

## اثر تخم کشی اسانس دو گونه اکالیپتوس روی کنه تارتن دولکه ای

*Tetranychus urticae* Koch

فرامرز حریری مقدم<sup>۱</sup> و سعید محرمی پور<sup>۲\*</sup>

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، رشته حشره شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

۲- نویسنده مسؤل: دانشیار گروه حشره شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس (moharami@modares.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۰/۹/۲۲

### چکیده

کنه تارتن دولکه ای *Tetranychus urticae* Koch یکی از چند خوارترین آفات شناخته شده محصولات کشاورزی دنیا به حساب می آید. با توجه به اثرات نامطلوب استفاده از آفت کش های شیمیایی نظیر بروز مقاومت در کنه های گیاهی، این تحقیق به منظور معرفی ترکیبات جایگزین کم خطر برای محیط زیست انجام گرفت. لذا در این مطالعه اثر تخم کشی اسانس گیاهان *Eucalyptus* و *Eucalyptus salmonophloia* F. Muell و *Eucalyptus kingsmillii* (Mauden) Maiden & Blakely روی کنه تارتن دو لکه ای *T. urticae* در شرایط دمایی  $0.5 \pm 27$  درجه سلسیوس، رطوبت نسبی  $5 \pm 50$  درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بررسی شد. اسانس ها به روش تقطیر با آب، توسط دستگاه کلونجر استخراج شدند. غلظت های ۳/۷۵، ۸/۲۸، ۱۱/۵۷، ۱۵/۶۰ و ۱۹/۳۲ میکرولیتر بر لیتر هوا روی یک قطعه کاغذ صافی به قطر ۲ سانتی متر ریخته و در داخل در پوش ظروف شیشه ای قرار گرفتند. پس از ۱ و ۳ روز، تخم های کنه به ظروف عاری از اسانس منتقل و پس از ۲۴ ساعت تعداد تخم تفریح شده در هر ظرف شمارش گردید. نتایج حاصل از پردازش داده ها بیان می دارد که  $LC_{50}$  محاسبه شده گیاهان *E. kingsmillii* و *E. salmonophloia* روی مرحله تخم کنه تارتن دو لکه ای پس از گذشت ۲۴ ساعت به ۱۴/۳۹ و ۱۴/۱۴ میکرو لیتر بر لیتر هوا و پس از ۷۲ ساعت به ۷/۱۷ و ۷/۱۹ میکرو لیتر بر لیتر هوا می رسد. بر اساس مقادیر  $LC_{50}$  محاسبه شده، اثر تخم کشی این دو گیاه اختلاف معنی داری با هم نداشتند اما مدت زمان ۷۲ ساعت اسانس دهی به طور معنی دار بسیار موثرتر از ۲۴ ساعت اسانس دهی بود. شناسایی اسانس های گیاهی با استفاده از دستگاه GC و GC/MS نشان داد که 1,8-Cineole، *P-cymene* و  $\alpha$ -Pinene ترکیبات غالب موجود در اسانس های مورد مطالعه را تشکیل می دهند.

**کلید واژه ها:** *Eucalyptus kingsmillii*، *Eucalyptus salmonophloia* اسانس، کنه تارتن دولکه ای، اثر تخم کشی

### مقدمه

بر عرصه های کشاورزی، در عرصه های جنگلی و مرتعی نیز یکی از مهمترین عوامل خسارت زا می باشد (خانجانی، ۱۳۸۳). این کنه از مهم ترین آفات بادمجان در ایران و سایر کشورها به شمار می آید. در گذشته گونه غالب را *Tetranychus turkestanii* (U.&N.) می دانستند ولی در بررسی های صورت گرفته روی نمونه های جمع آوری شده از مناطق مختلف

کنه تارتن دولکه ای *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) به بسیاری از گیاهان زراعی و زینتی خسارت وارد می کند. این آفت در بین ۱۲۰۰ گونه کنه تارتن که در جهان شناخته شده اند، یکی از چند خوارترین گونه هاست که بیش از ۱۰۰۰ گونه میزبان در ۱۰۰ خانواده گیاهی دارد و علاوه

کشور شامل گرگان، گنبد، اشتهارد، ورامین و دشت مغان مشخص شد که هویت علمی کنه تارتن دولکه ای در مناطق کشور *T. urticae* است (خانجانی، ۱۳۸۵). توت فرنگی، انواع درخت میوه، گیاهان زراعی، سبزی، صیفی و زینتی از میزبان های این کنه در محیط های باز و گلخانه می باشد (مدرس اول، ۱۳۸۰؛ خانجانی، ۱۳۸۵). کنه تارتن دولکه ای به دلیل انتشار جهانی گسترده، محدوده میزبانی وسیع، خسارت شدید (مستقیم و غیر مستقیم)، نرخ بالای افزایش جمعیت و نیز توانایی در ایجاد مقاومت در آفت کش ها اهمیت زیادی دارد (نیکولاس و همکاران<sup>۱</sup>، ۱۹۹۸). به نظر می رسد که کنه تارتن دولکه ای در ۴۰ سال گذشته چندان اهمیت اقتصادی در ایران نداشته است ولی به علت سمپاشی های بی رویه و مخصوصاً مصرف سموم کلره امروزه این آفت به صورت یک آفت درجه اول در باغ ها جلب نظر می کند (بهداد، ۱۳۸۱). یکی از بزرگ ترین مشکلات در رابطه با کنه تارتن دو لکه ای این است که به سرعت به کنه کش ها مقاوم می شود. تا کنون مقاومت کنه تارتن به بیش از ۸۰ کنه کش در ۶۰ کشور گزارش شده است (میراسماعیلی و ایسمن<sup>۲</sup>، ۲۰۰۶). بنابراین یکی از روش های جایگزین برای آفت کش های شیمیایی استفاده از ترکیبات گیاهی بخصوص اسانس های گیاهی است که اخیراً مورد توجه بسیار قرار گرفته است.

