

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

نفیسه مهدوی عرب^۱، رحیم عبادی^{۱*}، بیژن حاتمی^۱ و خلیل طالبی جهرمی^۲

(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 حبوبات در آزمایشگاه انجام شد. این عصاره‌ها از ۲۲ گیاه با سه حلال استون، متانول و هگزان گرفته شدند. آزمایش در شرایط دمایی ۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی $5 \pm 70\%$ و دوره نوری ۱۶ ساعت تاریکی و ۸ ساعت روشنایی انجام گرفت. هر واحد آزمایشی شامل یک ظرف پتری مفروش شده با کاغذ صافی بود که به عصاره‌ها آغشته شده بود و در هر یک ۲۵ سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات 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 متانولی برگ کلپوره (با ۵۵ درصد تلفات)، هگزانی شیر تیغال (با ۵۴/۶ درصد تلفات)، استونی برگ استبرق (با ۵۳/۶ درصد تلفات)، متانولی شاتره (با ۵۲/۷ درصد تلفات)، متانولی فلفل دلمه (با ۵۰ درصد تلفات) و استونی آویشن شیرازی (با ۵۰ درصد تلفات) با بالاترین درصد تلفات در غلظت ۳۰۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر، در مقایسه با شاهد جهت آزمایش اصلی برگزیده شدند. سپس تأثیر شش عصاره فوق، با پنج غلظت ۱۵۰، ۲۲۴، ۳۳۵، ۵۰۲ و ۷۵۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات 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 میلی‌لیتر، عصاره استونی آویشن شیرازی و متانولی 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_{50} محاسبه شده برای سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات 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_{50} برابر با ۱۲۶/۲۷ و ۳۷۰/۰۹ میکرولیتر بر میلی‌لیتر بیشترین 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 حبوبات داشتند جهت آزمایش روی لارو برگ‌خوار چغندر قند در گلخانه استفاده شدند. این آزمایش در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. عصاره استونی برگ استبرق با بیشترین 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 حبوبات، کرم برگ‌خوار چغندر قند، LC_{50}

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

۲. دانشیار سم‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران

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

مقدمه

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 جانسینی استفاده کرد که کمترین خطر را برای محیط زیست و سلامت انسان، دام و گیاه داشته‌باشند (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 عرعر (*Ailanthus sp.*) و تمام اندام گیاه سریشک (*Asphodelus sp.*) علیه شته‌ها و ریشه‌های گیستر یا کتوس (*Periploca sp.*) و اکثر گیاهان خانواده Chenopodiaceae برای کنترل حشرات موذی استفاده می‌شدند که گمان برده می‌شود این گیاهان دارای اثر حشره‌کشی باشند (۲۲). مطابق آزمایش‌های ویالوبوس و ربلدو برخی از ترکیبات گونه‌های گیاهی مثل گل انگشتانه (*Digitalis sp.*) و گند لوبیا (*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 بالایی را روی حشرات بالغ و شفیره شپشه آرد *Tribolium castaneum* HBST. نشان دادند و عصاره متانولی پیر گیاه (*Senecio lopezi*) و عصاره هگزانی سریشک (*Asphodelus fistulosus*) تلفات زیادی را روی لارو و شفیره حشره فوق ایجاد کرد (۲۲ و ۲۳). به‌علاوه عصاره گیاه عنصل (*Urginea maritime*) تأثیر سمیت بالایی را در شفیره‌های شپشه آرد *T. castaneum* نشان داد و شفیره‌های ناقص ایجاد نمود (۲۱). بررسی بواک و همکاران (۲۰۰۳) نشان داد عصاره‌های تاتوره (*Datura stramonium*)، آگالیا (*Agalia iva*) و قیج لوبیایی (*Zygophyllum fabago*) ۷۰ تا ۱۰۰ درصد تلفات را روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات ایجاد

