بررسی اثر حشره‌کشی عصاره برخی از گیاهان روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات *Callosobruchus maculatus* F. در آزمایشگاه و کرم برگخوار چغندرقند *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 ۵ ± ۷۰ درصد 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 شیرتیغال (با ۵۴/۶ درصد تلفات)، استونی برگ استبرق (با ۵۳/۶ درصد تلفات)، متانولی شاتره (با ۵۲/۷ درصد تلفات)، متانولی فلفل‌دلمه (با ۵۰ درصد تلفات) و استونی آویشن شیرازی (با۵۰ 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 چهارتکرار اجرا شد. عصاره استونی برگ استبرق با ۵۷/۵ ٪ بیشترین وآویشن شیرازی با ۲۷/۵ ٪ کمترین تأثیر را نسبت به سایر عصاره‌ها روی لارو برگخوار چغندرقند 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 سم شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران
* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: ebadir@cc.iut.ac.ir

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-04-03]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.42.19.3]

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 جانشینی 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 گیشتر 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 ویلالوبوس 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 (*Datura* 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*) تأثیرسمیت 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 قیچ لوبیایی(*Zygophillum fabago*)۷۰ تا ۱۰۰ درصد تلفات را روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات ایجاد می‌کند (۱۳). به‌علاوه مطابق آزمایش توماس و کالاگان (۱۹۹۹) عصاره سیر (*Allium sativum*) روی دوبالان 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 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 وجلالی 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 حشره کشی 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 وعدم 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

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-04-03]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.42.19.3]

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 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 ۲ ± ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت تاریکی و ۸ ساعت روشنایی و رطوبت نسبی حدود ۵ ± ۷۰ درصد انجام شد.

ب) پرورش کرم برگخوار چغندرقند (*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 درآزمایشگاه 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، 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 جمع آوری 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 ۱ ± ۲۸ 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

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-04-03]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.42.19.3]

جدول ۱. گیاهان مورد استفاده در عصاره گیری

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

پنکه در دو طرف نمونه‌ها استفاده شد. معمولا 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 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 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 استایرر (دستگاه به‌هم 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 گذاشته 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 مجددا ۲۰ میلی‌لیتر حلال روی تفاله ریخته شد و به مدت ۱ ساعت روی استایرر با سرعت

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-04-03]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.42.19.3]

قبلی گذاشته شد و مانند مرحله قبل عصاره آن گرفته شد. عصاره استخراج شده توسط دستگاه تقطیردر خلاء در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و سرعت ۱۰۰ دور در دقیقه تغلیظ گشت، به طوری‌که 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 عصاره گیری ثبت گشت.

د) آزمایش‌های زیست‌سنجی

د-۱. آزمایش‌های زیست‌سنجی 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 چهارنقطه‌ای حبوبات هم‌سن، لوبیای چشم بلبلی 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 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 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 و۱/۵ میلی‌لیتر از آن توسط نمونه بردار (Sampler) ۱۰۰۰ -۱۰۰ ماکرولیتری 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 ۵ ± ۷۰ 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 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 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].

$$a = \frac{\log A - \log E}{n - ۱}$$

B = Anti log (logA-a)

C = Anti log (logA-2a)

D = Anti log (logA-3a)

●A وE 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

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-04-03]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.42.19.3]

قبل انجام شد و در هر تیمار از ۲۰ حشره هم سن و تعداد نر و ماده‌های تقریباً برابراستفاده 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.

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 زیست سنجی روی لارو کرم برگخوار چغندر قند استفاده شدند. عصاره‌های انتخابی عبارت بودند از عصاره‌های استونی آویشن‌شیرازی، متانولی شاتره، متانولی فلفل‌دلمه و استونی استبرق. عصاره‌های فوق روی بوته‌های چغندرقند با استفاده از یک محلول پاش دستی یا آب‌فشان که کالیبره شده بود پاشیده شد. برای کالیبره کردن آب فشان، ۱۰۰ میلی‌لیتر آب داخل آب فشان 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 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 ۲ساعت اجازه داده‌شد 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 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-۲-۱.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 تثبیت واریانس، داده‌های درصد مرگ و میر با تبدیل زاویه‌ای $Arcsin\sqrt{Y/100}$ 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

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-04-03]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.42.19.3]