اسانس های گیاهی علاوه بر این که برای انسان و سایر پستانداران کم خطر هستند، دارای خواص دارویی و غذایی بوده و در طبیعت نیز به سرعت تجزیه می شوند (تاماس<sup>۳</sup>، ۱۹۹۰). در سال های اخیر مطالعات متعددی روی خاصیت کنه کشی اسانس های گیاهی صورت گرفته است. بطور مثال پونتس و همکاران (پونتس و همکاران<sup>۴</sup>، ۲۰۰۷) طی یک بررسی اظهار داشتند اسانس حاصل از برگ های تازه و مسن گیاه

کهنه ای دارای خاصیت کنه کشی، دورکنندگی و بازدارندگی از تخم ریزی می باشد. بر اساس این بررسی فقط برگ های مسن و کهنه دارای خاصیت دور کنندگی بر علیه کنه تارتن دو لکه ای بوده و برگ های تازه فقط موجب فعالیت کنه کشی و بازدارندگی از تخم ریزی می شود. میراسماعیلی و ایسمن (۲۰۰۶) اثر اسانس خالص رزماری و اکتوتروپ (شکل فرموله شده اسانس) را روی کنه تارتن دولکه ای و دشمن طبیعی آن *Phytoseiulus persimilis* Athias-Henriot بررسی کردند و نشان دادند که اسانس رزماری و اکتوتروپ در کنترل کنه تارتن دولکه ای در گلخانه بسیار موثر می باشد. همچنین د اسانس رزماری به صورت تدخینی اثر تخم کشی و لاروکشی روی چندین گونه آفات انباری و کنه تارتن دولکه ای دارد (چوی و همکاران<sup>۵</sup>، ۲۰۰۴؛ پاپا کریستوس و استامپولوس<sup>۶</sup>، ۲۰۰۴؛ تونک و همکاران<sup>۷</sup>، ۲۰۰۰). در مطالعه دیگری اسانس استخراج شده از ۱۴ گونه گیاهی خانواده *Lamiaceae* سبب مرگ و میر، دورکنندگی و کاهش تفریح تخم ماده های بالغ کنه ارغوانی *T. cinnabarinus* شده است (منصور و همکاران<sup>۸</sup>، ۱۹۸۶). علی رغم تحقیقات متعدد انجام شده روی اثر اسانس های گیاهی در کنترل کنه تارتن دولکه ای، مطالعات کمی روی اثر کنه کشی اسانس اکالیپتوس انجام گرفته است. عمده تحقیقات به بررسی اثر اسانس اکالیپتوس روی آفات انباری پرداخته است (منصور و همکاران، ۲۰۰۴؛ نگهبان و محرمی پور<sup>۹</sup>، ۲۰۰۷). تا قبل از این مطالعه گزارشی مبنی بر اثر تخم کشی اسانس های گیاهی *E. kingsmillii* و *salmonophloia* روی کنه تارتن دولکه ای در دسترس نمی باشد اما با این حال

5- Choi *etal.*

6- Papachristos &amp; Stampoulis

7- Tunc *etal.*8- Mansour *et al.*

9- Negahban &amp; Moharrampour

1- Nicholas *et al.*

2- Miresmailli &amp; Isman

3- Tamas

4- Pontes *et al.*

مرطوب تا زمان انتقال به گلدان ها نگهداری شدند. گلدان های پلاستیکی دارای ارتفاع ۱۲ و قطر ۱۶ سانتی متر بودند. هر دو هفته یک بار ۲۰ گلدان کاشته شد. آبیاری گلدان ها با بررسی روزانه بر حسب نیاز قبل از خشک شدن کامل خاک پای آنها انجام گرفت. گلدان های غیر آلوده در اتاقک رشد با دمای  $27 \pm 0.5$  درجه سلسیوس، رطوبت  $5 \pm 50$  درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند (حامدی، ۱۳۸۶).

### پرورش کنه تارتن دولکه ای

گیاهان پس از این که کاملاً رشد کردند به اتاقک رشد با دمای  $27 \pm 0.5$  درجه سلسیوس، رطوبت  $5 \pm 50$  درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند. برای ایجاد آلودگی، کنه تارتن دولکه ای از مزارع لویبای دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس جمع آوری شد و روی گیاهان سالم لویبای قرار گرفت (حامدی، ۱۳۸۶).