می‌کند (۱۳). به‌علاوه مطابق آزمایش توماس و کالاکان (۱۹۹۹) عصاره سیر (*Allium sativum*) روی دویالان دارای تأثیر لاروکشی است (۲۷). شاکرمی و همکاران اثر تنفسی اسانس مریم گلی و درمنه کوهی را مورد بررسی قرار دادند که روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات در بالاترین غلظت ۰/۹۲۶ میکرولیتر بر میلی‌لیتر اسانس 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 نعنای، 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 انغوزه و دو علف هرز *Artemisia annua* و *Sambucus ebulus* روی شپشه آرد تأثیر حشره‌کشی بالایی دارند (۶ و ۹). جلالی سندی و همکاران نیز اثر حشره‌کشی عصاره‌های آبی برگ‌های آقطی *Sumbucus ebulus* و گندواش *Artemisia annua* را روی سرخرطومی برنج *Sitophilus oryzae* L. و لاروهای سفیده کوچک کلم *Pieris rapae* L. مطالعه کردند و نشان دادند که این عصاره‌ها دارای اثر حشره‌کشی 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 انجام شد، عصاره هگزانی گیاه *Zea diploperennis* موجب بازدارندگی رشد لارو این شب‌پره گردید. هم‌چنین عصاره متانولی 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، انغوزه و خرزهره روی شپشه آرد نشان داد غلظت‌های بالای عصاره‌های خرزهره و اسطوخودوس به طور مؤثری موجب اجتناب از تغذیه حشره می‌شود و هم‌چنین کاهش مقادیر رشد نسبی در اثر تغذیه از انغوزه را می‌توان به سمیت پس از تغذیه و آثار ضد تغذیه‌ای آن نسبت داد (۱۰). در مراتع مختلف کشور ما گونه‌های مختلفی از گیاهان با

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 منتقل می‌گشتند. غذای مناسب برای حشرات کامل کرم برگ‌خوار چغندر 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 پتری 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، باتوجه به بررسی منابع مختلف مبنی بر داشتن اثر حشره‌کشی جمع‌آوری گردیدند (۱۳، ۲۲ و ۲۳). در اسفند ۱۳۸۲ و فروردین تا خرداد ۱۳۸۳ جمع‌آوری اندام‌های مختلف ۲۲ نمونه گیاهی (جدول ۱) از مناطق مختلف کرمان و اصفهان انجام شد. تعدادی از گیاهان مزبور از مرکز گیاهان دارویی شهید فزوه اصفهان (کیلومتر ۱۷ جاده اصفهان - نجف آباد) به صورت خشک تهیه شدند و بقیه از محل رویش آنها در طبیعت جمع‌آوری گردیدند. گیاهان را پس از جمع‌آوری با آب مقطر شستشو داده و در اتاق با دمای حدود 1 ± 28 درجه سانتی‌گراد دور از تابش مستقیم نور خورشید خشک و سپس در کیسه‌های نایلونی تیره نگه‌داری شدند. جهت تسریع 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 سموم 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 جمع‌آوری شده بودند، با رها سازی حشرات کامل روی لویا 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 2 ± 25 درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت تاریکی و ۸ ساعت روشنایی و رطوبت نسبی حدود 5 ± 70 درصد انجام شد.

ب) پرورش کرم برگ‌خوار چغندر قند (*Laphigma exigua* H.)

در اوایل بهار با بازدیدهای متوالی از مزارع چغندر قند تعدادی دسته‌های تخم و لاروهای سنین مختلف کرم برگ‌خوار چغندر قند جمع‌آوری گردید و در آزمایشگاه درون تشت‌های پلاستیکی به ارتفاع ۱۲ و قطر ۴۰ سانتی‌متر منتقل شدند. در کف تشت‌ها تا ارتفاع ۵ - ۳ سانتی‌متر خاک ضدعفونی 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 عصاره گیری

