۷/۰۳
متانولی-برگ استبرق	۲۸/۷	متانولی کلپوره	۵۵/۰۴	متانولی-میخک	۲۷/۹۶
هگزانی-برگ شوید	۱۴/۶	هگزانی-شاتره	۱۵/۱۳	هگزانی-ختمی	۲۳/۳۳
استونی-برگ شوید	۲۴/۲	استونی-شاتره	۱۱	استونی-ختمی	۱۹/۴۳
متانولی-برگ شوید	۱۲	متانولی-شاتره	۵۲/۷	متانولی-ختمی	۲۴/۶۲
هگزانی-رزماری	۷/۲	هگزانی-رازیانه	۲۴/۲	هگزانی-آویشن	۴۳/۰۵
استونی-رزماری	۹/۳	استونی-رازیانه	۲۰/۹	استونی-آویشن	۵۰
متانولی-رزماری	۱۹/۴	متانولی-رازیانه	۳۳/۴	متانولی-آویشن	۳۶/۰۸
هگزانی-برگ بو	۱۵/۹	هگزانی-مریم گلی	۲۴	هگزانی-نعمان	۴۴/۹۲
استونی-برگ بو	۲۸/۸	استونی-مریم گلی	۲۲/۶	استونی-نعمان	۴۶/۳
متانولی-برگ بو	۴۷/۲	متانولی-مریم گلی	۳۰	متانولی-نعمان	۳۱/۷
هگزانی-فرفیون	۲۳/۷	هگزانی-بومادران	۲۷/۲	هگزانی-شیرتیغال	۵۴/۶۴
استونی-فرفیون	۳۰/۲	استونی-بومادران	۲۵/۷	استونی-شیرتیغال	۳۳/۳
متانولی-فرفیون	۳۱/۷	متانولی-بومادران	۳۴/۸	متانولی-شیرتیغال	۴۲/۴
هگزانی-پنیرک	۳۱/۷	هگزانی-مرزنجوش	۴۰/۲	هگزانی-مرزه	۳۲/۳
استونی-پنیرک	۲۱/۱	استونی-مرزنجوش	۴۹/۲۱	استونی-مرزه	۳۷/۳
متانولی-پنیرک	۳۷/۶	متانولی-مرزنجوش	۲۷/۵	متانولی-مرزه	۳۴/۶
هگزانی-بذرالبنج	۳۷/۶	هگزانی-بابونه	۴۰/۲		
استونی-بذرالبنج	۳۶/۴	استونی-بابونه	۳۴/۶۹		
متانولی-بذرالبنج	۴۳/۴	متانولی-بابونه	۳۱/۷		

جدول ۳. تجزیه واریانس میانگین تلفات سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات پس از ۳۶ ساعت در برابر

## اثر تماسی غلظت ۳۰۰ میکرولیتر بر میلی لیتر عصاره‌های گیاهی

F	میانگین مربعات MS	مجموع مربعات SS	درجه آزادی df	منبع تغییرات
۴۶/۲*	۰/۱۲	۲/۶۸	۲۲	نوع عصاره (S)
۷/۰۷*	۰/۰۱۸	۰/۰۳۷	۲	حلال (C)
۲۴/۲*	۰/۰۶	۲/۸۱	۴۴	حلال × نوع عصاره (C × S)
	۰/۰۰۲	۰/۳۶	۱۳۸	خطا (E)
		۵/۸۹	۲۰۶	کل (G)

\* : در سطح آماری ۵ درصد بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود دارد. C.V.=۹/۲۱

جدول ۴. تجزیه واریانس میانگین حلال‌های مختلف  $\pm se$ 

هگران	استون	متانول
۲۸/۵ <sup>b</sup> $\pm ۰/۰۱$	۲۹/۷ <sup>b</sup> $\pm ۰/۰۱$	۳۳/۳ <sup>a</sup> $\pm ۰/۰۲$

## نتایج آزمایش اصلی

با استفاده از عصاره‌های متانولی برگ کلپوره، هگزانی شیرتیغال، استونی برگ استبرق، متانولی شاتره، متانولی فلفل دلمه و استونی آویشن شیرازی که در مرحله اول تلفاتی بیش از ۵۰ درصد ایجاد کردند، غلظت مناسب آنها تعیین شد. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها اثر سمیت ۵ غلظت مختلف از عصاره اولیه با فاصله لگاریتمی یعنی غلظت‌های ۱۵۰، ۲۲۴، ۳۳۵، ۵۰۲ و ۷۵۰ میکرولیتر بر میلی لیتر از هر عصاره به صورت درصد تلفات اصلاح شده سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات در جداول ۵ و ۶ آمده است.