### تهیه اسانس

جهت تهیه اسانس، برگ های گیاهان اکالیپتوس خشک و به صورت خرد شده درآورده شدند. در هر نوبت اسانس گیری ۵۰ گرم گیاه خرد شده همراه با ۶۰۰ میلی لیتر آب مقطر با استفاده از دستگاه اسانس گیر شیشه ای طرح Clevenger ساخت واحد شیشه گری سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس به روش تقطیر با آب اسانس گیری و با کمک سولفات سدیم آبیگری شده و تا زمان استفاده در میکروتیوب پلاستیکی به حجم ۲ میلی لیتر با روپوش آلومینیومی در داخل یخچال در شرایط دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند (نگهبان و همکاران، ۲۰۰۷).

راندمان اسانس برای گیاه *E. salmonophloia* ۳/۰۰۰ درصد وزنی و برای گیاه *E. kingsmillii* ۲/۰۴۲ درصد وزنی محاسبه شد. زمان اسانس گیری برای هر نمونه ۳ ساعت بود.

تحقیقاتی توسط تونک و شاهینکایا<sup>۱</sup> (۱۹۹۸) روی سمیت تنفسی *Eucalyptus camadulensis* Dehn روی کنه تارتن دولکه ای انجام گرفته است. از آنجا که در مطالعات قبلی اثر اسانس گونه های اکالیپتوس مورد مطالعه روی ماده های بالغ کنه تارتن دولکه ای به اثبات رسیده است (حریری مقدم و همکاران، ۱۳۹۰)، لذا در این تحقیق به بررسی اثر تخم کشی اسانس های مورد مطالعه پرداخته شده است.

با توجه به اهمیت کنترل آفات نباتی در مرحله تخم به منظور جلوگیری از ظهور و رسیدن آفات به مرحله ایجاد خسارت، در این تحقیق اثر اسانس گیاهان *Eucalyptus* و *Eucalyptus salmonophloia* و *kingsmillii* روی مرحله تخم کنه تارتن دولکه ای و ترکیبات شیمیایی اسانس در شرایط آزمایشگاه مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به بررسی های صورت گرفته تاکنون کنه تارتن دولکه ای به عنوان آفت از روی اکالیپتوس های مورد مطالعه در این پژوهش گزارش نشده است.

### مواد و روش ها

#### جمع آوری گیاهان مورد مطالعه

برگ های گیاهان اکالیپتوس در اواخر فروردین ماه ۱۳۸۷ از ایستگاه تحقیقاتی سازگاری گونه های درختی و درختچه ای در بیشه زار کوشکک واقع در شهر شوشتر جمع آوری شدند. برگ های این گیاهان در محل کاملاً تاریک و خشک قرار داده شده و پس از خشک شدن، بسته بندی و در پاکت های کاغذی در فریزر و در دمای ۲۴- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

#### پرورش گیاه میزبان

از گیاه لویبای *Phaseolus vulgaris* L. به عنوان گیاه میزبان کنه تارتن دولکه ای استفاده شد. بذرها گیاه لویبای قبل از کاشت به مدت ۲۴-۴۸ ساعت خیسانده شده و پس از تحریک جوانه زنی درون پارچه ای

متشکله اسانس با مقایسه زمان بازداری و اندیس بازداری همچنین طیف شکست جرمی آنها با داده های استاندارد و مراجع معتبر صورت گرفت. آنالیزهای GC با استفاده از کروماتوگرافی گازی Shimadzu GC-9A با ستون DB-5 fused silica به طول ۳۰m، قطر داخلی ۰/۲۵ mm و ضخامت فاز ساکن ۰/۲۵ انجام شد. دتکتور GC از نوع FID و گاز حامل آن هلیوم (خلوص ۹۹/۹) با فشار ورودی به ستون برابر  $3 \text{ kg/cm}^2$  بود. برنامه ریزی دمایی از ۶۰-۲۶۰ درجه سلسیوس و با سرعت  $3^\circ \text{C/min}$  انجام گرفت. دمای قسمت تزریق و دتکتور به ترتیب ۲۵۰ و ۲۷۰ درجه سلسیوس تنظیم شد. آنالیزهای GC-MS توسط دستگاه Varian 3400 با ستون DB-5 fused silica به طول ۳۰ m و قطر داخلی ۰/۲۵ mm و ضخامت لایه فاز ساکن ۰/۲۵ میکرولیتر انجام شد. دمای آون از ۴۰ تا ۲۶۰ درجه سلسیوس و با سرعت  $3^\circ \text{C/min}$  برنامه ریزی می شود. دمای محل تزریق و خط انتقال به ترتیب در ۲۷۰ و ۲۸۰ درجه سلسیوس تنظیم شد. انرژی یونیزاسیون در طیف جرمی ۷۰ eV، زمان روبش ۱ s و محدوده جرمی ۳۰۰-۴۰ amu بود.