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 lovilis</i>	رویشی	برگ	۸۳/۲/۱۵
پنیرک	<i>Malva sylvestris</i>	گل دهی	گل	۸۳/۲/۱۹
بذربینج	<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
لفل دلمه	<i>Capsicum annum</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
نعناع	<i>Mentha piperata</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 میلی لیتر 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 به هم 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 سانتی گراد نگهداری و بعد از خارج کردن از یخچال، یک کاغذ صافی را در قیف شیشه‌ای گذاشته و قیف را در ارلن ۵۰۰ میلی لیتری 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 میلی لیتر 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 سانتی گراد 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 متانول (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 پتری ریخته شد. در تیمار شاهد نیز بسته به نوع حلال (استون، متانول، هگزان نرمال) ۱/۵ میلی‌لیتر از حلال را ریخته و درب پتری‌ها را به مدت ۲ ساعت باز گذاشته تا حلال بخار شود و بعد از آن درب پتری را بسته و درون هر پتری ۲۵ عدد حشره قرار داده شد. پتری‌ها در انکوباتور در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد 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.

د-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 میلی‌لیتر) 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 چهارنقطه‌ای حبوبات در یک تکرار آزمایش شد. از آنجایی که در این آزمون‌ها دزی که صفر و صد درصد تلفات را ایجاد کند برای زیست‌سنجی 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].

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

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

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

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

• A و E به ترتیب بالاترین و پایین‌ترین غلظت‌ها و B، C 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 سانتی‌گراد و سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه تغلیظ گشت، به طوری که در پایان استخراج حجم عصاره نهایی تغلیظ شده به ۳۰ میلی‌لیتر رسید. عصاره‌های تهیه شده در شیشه‌های درب‌دار تیره رنگ داخل یخچال نگهداری و روی آنها برچسب زده شد و نام گیاه مزبور و تاریخ عصاره‌گیری ثبت گشت.

د) آزمایش‌های زیست‌سنجی

د-۱. آزمایش‌های زیست‌سنجی روی سوسک چهارنقطه‌ای

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 چهارنقطه‌ای حبوبات اجرا شد. برای به‌دست آوردن سوسک‌های چهارنقطه‌ای حبوبات هم‌سن، لوبیای چشم‌بلبلی را به وسیله حشرات بالغ آلوده سازی کرده و لوبیاهای آلوده، در کلنی جداگانه نگهداری شدند. پس از خروج نسل بعد از دانه‌های لوبیا، که تقریباً هم سن بودند، آنها را از کلنی جدا کرده و برای آزمایش استفاده شدند. شب قبل از آزمایش حشرات کامل، سالم و تقریباً هم سن سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات به وسیله اسپراتور 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 سانتی‌گراد در انکوباتور نگهداری شدند.

هر واحد آزمایشی شامل یک ظرف پتری 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 میلی‌لیتر از عصاره گیاهی استحصال شده آماده شد و ۱/۵ میلی‌لیتر از آن توسط نمونه بردار (Sampler) ۱۰۰۰-۱۰۰ میکرولیتری

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.

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 می‌شد. 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 چهار تکرار 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 متقاطع 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 عکس‌العملی نشان نمی‌دادند و به عنوان افراد تلف شده در نظر گرفته می‌شدند.

د-۲. آزمایش‌های زیست‌سنجی در گلخانه روی کرم برگخوار چغندر قند

ابتدا در ۵۰ گلدان بذر چغندر قند کاشته شد. بعد از این‌که 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 زیست‌سنجی روی لارو کرم برگخوار چغندر قند استفاده شدند. عصاره‌های انتخابی عبارت بودند از عصاره‌های استونی آویشن شیرازی، متانولی شاتره، متانولی فلفل دلمه و استونی استبرق. عصاره‌های فوق روی بوته‌های چغندر قند با استفاده از یک محلول پاش دستی یا آب‌فشان که کالیبره شده بود پاشیده شد. برای کالیبره کردن آب‌فشان، ۱۰۰ میلی‌لیتر آب داخل آب‌فشان 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 بپوشاند و سطح برگ کاملاً