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

نتایج و بحث

نتایج آزمایش مقدماتی

نتایج تأثیر حشره‌کشی۶۹ 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 درصدمعنی‌دار 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 وسمیت 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 فلفل‌دلمه (با ۵۰/۴ درصد تلفات) و استونی آویشن شیرازی (با۵۰ 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 آلکالوییدی، ترپنوییدی، لیمنوییدی، 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 (با۳۳/۳ درصد) دارا بودند. اختلاف بین دو حلال هگزانی واستونی در سطح احتمال ۵ درصدمعنی‌دار نبود. در بررسی ویلالوبوس 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 فلفل‌دلمه (*Capsicum frutescens*) موجب ایجاد تلفات بالایی روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات می‌شود(۱۳). ویلالوبوس 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

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-04-03]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.42.19.3]

جدول ۲ . میانگین درصدتلفات اصلاح شده ناشی ازاثرعصاره‌های گیاهی بر سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات درآزمایشگاه

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- 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-برگ‌استبرق	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- برگ‌شوید	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-مریم‌گلی	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 شیرتیغال	۵۴/۶۴
استونی- فرفیون	۳۰/۲	استونی- بومادران	۲۵/۷	استونی- شیر تیغال	۳۳/۳
متانولی- فرفیون	۳۱/۷	متانولی- بومادران	۳۴/۸	متانولی- شیرتیغال	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	۴۳/۴	متانولی- بابونه	۳۱/۷		

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-04-03]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.42.19.3]

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

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

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

جدول ۴. تجزیه واریانس میانگین حلال‌های مختلف± se

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

بالایی را روی شپشه 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 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 به‌دست 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. ویلالوبوس 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 شپشه آرد ایجاد کردند.

نتایج آزمایش اصلی

با استفاده از عصاره‌های متانولی برگ کلپوره، هگزانی شیرتیغال، استونی برگ استبرق، متانولی شاتره، متانولی فلفل‌دلمه 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 (جداول ۵ و ۶).

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

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-04-03]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.42.19.3]

جدول ۵ . تجزیه واریانس میانگین تلفات سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات در برابر اثر تماسی غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهی انتخاب شده پس از ۳۶ ساعت

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

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

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

بالاترین غلظت عصاره (۷۵۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر) به ترتیب برای عصاره‌های استونی آویشن شیرازی و متانولی شاتره (۸۸/۳ درصد تلفات)، استونی استبرق (۸۳/۳درصد 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 به‌دست آمده در این مطالعه با نتایج آریانا (۱) با آزمایشی که روی درصد تلفات کنه واروآ 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 به‌دست آمده در این مطالعه در خصوص تأثیر عصاره کلپوره با نتایج توماس (نقل از۲۳) مطابقت دارد. وی اعلام کرد عصاره متانولی کلپوره روی رشد لاروهای سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات اثر می‌گذارد و تلفات حدود۷۰ تا۱۰۰ 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 به‌دست آمده توسط آنها با میزان به دست آمده در این آزمایش مطابقت دارد (۱۳، ۱۴، ۱۵، ۲۲ و ۲۳).

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-04-03]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.42.19.3]

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} (µl / 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	۲/۴۵۵۰ ±۰/۳۲۸	۳۳۴/۶	۲۸۸/۹	۳۷۷/۶
متانولی- برگ کلپوره	۳/۷۳	۲/۴۵۵۳ ±۰/۳۲۹	۳۴۴/۳	۲۹۷/۶	۳۹۹/۵
هگزانی- شیرتیغال	۴/۹۳	۲/۷۶۱ ±۰/۳۴۱	۳۷۰/۰۹	۳۲۵/۱۳	۴۲۴/۴۸

* : تعداد افراد مورد آزمایش برای هرتیمار 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 میلی‌لیتر 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 میلی‌لیتر کمترین حساسیت را از خود نشان داد.

با توجه به این‌که 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 این‌صورت شیب خط زیاد خواهد بود و بر عکس وقتی ترکیب جایگاه تأثیر عمومی‌تری 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 هستندیعنی 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 حالی‌که 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 حشره کشی هستند در غلظت‌های متفاوت از غلظت‌های فوق درصد تلفات مشابهی را از خود نشان داده است (۷، ۸، ۱۴ و ۱۸).