### نتایج و بحث

**اثر اسانس روی مرحله تخم کنه تارتین دو لکه ای بعد از ۲۴ و ۷۲ ساعت**  
در مدت زمان ۲۴ ساعت اسانس دهی در کمترین غلظت ۳/۷۵ میکرو لیتر بر لیتر هوا میزان مرگ و میر تخم به ترتیب در گیاهان *E. salmonophloia* و *E. kingsmillii* برابر با ۱۹ و ۱۴ درصد بود اما این میزان مرگ و میر در بالاترین غلظت ۱۹/۳۲ میکرو لیتر بر لیتر هوا به ۶۲ و ۶۵ درصد رسید. همچنین در مدت زمان ۷۲ ساعت اسانس دهی در کمترین غلظت ۳/۷۵ میکرو لیتر بر لیتر هوا میزان مرگ و میر تخم به ترتیب در گیاهان *E. salmonophloia* و *E. kingsmillii* برابر با ۳۸ و ۳۷ درصد بود اما این میزان

### مطالعات آزمایشگاهی اثر اسانس روی مرحله تخم کنه تارتین دو لکه ای

بر اساس روش پاپاکریستوس و استاپولوس (۲۰۰۲) و شاکرمی (۱۳۸۳) تعداد ۲۰ جفت کنه نر و ماده با عمر کمتر از ۷۲ ساعت در شرایط آزمایشگاه روی برگ سالم گیاه لوبیا رها سازی و اجازه داده شدند به مدت یک روز تخم ریزی کنند. سپس کنه ها با کمک برس نرم جمع آوری و برگ لوبیا حاوی ۲۰ عدد تخم باقی ماند. در صورت وجود تعداد بیشتری تخم روی هر برگ، در زیر استریو میکروسکوپ با کمک پنس آزمایشگاهی ظریف تعداد آنها به ۲۰ عدد کاهش داده شد. برگ لوبیا حاوی ۲۰ عدد تخم کنه تارتین دو لکه ای در داخل ظروف شیشه ای در پوش دار به حجم ۲۸۰ میلی لیتر قرار می گیرد. بر اساس آزمایش های مقدماتی انجام شده، غلظت های ۱/۰۵، ۲/۳۲، ۳/۲۴، ۴/۳۷ و ۵/۴۱ میکرو لیتر برابر با ۳/۷۵، ۸/۲۸، ۱۱/۵۷، ۱۵/۶۰ و ۱۹/۳۲ میکرو لیتر بر لیتر هوا روی یک قطعه کاغذ صافی به قطر ۲ سانتی متر ریخته و کاغذ صافی در داخل در پوش ظروف شیشه ای قرار گرفت. درب شیشه با نوار پارافیلیم بسته شده و غیر قابل نفوذ گشتند. مدت اسانس دهی ۱ و ۳ روز بود. پس از گذشت ۱ و ۳ روز، تخم های کنه به ظروف عاری از اسانس منتقل شده و پس از ۲۴ ساعت تخم تفریخ شده در هر ظرف شمارش گردید. در هر آزمایش درصد مرگ و میر طبق فرمول ابوت<sup>۱</sup> (۱۹۲۵) اصلاح شده و به کمک نرم افزار SAS 6.12 (۲۰۰۲) مقادیر LC<sub>50</sub> مورد محاسبه قرار گرفت (ماتسومورا<sup>۲</sup>، ۱۹۸۵). این آزمایش در ۵ تکرار انجام شد.

### جدا سازی و شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس

۰/۲ میکرو لیتر از اسانس استخراج شده در ۲ میلی لیتر دی کلرومتان حل شد و به دستگاه GC و GC/MS تزریق گردید. سپس شناسایی ترکیبات