برای آزمایش مرحله دوم نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تلفات ناشی از سمیت عصاره‌های گیاهی انتخاب شده روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود و درصد مرگ و میر این حشره، برای غلظت‌های مختلف و آثار متقابل بین غلظت‌های مختلف مورد آزمایش و گونه‌های گیاهی نیز در این سطح احتمال معنی‌دار شد (جدول ۵ و ۶).

داده‌های جدول ۶ نشان می‌دهد در همه آزمایش‌ها با افزایش غلظت درصد تلفات افزایش یافت و درصد تلفات در

بالایی را روی شپشه آرد ایجاد می‌کنند. همچنین بر اساس بررسی آنها عصاره استونی گیاهان آگلائیا (*Aglaia iva*), کاسنی (*Daturum stramonium*) و تاتوره (*Cichorium intybus*) تلفات بالایی را روی شپشه آرد ایجاد کردند. عصاره استونی تهیه شده از *Bollota hirsute* موجب ایجاد تلفات روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات شد. درخصوص تأثیر عصاره گیاه مرزنجوش و آویشن نتایج به دست آمده در این مطالعه با نتایج آریانا (۱) با آزمایشی که روی درصد تلفات کنه واروآ انجام داد مطابقت دارد و این نشان دهنده این است که عصاره این گیاهان نه تنها خاصیت حشره‌کشی دارند بلکه خاصیت کنه‌کشی نیز دارند. ویالوبوس و همکاران (۲۲ و ۲۳) روی عصاره‌هایی که با استفاده از این حلال تهیه شده بودند نتایج مشابهی را به دست آورده‌اند که با نتایج حاصل از این آزمایش مطابقت می‌کند (۲۲ و ۲۳) طبق بررسی آنها عصاره هگزانی گیاهان نعناع (*Mentha lagifolia*), برگ درخت عرعurer (*Ailanthus altissima*), سریشک (*Orbanch sp.*) و گل جالیز (*Asphodelus fistulosus*) تلفات بالایی را روی شپشه آرد ایجاد کردند.

جدول ۵. تجزیه واریانس میانگین تلفات سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات در برابر اثر

تماسی غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهی انتخاب شده پس از ۳۶ ساعت

F	میانگین مربعات MS	مجموع مربعات SS	درجه آزادی df	منبع تغییرات
۳۶/۳۳*	۰/۱	۰/۶۴	۵	نوع عصاره (S)
۸۱۷*	۲/۹	۱۴/۵۸	۵	غلظت (C)
۴/۷۷*	۰/۰۱	۰/۴۲	۲۵	غلظت × نوع عصاره (C×S)
	۰/۰۰۳	۰/۰۲۵	۷۲	خطا (E)
		۱۵/۹	۱۰۷	کل (G)

C.V. = ۸/۴۵

\*: در سطح آماری ۵ درصد بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود دارد.

جدول ۶. میانگین درصد تلفات اصلاح شده ناشی از پنج غلظت مختلف از عصاره‌های گیاهی انتخاب شده