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-04-03]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.42.19.3]

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

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

* : در سطح آماری ۵ درصدبین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود دارد. C.V. = ۲۶/۵۱ ns= غیرمعنی‌دار

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 ۱	۲	۳	۴	میانگین ± SE
استونی‌برگ 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 ± ۰/۰۲

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

نتایج آزمایش گلخانه‌ای روی کرم برگخوار چغندر قند *Laphigma exigua*

نتایج تجزیه واریانس آزمایش روی کرم برگخوار چغندر قند *exigua* L. 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 معنی دار است (جدول ۸). در این آزمایش اثر بلوک معنی‌دار نشد و این نشان داد که اثر خاک و شرایط گلخانه برای تمام تیمارهاتفاوت 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 امرممکن است به علت احتمال وجود متابولیت‌های ثانویه در عصاره استونی برگ استبرق با خاصیت دور کنندگی و ضد تغذیه‌ای روی لارو کرم برگخوار چغندرقند 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 وعدم خروج حشره کامل شد ولی

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-04-03]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.42.19.3]

تلفاتی را روی لارو شب‌پره فوق ایجاد نکرد. عصاره با حلال آب گیاه فوق موجب ۸۲ درصد تلفات روی لارو شب‌پره فوق گردید. در حالی‌که 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 پژوهش‌های انجام شده گونه‌های گیاهی فوق نیز دارای مقادیر بالایی از ترکیبات ثانویه گیاهی هستند (۸) بنابراین خاصیت حشره کشی 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 این‌گونه ترکیبات پس از انجام مطالعات بیشتر و تعیین دز مناسب آنها می‌توان در کوتاه مدت به‌عنوان 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.

منابع مورد استفاده

۱. آریانا، ا. ۱۳۷۸. کنترل کنه *Varroa jacobsoni* در کلونی زنبورعسل اروپایی توسط برخی ترکیبات گیاهی. پایان نامه کارشناسی ارشد حشره شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان.

۲. باقری زنوز، م. ۱۳۷۵. *سخت‌بال پوشان زیان آور محصولات غذایی و صنعتی*. انتشارات سپهر، تهران.

۳. جلالی سندی، ج. و ک. اعتباری. ۱۳۷۷. اثر حشره کشی عصاره‌های آبی برگ‌های آقطی *Sambucus ebulus* و گندواش *Artemisia annua* روی سرخرطومی برنج *Sitophilus oryzae* (Col.:Curculionidae) . مجموعه خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران. آموزشکده کشاورزی، کرج، شهریور سال ۱۳۷۷.

۴. جلالی سندی، ج. و ک. اعتباری. ۱۳۷۷. بررسی اثر حشره کشی عصاره آبی گندواش *Artemisia annua* روی لاروهای سفیده کوچک کلم(Lep: Pieridae) *Pieris rapae* . مجموعه خلاصه مقالات سیزدهمین کنگره گیاهپزشکی ایران. آموزشکده کشاورزی، کرج، شهریور سال ۱۳۷۷.

۵. حسینی ناوه، و. و ح. اللهیاری. ۱۳۸۲. برم افزار تهیه پروبیت و LC_{50}. پایان‌نامه گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران.

۶. حقیقیان، ف. و ج. جلالی سندی. ۱۳۷۷. مقایسه تأثیر بازدارندگی عصاره گیاهان *Artemisia annua* و *Sambucus ebulus* بر روی شپشه آرد (Col.:Tenebrionidae) *Tribolium confusum*. مجموعه خلاصه مقالات پانزدهمین کنگره گیاه‌پزشکی ایران. دانشگاه رازی کرمانشاه، شهریور ۱۳۸۱.

۷. شاکرمی، ج.، ک. کمالی و س. محرمی‌پور. ۱۳۸۳. کاربردگیاه 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.

۸. شاکرمی، ج.، ک. کمالی و س. محرمی‌پور. 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): ۳۵- ۴۹.

۹. عیسوی، ک.، م. کریمی و م. اخوان. ۱۳۷۵. استخراج و فرمولاسیون عصاره گیاه کما (انغوزه) وبررسی اثر قارچ کشی و حشره کشی آن. مؤسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی. وزارت کشاورزی، تهران.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-04-03]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.42.19.3]

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 انغوزه *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 نعناع، 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. KossoµA . 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 *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. 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 . Vertion 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.

[Downloaded from jstnar.iut.ac.ir on 2025-04-03]

[DOR: 20.1001.1.24763594.1386.11.42.19.3]