1- Abbott  
2- Matsumura

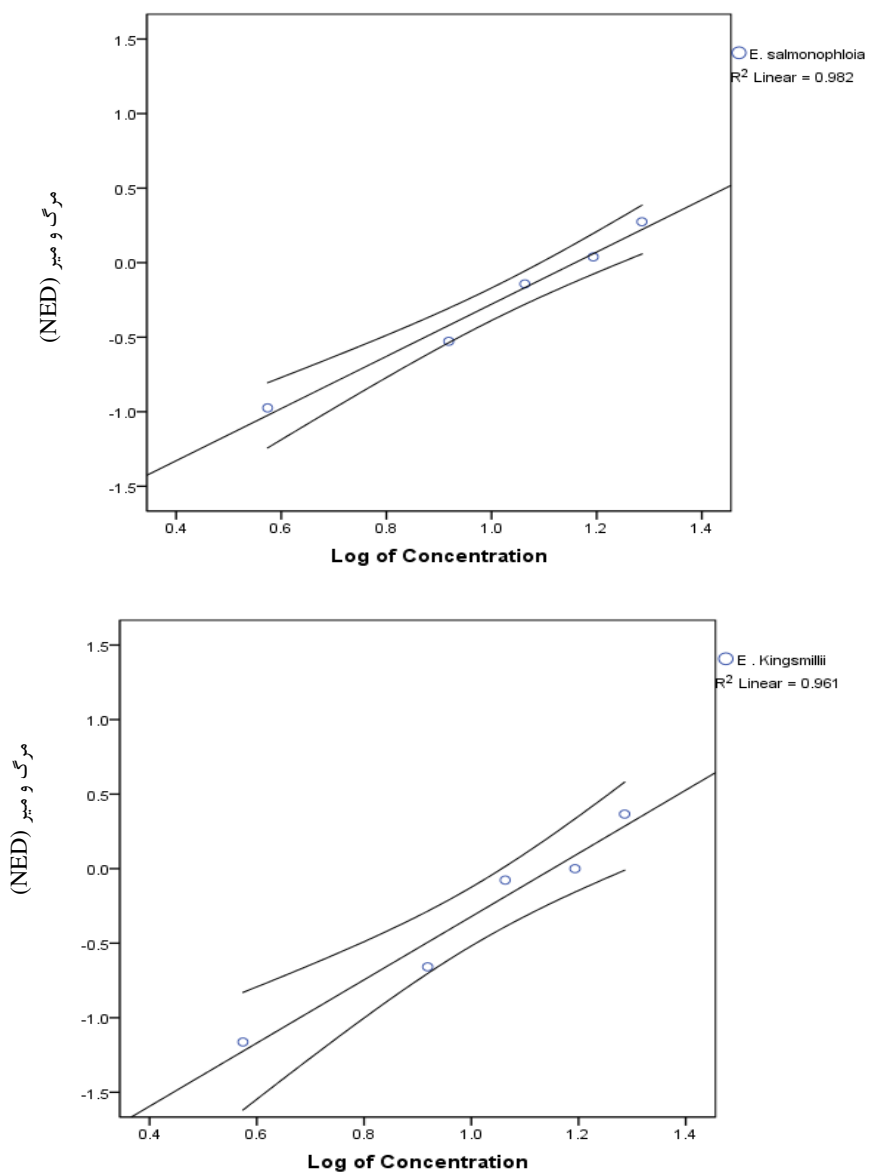
با یکدیگر موازی هستند (جدول ۳ و ۴). از آن جایی که آزمون موازی بودن خطوط دز-پاسخ از نظر آماری به اثبات رسید بنابراین می توان نتیجه گرفت که شیب خطوط اختلاف معنی داری با هم ندارند لذا به نظر می رسد که باید به هر دو اسانس واکنش یکسان نشان بدهد. به طور کلی می توان گفت حساسیت مرحله تخم کنه تارتن دولکه ای در ۷۲ ساعت به اسانس بیشتر از ۲۴ ساعت می باشد و با گذشت مدت زمان در معرض اسانس بودن درصد تلفات تخم بالا رفته و این امر باعث کاهش تفریح تخم کنه تارتن دولکه ای می گردد. با توجه به بررسی صورت گرفته توسط حریری مقدم (۱۳۸۸) در مدت زمان ۲۴ ساعت اسانس دهی، مقاوم ترین مرحله به اسانس مرحله تخم کنه تارتن دولکه ای می باشد ولی در مراحل لاروی و ماده بالغ اسانس دهی به مدت ۲۴ ساعت با اسانس دهی مرحله تخم کنه تارتن دولکه ای به مدت ۷۲ ساعت مقاومت یکسانی مشاهده می شود، چون حدود اطمینان ۹۵ درصد  $LC_{50}$  به دست آمده در این سه مرحله از مراحل زندگی کنه تارتن دو لکه ای با یکدیگر اختلاف معنی داری ندارند که با نتایج حاصل از بررسی صورت گرفته توسط تونک و همکاران (۲۰۰۰) مطابقت دارد. بنابراین نتایج بدست آمده نشان می دهد در صورتی که فقط تخم های یک روزه اسانس دهی شوند مقاومت تخم ها دو برابر بیشتر از مدت اسانس دهی در طول ۳ روز می باشد، شاید بتوان نتیجه گیری نمود که با پیشرفت رشد و نمو جنین در داخل تخم حساسیت به اسانس افزایش یابد. بنابراین از نظر عملی به نظر می رسد که اسانس دهی به مدت ۷۲ ساعت می تواند به نحو موثری در کنترل مرحله تخم کنه تارتن دولکه ای موثر واقع شود که این نتایج با مطالعات پاپاکریستوس و استامپولوس (۲۰۰۴) مطابقت دارد و از آن جهت که اسانس های گیاهی روی سیستم عصبی اثر می کنند بنابراین ممکن است حساسیت بیشتر تخم در ۷۲ ساعت اسانس دهی به دلیل شکل گیری این سیستم باشد