بر سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات پس از ۳۶ ساعت

نام عصاره	میکرولیتر بر میلی لیتر	۷۵۰	۵۰۲	۳۳۵	۲۲۴	۱۵۰
استونی برگ استبرق	۸۳/۳ <sup>a</sup>	۶۳/۳ <sup>b</sup>	۵۰ <sup>c</sup>	۳۱/۶ <sup>d</sup>	۲۱/۶ <sup>d</sup>	۸۳/۳ <sup>a</sup>
استونی آویشن	۸۸/۳ <sup>a</sup>	۷۸/۳ <sup>b</sup>	۶۸/۳ <sup>c</sup>	۶۸/۳ <sup>c</sup>	۵۲/۳ <sup>d</sup>	۸۱/۶ <sup>a</sup>
متانولی کلپوره	۸۱/۶ <sup>a</sup>	۶۳/۳ <sup>b</sup>	۴۸/۳ <sup>c</sup>	۳۱/۶ <sup>d</sup>	۲۰ <sup>e</sup>	۸۱/۶ <sup>a</sup>
متانولی فلفل دلمه	۸۱/۶ <sup>a</sup>	۶۸/۳ <sup>b</sup>	۵۳/۳ <sup>c</sup>	۵۰ <sup>c</sup>	۴۱/۶ <sup>d</sup>	۸۸/۳ <sup>a</sup>
متانولی شاتره	۸۸/۳ <sup>a</sup>	۷۱/۶ <sup>b</sup>	۵۶/۶ <sup>c</sup>	۴۳/۳ <sup>d</sup>	۳۳/۳ <sup>d</sup>	۷۸/۳ <sup>a</sup>
هگزانی شیر تیغال	۷۸/۳ <sup>a</sup>	۶۳/۳ <sup>b</sup>	۴۶/۶ <sup>c</sup>	۳۵ <sup>d</sup>	۸/۳ <sup>e</sup>	

\*: در هر ردیف میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

خصوص تأثیر عصاره کلپوره با نتایج توماس (نقل از ۲۳) مطابقت دارد. وی اعلام کرد عصاره متانولی کلپوره روی رشد لاروهای سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات اثر می‌گذارد و تلفات حدود ۷۰ تا ۱۰ درصد روی حشرات بالغ آن ایجاد می‌کند. نتایج به دست آمده در مورد فلفل دلمه با نتایج بوک (۱۳ و ۱۴) مطابقت می‌کند. وی نشان داد که عصاره فلفل دلمه‌ای در غلظت ۲۵ میکرولیتر بر میلی لیتر موجب مرگ سوسک‌های حبوبات بالغ (حدود ۸۰ تا ۱۰۰ درصد تلفات) می‌شود. پژوهشگران دیگری نیز روی حشرات با عصاره گیاهان مختلف آزمایش‌هایی را انجام دادند و درصد تلفات به دست آمده توسط آنها با میزان به دست آمده در این آزمایش مطابقت دارد (۱۳، ۱۴، ۱۵، ۲۲ و ۲۳).

بالاترین غلظت عصاره (۷۵۰ میکرولیتر بر میلی لیتر) به ترتیب برای عصاره‌های استونی آویشن شیرازی و متانولی شاتره (۸۸/۳ درصد تلفات)، استونی استبرق (۸۳/۳ درصد تلفات)، متانولی فلفل دلمه و متانولی کلپوره (۸۱/۶ درصد تلفات) و هگزانی شیر تیغال (۷۸/۳ درصد تلفات) مشاهده شد. در خصوص تأثیر عصاره گیاه آویشن در شرایط آزمایشگاهی نتایج به دست آمده در این مطالعه با نتایج آریانا (۱) با آزمایشی که روی درصد تلفات کنه واروا انجام داد مطابقت دارد. وی نشان داد که تلفات کنه در اثر این عصاره حدود ۱۰۰ درصد است و این نشان دهنده این است که عصاره این گیاهان نه تنها خاصیت حشره‌کشی دارند بلکه خاصیت کهکشی نیز دارند. نتایج آزمایشگاهی به دست آمده در این مطالعه در

جدول ۷. مقادیر  $LC_{50}$  محاسبه شده توسط عصاره‌های مختلف گیاهی روی حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات پس از ۳۶ ساعت

نوع عصاره	$X^2*$ (df)	$b^{**} \pm SE$	$LC_{50}$ ( $\mu\text{l} / \text{ml}$ )	حدود اطمینان ۹۵ درصد
				حد پایین حد بالا
استونی- آویشن شیرازی	۴/۶۲	$1/409 \pm 0/326$	۱۲۶/۲۷	۵۵/۸۹ ۱۷۹/۴
متانولی- فلفل دلمه	۳/۱۷	$1/514 \pm 0/310$	۲۳۱/۰۵	۱۶۲ ۲۸۹/۹
متانولی- برگ شاتره	۵/۰۰۳	$2/22 \pm 0/327$	۲۵۷/۳۷	۲۱۱/۹ ۳۰۱/۴
استونی- برگ استبرق	۵/۶۸	$2/4550 \pm 0/328$	۳۳۴/۶	۲۸۸/۹ ۳۷۷/۶
متانولی- برگ کلپوره	۳/۷۳	$2/4553 \pm 0/329$	۳۴۴/۳	۲۹۷/۶ ۳۹۹/۵
هگزانی- شیرتیغال	۴/۹۳	$2/761 \pm 0/341$	۳۷۰/۰۹	۳۲۵/۱۳ ۴۲۴/۴۸

\* : تعداد افراد مورد آزمایش برای هر تیمار ۳۶ عدد می‌باشد.