د-۲-۱. تعیین غلظت کشنده ۵۰ درصد (LC₅₀)

به منظور تعیین غلظتی از حشره‌کش که موجب مرگ و میر ۵۰ درصد از افراد مورد آزمایش شد، LC₅₀ 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 تثبیت واریانس، داده‌های درصد مرگ و میر با تبدیل زاویه‌ای $\text{Arcsin} \sqrt{Y/100}$ نرمال شدند (۸). برای ترسیم خط دز- پاسخ و پروبیت 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

ابوت $\frac{T-C}{100-C}$: Abbot formula (درصد مرگ و میر تیمار = T و درصد مرگ و میر شاهد = C) اصلاح می‌شدند، 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 فوق‌الذکر 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 متانولی و اثرات متقابل بین حلال‌های مورد آزمایش در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار است. به عبارت دیگر عکس‌العمل 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 واسط باشند و حلال‌های مختلف متابولیت‌های ثانویه متفاوتی را در خود حل می‌کنند (۲۱، ۲۲ و ۲۳). حلال هگزان متابولیت‌های ثانویه غیر قطبی، حلال متانول متابولیت‌های ثانویه قطبی و حلال استون متابولیت‌های ثانویه حد واسط را در خود حل می‌کنند. به

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 متانولی برگ کلپوره (با ۵۵ درصد تلفات)، هگزانی شیرتیغال (با ۵۴/۶ درصد تلفات)، استونی برگ استبرق (با ۵۳/۶ درصد تلفات)، متانولی شاتره (با ۵۲/۷ درصد تلفات)، متانولی فلفل دلمه (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 آلکالوئیدی، ترپنوئیدی، لیمونوئیدی، ترکیبات فنلی، 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 متانولی 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 ویلاوبوس و همکاران (۲۲ و ۲۳) با استفاده از ۵۰ گونه گیاهی روی شپشه آرد *T. castaneum* با سه حلال فوق، نشان داده شد که عصاره‌های تهیه شده با حلال متانولی سمیت بالاتری را به صورت تأثیر تماسی ایجاد می‌کنند. آنها اظهار کردند که حلال متانول بهتر از سایر حلال‌ها می‌تواند متابولیت‌های ثانویه گیاهی را حل کند. نتایج پژوهش حاضر نیز مؤید عملکرد بهتر حلال متانولی برای استخراج مواد حشره‌کش گیاهی است.

بواک و همکاران اعلام کردند عصاره فلفل دلمه (*Capsicum frutescens*) موجب ایجاد تلفات بالایی روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات می‌شود (۱۳). ویلاوبوس و همکاران (۲۲ و ۲۳) با مطالعه روی عصاره متانولی گیاهان گل انگشتانه (*Digitalis sp.*)، ریکاردیا (*Rechardia tintiana*) و کاسنی (*Cichorium intybus*) نشان دادند که این عصاره‌ها تلفات

جدول ۲. میانگین درصد تلفات اصلاح شده ناشی از اثر عصاره های گیاهی بر سوسک چهار نقطه ای 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	۳۱/۹۴	هگزانی-فلغل	۳۷/۵
استونی-گل استبرق	۲۱/۷۳	استونی-اکالیپتوس	۵/۷	استونی-فلغل	۴۰/۱
متانولی-گل استبرق	۱/۶	متانولی-اکالیپتوس	۶/۹۱	متانولی-فلغل	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	۲۷/۵۳
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-نعناع	۴۴/۹۲
استونی-برگ بو	۲۸/۸	استونی-مریم گلی	۲۲/۶	استونی-نعناع	۴۶/۳
متانولی-برگ بو	۴۷/۲	متانولی-مریم گلی	۳۰	متانولی-نعناع	۳۱/۷
هگزانی-فرفیون	۲۳/۷	هگزانی-بومادران	۲۷/۲	هگزانی-شیر تیغال	۵۴/۶۴
استونی-فرفیون	۳۰/۲	استونی-بومادران	۲۵/۷	استونی-شیر تیغال	۳۳/۳
متانولی-فرفیون	۳۱/۷	متانولی-بومادران	۳۴/۸	متانولی-شیر تیغال	۴۲/۴
هگزانی-پنیرک	۳۱/۷	هگزانی-مرزنجوش	۴۰/۲	هگزانی-مرزه	۳۳/۳
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	۴۴/۴	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 میلی‌لیتر 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*	۰/۰۰۶	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 ± se