مرگ و میر در بالاترین غلظت ۱۹/۳۲ میکرو لیتر بر لیتر هوا به ۸۶ و ۸۷ درصد رسید. نتایج حاصل از پردازش داده ها بیان می دارد که  $LC_{50}$  محاسبه شده گیاه *E. salmonophloia* روی مرحله تخم کنه تارتن دو لکه ای پس از گذشت ۲۴ ساعت ۱۴/۳۹ میکرو لیتر بر لیتر هوا بود، اما بعد از سپری شدن مدت زمان ۷۲ ساعت این میزان به ۷/۱۷ میکرو لیتر بر لیتر هوا رسید. با توجه به حدود اطمینان ۹۵ درصد می توان عنوان کرد مقادیر  $LC_{50}$  محاسبه شده گیاه *E. salmonophloia* برای مدت زمان های ۲۴ و ۷۲ ساعت دارای اختلاف معنی دار می باشد. همچنین  $LC_{50}$  محاسبه شده گیاه *E. kingsmillii* روی مرحله تخم کنه تارتن دولکه ای بعد از ۲۴ ساعت ۱۴/۱۴ میکرو لیتر بر لیتر هوا بوده که این میزان بعد از ۷۲ ساعت به ۷/۱۹ میکرو لیتر بر لیتر هوا می رسد. با توجه به حدود اطمینان ۹۵ درصد بیان می گردد مقادیر  $LC_{50}$  محاسبه شده این گیاهان در زمان های ۲۴ و ۷۲ ساعت با یکدیگر دارای اختلاف معنی داری می باشند که این اختلاف ممکن است ناشی از حساسیت مراحل مختلف جنین در تخم کنه تارتن دولکه ای به اسانس باشد. از طرفی با عنایت به حدود اطمینان ۹۵٪ مقادیر  $LC_{50}$  و سمیت نسبی<sup>۱</sup> محاسبه شده در مدت زمان ۲۴ ساعت از گیاه *E. salmonophloia* با مدت زمان مشابه از گیاه *E. kingsmillii* با یکدیگر اختلاف معنی داری ندارند. همچنین می توان گفت  $LC_{50}$  گیاه *E. salmonophloia* با  $LC_{50}$  گیاه *E. kingsmillii* در مدت زمان ۷۲ ساعت نیز با یکدیگر اختلاف معنی داری ندارند (شکل ۱ و ۲، جدول ۱، ۲ و ۴). همچنین در بررسی آزمون موازی بودن خطوط دز-پاسخ اسانس گیاهان *E. salmonophloia* و *E. kingsmillii* روی مرحله تخم کنه تارتن دولکه ای در مدت ۲۴ و ۷۲ ساعت اسانس دهی اختلاف معنی داری مشاهده نشد و بنابراین می توان گفت خطوط دز-پاسخ هر دو اسانس

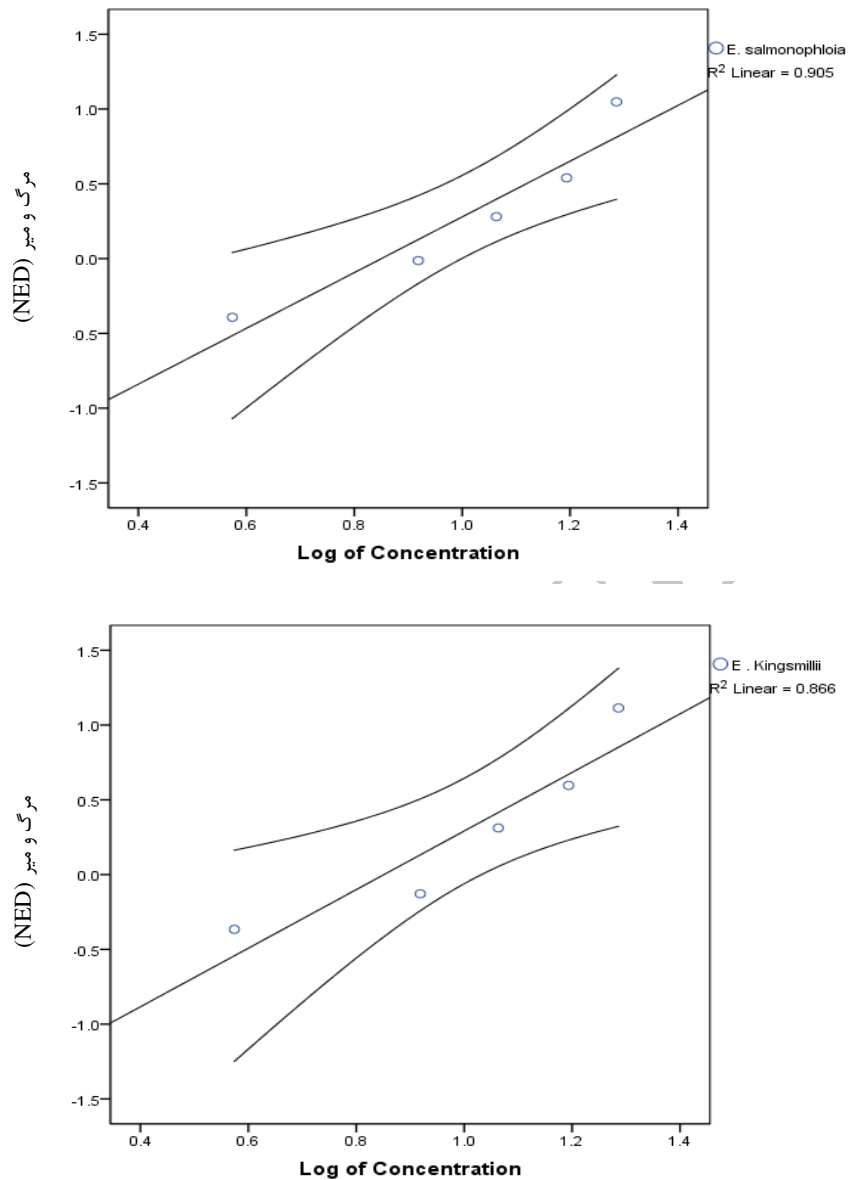
1- Relative toxicity

حریری مقدم و محرمی پور: اثر تخم کشی اسانس دو گونه اکالیپتوس...