\*  $X^2$  : جدول در سطح احتمال ۹۵ درصد برای درجه آزادی ۱۳ برابر با ۵/۸۹۲ می‌باشد.

\*\*: شب خط دز- پاسخ

نحوه تأثیر یکسانی دارند(۲۴). در این آزمایش عصاره گیاهان استبرق و کلپوره دارای شب خط یکسانی است (۲/۴۵۵) و احتمالاً این دو ترکیب نحوه تأثیر یکسانی را دارا هستند و  $LC_{50}$  آنها هم تقریباً یکسان است. شب خط همچنین برای مقایسه سمیت نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد. چون محاسبه  $LC_{50}$  به تنها نمی‌تواند برای اندازه‌گیری سمیت کافی باشد. دو خط ممکن است  $LC_{50}$  یکسانی داشته باشند ولی در خط اول بروز سمیت برای عصاره در دز پایین‌تری اتفاق افتاده باشد در حالی که در خط دوم کمترین تأثیرات در محدوده کوچکتری در تغییرات دز اتفاق افتاده باشد (۱۷). چون  $\chi^2$  محاسبه شده از جدول کمتر می‌باشد در نتیجه خطوط دز- اثر برای تمام عصاره‌ها تأیید می‌شود. درجه آزادی یا df در جدول نمایانگر تعداد غلظت‌ها منهای دو است که در این آزمایش چون سه تکرار وجود داشت برای همین df برابر با ۱۳ شد. بر اساس گزارش سایر پژوهشگران سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات در برای عصاره و انسان‌های گیاهان دیگر که دارای خاصیت حشره کشی هستند در غلظت‌های متفاوت از غلظت‌های فوق درصد تلفات مشابهی را از خود نشان داده است (۱۴، ۱۵ و ۱۶).

### مقایسه غلظت کشته شده ۵۰ درصد ( $LC_{50}$ ) شش عصاره مؤثر روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات

مقادیر  $LC_{50}$  محاسبه شده برای این حشره پس از ۳۶ ساعت از تیمار کردن با عصاره‌های گیاهی در جدول ۷ ارائه شده است. داده‌های این جدول نشان می‌دهد که سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات با مقدار  $LC_{50}$  برابر با ۱۲۶/۲۷ میکرو لیتر بر میلی لیتر در برابر عصاره استونی آویشن شیرازی بالاترین حساسیت و در مقابل عصاره هگزانی شیر تیغال با مقدار  $LC_{50}$  برابر با ۳۷۰/۰۹ میکرو لیتر بر میلی لیتر کمترین حساسیت را از خود نشان داد. با توجه به این که شب خط (b) میزان اثر متغیرهایی را که در بروز پاسخ و چگونگی اندازه‌گیری آن دخالت دارند را نشان می‌دهد(۲۴). وقتی پاسخ اثر متقابل یا بر هم کنش مربوط به ترکیب با یک محل تأثیر باشد (مثالاً با یک آنزیم یا یک واکنش متابولیکی خاص) در این صورت شب خط زیاد خواهد بود و بر عکس وقتی ترکیب جایگاه تأثیر عمومی‌تری را داشته باشد، شب خط کم می‌شود. در این صورت ممکن است شب خط اطلاعاتی راجع به نحوه تأثیر ترکیب نیز بدهد. وقتی دو خط موازی هستند یعنی دارای شب خط یکسانی هستند، دو ترکیب احتمالاً

جدول ۸. تجزیه واریانس تلفات لارو برگخوار چغندر قند در برابر اثر تماسی-گوارشی عصاره‌های گیاهی