متانول	استون	هگزان
۳۳/۳ ^a ± ۰/۰۲	۲۹/۷ ^b ± ۰/۰۱	۲۸/۵ ^b ± ۰/۰۱

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 میلی‌لیتر 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 شیشه آرد ایجاد می‌کنند. هم‌چنین بر اساس بررسی آنها عصاره استونی گیاهان آگلائیا (*Aglaia iva*)، کاسنی (*Cichorium intybus*) و تاتوره (*Datura stramonium*) تلفات بالایی را روی شیشه 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 به‌دست آمده در این مطالعه با نتایج آریانا (۱) با آزمایشی که روی درصد تلفات کنه و اروا انجام داد مطابقت دارد و این نشان دهنده این است که عصاره این گیاهان نه تنها خاصیت حشره‌کشی دارند بلکه خاصیت کنه‌کشی نیز دارند. ویلاوبوس و همکاران (۲۲ و ۲۳) روی عصاره‌هایی که با استفاده از این حلال تهیه شده بودند نتایج مشابهی را به‌دست آوردند که با نتایج حاصل از این آزمایش مطابقت می‌کند (۲۲ و ۲۳) طبق بررسی آنها عصاره هگزانی گیاهان نعناع (*Mentha lagifolia*)، برگ درخت عرعر (*Ailanthus altissima*)، سریشک (*Asphodelus fistulosus*) و گل جالیز (*Orbanch sp.*) تلفات بالایی را روی شیشه 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	۰/۲۵	۷۲	خطا (E)
		۱۵/۹	۱۰۷	کل (G)

*: در سطح آماری ۵ درصد بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود دارد. C.V. = ۸/۴۵

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 میلی‌لیتر				
	۷۵۰	۵۰۲	۳۳۵	۲۲۴	۱۵۰
استونی برگ استبرق	۸۳/۳ ^a	۶۳/۳ ^b	۵۰ ^c	۳۱/۶ ^d	۲۱/۶ ^d
استونی آویشن	۸۸/۳ ^a	۷۸/۳ ^b	۶۸/۳ ^c	۶۸/۳ ^c	۵۳/۳ ^d
متانولی کلپوره	۸۱/۶ ^a	۶۳/۳ ^b	۴۸/۳ ^c	۳۱/۶ ^d	۲۰ ^e
متانولی فلفل دلمه	۸۱/۶ ^a	۶۸/۳ ^b	۵۳/۳ ^c	۵۰ ^c	۴۱/۶ ^d
متانولی شاتره	۸۸/۳ ^a	۷۱/۶ ^b	۵۶/۶ ^c	۴۳/۳ ^d	۳۳/۳ ^d
هگزانی شیر تیغال	۷۸/۳ ^a	۶۳/۳ ^b	۴۶/۶ ^c	۳۵ ^d	۸/۳ ^e