در صورتی که در تخم یک روزه ممکن است سیستم  
عصبی کامل نشده باشد.



شکل ۱- خطوط دز-پاسخ مرگ و میتر اسانس *E. salmoniphloia* و *E. kingsmillii* روی مرحله تخم کنه تارتن دولکه ای *T. urticae* پس از ۲۴ ساعت



شکل ۲- خطوط دز-پاسخ مرگ و میر اسانس *E. salmoniphloia* و *E. kingsmillii* روی مرحله تخم کنه تارتن دولکه ای *T. urticae* پس از ۷۲ ساعت

جدول ۱- مقادیر  $LC_{50}$  محاسبه شده در بررسی سمیت تنفسی اسانس *E. salmoniphloia* و *E. kingsmillii* روی مرحله تخم کنه تارتن دولکه ای *T. urticae* پس از ۲۴ ساعت

گیاه	n	$\chi^2$ (df = 3)	p-value	Slope $\pm$ SE	$LC_{50}$ ( $\mu$ L/L air) <sup>1</sup>
<i>E. salmoniphloia</i>	۵۰۰	۰/۸۹	۰/۸۲۷	۱/۷۸ $\pm$ ۰/۲۷	۱۴/۳۹ (۱۲/۳۰ - ۱۷/۷۱)
<i>E. kingsmillii</i>	۵۰۰	۳/۰۵	۰/۳۸۳	۲/۱۷ $\pm$ ۰/۲۹	۱۴/۱۴ (۱۲/۴۲ - ۱۶/۵۸)

۱- اعداد داخل پرانتز در این ستون حدود اطمینان ۹۵٪ می باشد.

حریری مقدم و محرمی پور: اثر تخم کشی اسانس دو گونه اکالیپتوس...

جدول ۲- مقادیر  $LC_{50}$  محاسبه شده در بررسی سمیت تنفسی اسانس *E. salmoniphloia* و *E. kingsmillii* روی مرحله تخم کنه تارتن دولکه ای *T. urticae* پس از ۷۲ ساعت

گیاه	n	$\chi^2$ (df = 3)	p-value	Slope $\pm$ SE	$LC_{50}$ ( $\mu$ L/L air) <sup>1</sup>
<i>E. salmoniphloia</i>	۵۰۰	۵/۲۱	۰/۱۵۷	۱/۸۳ $\pm$ ۰/۲۶	۷/۱۷ (۵/۷۷ - ۸/۴۱)
<i>E. kingsmillii</i>	۵۰۰	۹/۲۱	۰/۰۲۷	۱/۹۰ $\pm$ ۰/۴۳	۷/۱۹ (۲/۳۰ - ۱۰/۸۶)

۱- اعداد داخل پرانتز در این ستون حدود اطمینان ۹۵٪ می باشد.

جدول ۳- بررسی موازی بودن خطوط دز-پاسخ اسانس گیاهان *E. kingsmillii* و *E. salmoniphloia* روی مرحله تخم کنه تارتن دولکه ای *T. urticae* پس از ۲۴ و ۷۲ ساعت

سن تخم	Parallelism ( <i>E. salmoniphloia</i> vs <i>E. Kingsmillii</i> ) $\chi^2$ (df=1)	p-value
تخم ۲۴ ساعته	۱/۳۱۰	۰/۲۵۲
تخم ۷۲ ساعته	۰/۵۵۹	۰/۴۵۵

جدول ۴- مقایسه اثر سمیت اسانس های گیاهان *E. kingsmillii* و *E. salmoniphloia* روی مرحله تخم کنه تارتن دولکه ای *T. urticae* به مدت ۲۴ و ۷۲ ساعت اسانس دهی

سن تخم	95% Confidence limits		Relative toxicity
	Upper	Lower	<i>E. salmoniphloia</i> vs <i>E. Kingsmillii</i>
تخم ۲۴ ساعته	۱/۲۰۶	۰/۸۰۰	۰/۹۷۵
تخم ۷۲ ساعته	۱/۱۶۷	۰/۸۵۱	۰/۹۹۴

با غلظت ۲۰ میکرو لیتر بر لیتر هوا، ۸۴ درصد مرگ و میر در تخم گزارش شده است. اسانس حاصل از ۲ گیاه *Tanacetum* و *Artemisia absinthium* L. *vulgare* L. با غلظت ۱۸ میکرو لیتر بر لیتر هوا به ترتیب مرگ و میری برابر با ۷۶ و ۸۱ درصد علیه تخم کنه تارتن دولکه ای ایجاد می کنند (کیاسون و

نتایج حاصل از آزمایش نشان می دهد که علیرغم تفاوت در جمعیت جغرافیایی آفت، به نظر می رسد اثر هر دو اسانس گیاهی مورد مطالعه در این بررسی روی تخم کنه تارتن دولکه ای کمتر از اسانس *Protium heptaphyllum* (Aubl.) است که توسط پونتس و همکاران (۲۰۰۷الف) آزمایش شده بود. در این آزمایش