F	میانگین مربعات MS	مجموع مربعات SS	درجه آزادی df	منبع تغییرات
۴۳/۹۶*	۰/۴۵	۳/۱۷	۶	تیمار (T)
۱/۰۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۱	۰/۰۳۲	۳	بلوک (B)
	۰/۰۰۱	۰/۱۸۲۱	۲۱	خطا (E)
		۳/۴۲	۳۴	کل (G)

\* : در سطح آماری ۵ درصدیین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود دارد.  
ns = غیرمعنی‌دار

C.V. = ۲۶/۵۱

جدول ۹. درصد تلفات اصلاح شده کرم برگخوار چغندر قند بر اثر تیمارهای مختلف

بعد از ۳۶ ساعت با غلاظت ۷۵۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر عصاره‌ها

میانگین SE ±	تکرار				تیمار
	۴	۳	۲	۱	
۵۷/۵ <sup>a</sup> ± ۰/۰۱	۵۰	۵۰	۷۰	۶۰	استونی برگ استبرق
۲۵ <sup>b</sup> ± ۰/۰۱	۵۰	۳۰	۲۰	۴۰	متانولی شاتره
۳۰ <sup>c</sup> ± ۰/۰۱	۳۰	۲۰	۳۰	۴۰	متانولی فلفل دلمه
۲۷/۵ <sup>cbd</sup> ± ۰/۰۲	۴۰	۱۰	۳۰	۳۰	استونی آویشن

• : میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشابه هستند در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

امرا ممکن است به علت احتمال وجود متابولیت‌های ثانویه در عصاره استونی برگ استبرق با خاصیت دور کنندگی و ضد تغذیه‌ای روی لارو کرم برگخوار چغندر قند باشد.

در رابطه با کرم برگخوار چغندر قند با توجه به بررسی منابع، این اولین گزارش از تأثیر عصاره‌های گیاهی روی این حشره می‌باشد. البته گزارش‌هایی از برخی از پژوهشگران وجود دارد که حاکی از تأثیر بعضی از عصاره‌های گیاهی روی حشرات آفت دیگر است که در رشد و نمو و مراحل زیستی آنها ایجاد اختلال نموده و بر تلفات آن مؤثر است. به عنوان مثال در آزمایش‌هایی که توسط فاریا-ریور و همکاران روی لارو شب‌پره *Spodoptera frugiperda* انجام شد، عصاره هگزانی گیاه *Zea diploperennis* موجب بازدارندگی رشد لارو این شب‌پره گردید(۱۷). هم‌چنین عصاره متانولی آن موجب کوچک شدن اندازه شفیره‌ها و عدم خروج حشره کامل شد ولی

نتایج آزمایش گلخانه‌ای روی کرم برگخوار چغندر قند

### *Laphigma exigua*

نتایج تجزیه واریانس آزمایش روی کرم برگخوار چغندر قند و میانگین درصد تلفات این حشره در برابر تیمارها در جداول ۸ و ۹ دیده می‌شود.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر سمتی تیمارهای مختلف در غلاظت ۷۵۰ میکرولیتر روی لارو برگخوار چغندر قند در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار است (جدول ۸). در این آزمایش اثر بلوک معنی‌دار نشد و این نشان داد که اثر خاک و شرایط گلخانه برای تمام تیمارهای تفاوت معنی‌داری نداشتند.

داده‌های جدول ۹ نشان می‌دهد که عصاره استونی برگ استبرق بیشترین تلفات را (با ۵۷/۵ درصد تلفات) روی لارو برگخوار چغندر قند داشت و لاروها از برگ بوته‌های چغندر در این تیمار حتی پس از گذشتן ۳۶ ساعت تغذیه نکردند. این

پژوهش‌های انجام شده گونه‌های گیاهی فوق نیز دارای مقادیر بالایی از ترکیبات ثانویه گیاهی هستند (۸) بنابراین خاصیت حشره‌کشی گیاهان فوق نیز احتمالاً مربوط به این ترکیبات می‌باشد (۷ و ۸). با در نظر گرفتن آثار مخرب زیست محیطی سموم شیمیایی و کم خطرتر بودن ترکیبات گیاهی برای انسان و محیط زیست به نظر می‌رسد از این گونه ترکیبات پس از انجام مطالعات بیشتر و تعیین دز مناسب آنها می‌توان در کوتاه مدت به عنوان جایگزین مناسب‌تری در کنترل آفات استفاده نمود. به هر حال با توجه به دامنه وسیع این گونه از گیاهان در کشور پیشنهاد می‌شود تا در خصوص عصاره‌های بعضی از گیاهان مانند استبرق، شیرتیغال و کلپوره پژوهش‌های بیشتری صورت بگیرد.