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

خصوصاً 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 ۱۰۰ درصد روی حشرات بالغ آن ایجاد می‌کند. نتایج به دست آمده در مورد فلفل دلمه با نتایج بواک (۱۳ و ۱۴) مطابقت می‌کند. وی نشان داد که عصاره فلفل دلمه‌ای در غلظت ۲۵ میکرولیتر بر میلی‌لیتر 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 میلی‌لیتر) 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. درخصوص 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 وارو 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 کنه‌کشی 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** ± SE	LC_{50} (μ l / ml)	حدود اطمینان ۹۵ درصد	
				حد پایین	حد بالا
استونی - آویشن شیرازی	۴/۶۲	۱/۴۰۹ ± ۰/۳۲۶	۱۲۶/۲۷	۵۵/۸۹	۱۷۹/۴
متانولی - فلفل دلمه	۳/۱۷	۱/۵۱۴ ± ۰/۳۱۰	۲۳۱/۰۵	۱۶۲	۲۸۹/۹
متانولی - برگ شاتره	۵/۰۰۳	۲/۲۲ ± ۰/۳۲۷	۲۵۷/۳۷	۲۱۱/۹	۳۰۱/۴
استونی - برگ استبرق	۵/۶۸	۲/۴۵۵ ± ۰/۳۲۸	۳۳۴/۶	۲۸۸/۹	۳۷۷/۶
متانولی - برگ کلپوره	۳/۷۳	۲/۴۵۵ ± ۰/۳۲۹	۳۴۴/۳	۲۹۷/۶	۳۹۹/۵
هگزانی - شیر تیغال	۴/۹۳	۲/۷۶۱ ± ۰/۳۴۱	۳۷۰/۰۹	۳۲۵/۱۳	۴۲۴/۴۸

*: تعداد افراد مورد آزمایش برای هر تیمار ۳۶۰ عدد می‌باشد.

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

** شیب خط دز- پاسخ

مقایسه غلظت کشنده 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 شیب 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 (مثلاً با یک آنزیم یا یک واکنش متابولیکی خاص) در این صورت شیب خط زیاد خواهد بود و بر عکس وقتی ترکیب جایگاه تأثیر عمومی تری را داشته باشد، شیب خط کم می‌شود. در اینصورت ممکن است شیب خط اطلاعاتی راجع به نحوه تأثیر ترکیب نیز بدهد. وقتی دو خط موازی هستند یعنی دارای شیب خط یکسانی هستند، دو ترکیب احتمالاً

نحوه تأثیر یکسانی دارند (۲۴). در این آزمایش عصاره گیاهان استبرق و کلپوره دارای شیب خط یکسانی است (۲/۴۵۵) و احتمالاً این دو ترکیب نحوه تأثیر یکسانی را دارا هستند و LC_{50} آنها هم تقریباً یکسان است. شیب خط هم‌چنین برای مقایسه سمیت نیز مورد استفاده قرار می‌گیرد. چون محاسبه LC_{50} به تنهایی 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 تا بیشترین تأثیرات در محدوده کوچک‌تری در تغییرات دز اتفاق افتاده باشد (۱۷). چون χ^2 محاسبه شده از χ^2 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 برابر عصاره و اسانس‌های گیاهان دیگر که دارای خاصیت حشره‌کشی هستند در غلظت‌های متفاوت از غلظت‌های فوق درصد تلفات مشابهی را از خود نشان داده است (۷، ۸، ۱۴ و ۱۸).

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

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

* : در سطح آماری ۵ درصد بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود دارد. C.V. = ۲۶/۵۱ ns = غیر معنی‌دار

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

بعد از ۳۶ ساعت با غلظت ۷۵۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر عصاره‌ها

تیمار	تکرار				میانگین ± SE
	۴	۳	۲	۱	
استونی برگ استبرق	۶۰	۷۰	۵۰	۵۰	۵۷/۵ ^a ± ۰/۰۱
متانولی شاتره	۴۰	۲۰	۳۰	۵۰	۳۵ ^b ± ۰/۰۱
متانولی فلفل دلمه	۴۰	۳۰	۲۰	۳۰	۳۰ ^{cb} ± ۰/۰۱
استونی آویشن	۳۰	۳۰	۱۰	۴۰	۲۷/۵ ^{cbd} ± ۰/۰۰۲