تلفاتی را روی لارو شب‌پره فوق ایجاد نکرد. عصاره با حلال آب گیاه فوق موجب ۸۲ درصد تلفات روی لارو شب‌پره فوق گردید. در حالی که در بررسی حاضر عصاره‌های متانولی شاتره موجب ۳۵ درصد تلفات روی کرم برگ‌خوار چغendar قند شد. بر اساس نتایج به دست آمده در این پژوهش معلوم شد که عصاره استونی آویشن شیرازی، متانولی شاتره و متانولی فلفل دلمه دارای تأثیر سمیت بالایی روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات و عصاره استونی برگ استبرق دارای تأثیر سمیت بالایی روی کرم برگ‌خوار چغendar هستند. با توجه به اینکه گزارش‌های متعددی از سمیت ترکیبات آلکالوئیدی و ترپنئیدی روی حشرات وجود دارد و بر اساس

#### منابع مورد استفاده

- آریانا، ا. ۱۳۷۸. کنترل کنه *Varroa jacobsoni* در کلونی زنبور عسل اروپایی توسط برخی ترکیبات گیاهی. پایان نامه کارشناسی ارشد حشره شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.
- باقری زنوز، م. ۱۳۷۵. سخت‌بال پوشان زیان آور محصولات غذایی و صنعتی. انتشارات سپهر، تهران.
- جلالی سندی، ج. و ک. اعتباری. ۱۳۷۷. اثر حشره کشی عصاره‌های آبی برگ‌های آقطی *Sambucus ebulus* و گندواش *Artemisia annua* (Col.:Curculionidae) روی سرخرطومی برنج *Sitophilus oryzae*. مجموعه خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران. آموزشکده کشاورزی، کرج، شهریور سال ۱۳۷۷.
- جلالی سندی، ج. و ک. اعتباری. ۱۳۷۷. بررسی اثر حشره کشی عصاره آبی گندواش *Artemisia annua* روی لاروهای سفیده کوچک کلم (Lep: Pieridae). مجموعه خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران. آموزشکده کشاورزی، کرج، شهریور سال ۱۳۷۷.
- حسینی ناوه، و. وح. الله‌باری. ۱۳۸۲. بر م افزار تهیه برویت و LC<sub>50</sub>. پایان نامه گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.
- حقیقیان، ف. و ج. جلالی سندی. ۱۳۷۷. مقایسه تأثیر بازدارندگی عصاره گیاهان *Sambucus ebulus* و *Artemisia annua* بر روی شپشه آرد (*Tribolium confusum*) (Col.:Tenebrionidae). مجموعه خلاصه مقالات پانزدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران. دانشگاه رازی کرمانشاه، شهریور سال ۱۳۸۱.
- شاکرمی، ج.، ک. کمالی و س. محرومی‌پور. ۱۳۸۳. کاربرد گیاه درمنه کوهی به عنوان یک حشره کش نباتی. مجموعه خلاصه مقالات اولین سمینار توسعه و صنایع کود شیمیایی و آفت‌کش نباتی، دانشگاه علم و صنعت، تهران.
- شاکرمی، ج.، ک. کمالی و س. محرومی‌پور. ۱۳۸۲. سمیت تنفسی و اثر دور کنندگی اسانس گیاه مریم گلی (*Salvia bracteata*) روی چهار گونه آفت انباری. نامه انجمن حشره شناسی ایران ۲۴(۲): ۴۹-۳۵.
- عیسوی، ک.، م. کریمی و م. اخوان. ۱۳۷۵. استخراج و فرمولاسیون عصاره گیاه کما (انگوذه) و بررسی اثر قارچ کشی و حشره کشی آن. مؤسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی. وزارت کشاورزی، تهران.

۱۰. ناظمی رفیع، ج.، س. محرومی پور و م. مروتی. ۱۳۸۰. خاصیت حشره کشی عصاره‌های اتانولی خرزهره *Nerium oleander* و عصاره مтанولی صمغ انگوذه *Frula assafoetida* علیه شب پره آرد اسطوخودوس *Lavandula officinalis* (Lep:Noctuidae) مجموعه خلاصه مقالات پانزدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران، دانشگاه رازی کرمانشاه، شهریور ۱۳۸۱.
۱۱. یزدانی، ب. و ع. ا. پورمیرزا. ۱۳۷۶. بررسی تأثیر پودر برگ، مغز و دانه چریش، برگ و بذر شوید، برگ نعناع، اکالیپتوس و جعفری بر رو گونه مهم آفات انباری. مجموعه خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران، آموزشکده کشاورزی کرج، شهریور سال ۱۳۷۷.
12. Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Ent. 18: 265 – 267.
13. Boeke, S. J., I. R. Banmgart and J. A. Vanloon. 2004 . Toxicity and repellency of African plant traditionally used for the protection of stored cowpea against *Callosobruchus maculatus* ( Coleoptera: Bruchidae). J. Stor. Prod.Res. 4:423-428.
14. Boeke, S. J., D. K. KossoouA . V. Huis, J. A. Vanloon and M. Dicko. 2004. Field trials with plant products to protect stored cowpea against insect damage. Inte. J. PestM anag. 50(1): 1-9.
15. Boeke, S. J., A. C. Sinzogan, R. P. Almedia and J. A. Vanloon. 2003. Side effect of cowpea treatment with botanical insecticide on two parasitoid of *Callosobruchus maculatus* ( Coleoptera:Bruchidae).The Netherlands Entomol. Soc. 108 : 43-51
16. Ciccia, G., J. Coussio and E. Mongelli. 2000. Insecticidal activity against *Aedes aegypti* larvae of some medicinal South American plant. J. Ethnopharmacol. 72(2) :185- 189.
17. Farias-Rivera, L A., J. L. Hernandez-Mendoza, J. Molina- Ocoa and A. Pescadro-Rubio. 2003. Effect of leaf extract of thosinte *Zea diploprennis* L. and a Mexican Maize variety *Criollo uruapeno* on the growth and survival of the fall army worm (Lepidoptera : Noctuidae). J. Florida Entomol. 86(3): 234- 243.
18. Lee, B. H., W. S. Chio, S. E. lee and B. S. Park. 2001. Fumigation toxicity of essential oil and their constituent compound toward the rice weevil, *Sitophilus oryzae* L. J. Crop Protec. 20(2): 317- 320.
19. Matsumura, F.1985. Toxicology of Insecticides. Plenum Press, New york.
20. Mediana. P., G. Smagghe, F. Budia, L. Tirry and E. Vinuela. 2003. Toxicity and Absorption of Azadirachtin, Diflubenzuron, Pyriproxyfen and Tebufenozide after topical application in predatory larvae of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: chrysopidae). J. Environ. Ent. 32(1):196-203.
21. Pascual- villalobos, M. J. and M. Fernandez. 1999. Insecticide activity of ethanolic extracts of *Urginea maritime* (L.) baker bulb. J. Industrial Crops and Prod. 1:115- 120.
22. Pascual- villalobos, M. J. and A. Robledo. 1998. Screening for anti-insect activity in Mediterranean plants. J. Industrial Crop and Product. 8:183-194.
23. Pascual- villalobos, M. J. and A. Robledo. 1999. Anti-insect activity of plant extract from wild flora in south eastern Spain. Biochem. Sys. and Ecol. 27:1-10.
24. Robertson, J. L. and H. K. Preisler, 1991. Pesticide Bioassay with Arthropods. CRC Press, Boca Raton, Florida.
25. SAS Institute . 1996. SAS / State user guide . Verton 6, SAS Cary Nc.
26. Smith, S. F. and V. A. Krischik. 2000. Effect of biorational pesticides on four coccinellid speciesr (Coleoptera : Coccinellidae) having potential as biological control agents in interioscapes. J. Econ. Ent. 93(3):732 – 736.
27. Thomas, C. J. and A. Callghan. 1999. The use of Garlic (*Allium sativa*) and Lemon peel (*Citrus limon*) extract as *Culex pipiens* larvicide and interaction with an organophosphate resistance mechanism. J. Chemospher. 39(14):2489-2496.