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

امریکن 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 فاریاز-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 *L. exigua* و میانگین درصد تلفات این حشره در برابر تیمارها در جداول ۸ و ۹ دیده می‌شود.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر سمیت تیمارهای مختلف در غلظت 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 تیمارها 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 گذشتن 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 کم‌خطرتر 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 چغندر قند شد. بر اساس نتایج به‌دست 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 چغندر هستند. با توجه به اینکه گزارش‌های متعددی از سمیت ترکیبات آلکالوئیدی و ترپنوئیدی روی حشرات وجود دارد و بر اساس

منابع مورد استفاده

۱. آریانا، ا. ۱۳۷۸. کنترل کنه *Varroa jacobsoni* در کلونی زنبورعسل اروپایی توسط برخی ترکیبات گیاهی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد حشره‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.
۲. باقری زنون، م. ۱۳۷۵. *سخت‌بال پوشان زیان آور محصولات غذایی و صنعتی*. انتشارات سپهر، تهران.
۳. جلالی‌سندی، ج. و ک. اعتباری. ۱۳۷۷. اثر حشره‌کشی عصاره‌های آبی برگ‌های آقطی *Sambucus ebulus* و گندواش *Artemisia annua* روی سرخ‌طومی برنج *Sitophilus oryzae* (Col.:Curculionidae). مجموعه خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران. آموزشکده کشاورزی، کرج، شهریور سال ۱۳۷۷.
۴. جلالی‌سندی، ج. و ک. اعتباری. ۱۳۷۷. بررسی اثر حشره‌کشی عصاره آبی گندواش *Artemisia annua* روی لاروهای سفیده کوچک کلم (*Pieris rapae* (Lep: Pieridae)). مجموعه خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران. آموزشکده کشاورزی، کرج، شهریور سال ۱۳۷۷.
۵. حسینی‌ناوه، و. و ح. الهیاری. ۱۳۸۲. برم‌افزار تهیه پروبیت و LC₅₀. پایان‌نامه گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.
۶. حقیقیان، ف. و ج. جلالی‌سندی. ۱۳۷۷. مقایسه تأثیر بازدارندگی عصاره گیاهان *Artemisia annua* و *Sambucus ebulus* بر روی شپشه آرد *Tribolium confusum* (Col.:Tenebrionidae). مجموعه خلاصه مقالات پانزدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران. دانشگاه رازی کرمانشاه، شهریور ۱۳۸۱.
۷. شاکرمی، ج. ک. کمالی و س. محرمی‌پور. ۱۳۸۳. کاربرد گیاه درمنه کوهی به عنوان یک حشره‌کش نباتی. مجموعه خلاصه مقالات اولین سمینار توسعه و صنایع کود شیمیایی و آفت‌کش نباتی، دانشگاه علم و صنعت، تهران.
۸. شاکرمی، ج. ک. کمالی و س. محرمی‌پور. ۱۳۸۲. سمیت تنفسی و اثر دور‌کنندگی اسانس گیاه مریم‌گلی *Salvia bracteata* روی چهار گونه آفت انباری. نامه انجمن حشره‌شناسی ایران ۲۴(۲): ۳۵-۴۹.
۹. عیسوی، ک. م. کریمی، م. و م. اخوان. ۱۳۷۵. استخراج و فرمولاسیون عصاره گیاه کما (انگوزه) و بررسی اثر فارچ‌کشی و حشره‌کشی آن. مؤسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی. وزارت کشاورزی، تهران.

۱۰. ناظمی رفیع، ج.، س. محرمی پور و م. مروتی. ۱۳۸۰. خاصیت حشره کشی عصاره‌های اتانولی خرزهره *Nerium oleander* اسطوخودوس *Lavandula officinalis* و عصاره متانولی صمغ انگوزه *Frula assafoetida* علیه شب پره آرد *Ephestia kuehniella* (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 نعنای، اکالیپتوس و جعفری بر دو 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. KossoḡA . 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. Ciccìa, 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 *Crillo 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. Smaggehe, 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 . Vertion 6, SAS Cary Nc.
26. Smith, S. F. and V. A. Krischik. 2000. Effect of biorational pesticides on four coccinellid species (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.