روی کنه تارتن دولکه ای ناشی از اثر روی سیستم عصبی اکتوپامین و مهار آنزیم استیل کولین استراز باشد و ممکن است دارای چندین محل اثر باشند چون ترکیبات مختلفی دارند (میراسماعیلی و همکاران<sup>۵</sup>، ۲۰۰۶). با توجه به نتایج حاصل از تجزیه اسانس و شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس های گیاهی *E. kingsmillii* و *E. salmonophloia* می توان گفت چون بین درصد ترکیبات اصلی این اسانس ها که خاصیت کنه کشی داشته اختلاف چندانی وجود ندارد، بنابراین بین سمیت تنفسی اسانس دو گیاه *E. kingsmillii* و *salmonophloia* روی کنه های ماده بالغ اختلاف معنی داری مشاهده نشد. به عبارت دیگر شاید بتوان گفت که اختلاف بین درصد ترکیبات اصلی تشکیل دهنده این اسانس ها همچون 1,8-cineole، *P-cymene* و  $\alpha$ -pinene در حدی نیست که باعث ایجاد اختلاف معنی داری بین سمیت تنفسی اسانس دو گیاه *E. kingsmillii* و *E. salmonophloia* گردد. با عنایت به تحقیقات مورتنی و همکاران<sup>۶</sup> (۱۹۹۸) بهترین شکل کاربرد اسانس ها با ترکیبات شیمیایی مختلف استفاده از میکروکپسول است. این روش با محصور کردن اسانس میزان از بین رفتن ماده مؤثره اسانس را کاهش داده و به عنوان پوششی حفاظت آنها در محیط را سبب می شود. همچنین امکان رهاسازی کنترل شده و مناسب را فراهم می کند. فرمولاسیون رهاسازی تحت کنترل اجازه می دهد مقادیر کم آفت کش ها مورد استفاده قرار گیرند به طوری که بیشترین تأثیر را در محدوده زمانی مورد نظر داشته باشند و کمترین خسارت زیست محیطی را داشته باشند. به نظر می رسد که اسانس های گیاهی در محیط های بسته بهتر عمل کرده و ممکن است اثر این ترکیبات در حشرات و کنه ها تا حد بسیار زیادی به دلیل خاصیت

همکاران<sup>۱</sup>، ۲۰۰۱). با توجه به نتایج آزمایش های محققین مختلف و نتایج به دست آمده از آزمایش حاضر می توان به این نتیجه رسید که میزان مرگ و میر تخم بستگی به نوع اسانس، غلظت و مدت زمان در معرض قرارگیری اسانس دارد و با افزایش غلظت اسانس درصد مرگ و میر افزایش می یابد (کیتا و همکاران<sup>۲</sup>، ۲۰۰۱؛ رجا و همکاران<sup>۳</sup>، ۲۰۰۱).

### شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گیاهی

بر اساس نتایج حاصل از GC/MS تعداد ۲۱ ترکیب شیمیایی در اسانس گیاه *E. salmonophloia* و تعداد ۲۲ ترکیب شیمیایی در اسانس گیاه *E. kingsmillii* شناسایی شد. ترکیبات 1,8-cineole، *P-cymene* و  $\alpha$ -pinene در اسانس *E. salmonophloia* به ترتیب برابر با ۴۸/۲، ۲۲/۴ و ۱۶/۶ درصد و در اسانس حاصل از گیاه *E. kingsmillii* ترکیبات 1,8-cineole، *P-cymene* و  $\alpha$ -pinene به ترتیب به میزان ۵۵/۵، ۱۱/۵ و ۷/۱ درصد بوده و بیشترین درصد حجم اسانس های گیاهی *E. kingsmillii* و *E. salmonophloia* را به خود اختصاص داده اند (جدول ۵ و ۶) که این یافته ها با نتایج نگهبان و محرمی پور (۲۰۰۷) و سفیدکن و همکاران<sup>۴</sup> (۲۰۰۶) مطابقت دارد. نتایج حاصل از آزمایش نشان می دهد که غالب ترکیبات فرار مونوترپن بوده و دارای قابلیت کنه کشی، سمیت تنفسی و دورکنندگی می باشند. مونوترپن ها روی مراحل زیستی آفات تأثیر گذاشته و دارای خواص تدخینی بالا می باشند. این ترکیبات لیپوفیل بوده که به سرعت در بدن آفات نفوذ کرده و باعث برهم زدن تعادل عصبی آنها می شود. سیستم عصبی اکتوپامین و مهار آنزیم استیل کولین استراز در حشرات محل اثر اسانس های گیاهی محسوب می شود ولی به طور قطع نمی توان گفت تأثیر اسانس

- 1- Chiasson et al.
- 2- Keita et al.
- 3- Raja et al.
- 4- Sefidkon et al.

- 5- Miresmailli et al.
- 6- Moretti et al.

حریری مقدم و محریمی پور: اثر تخم کشی اسانس دو گونه اکالیپتوس...

جدول ۵- ترکیبات شیمیایی اسانس *Eucalyptus salmonophloia*

Compound	Retention Index	% Composition
<b><math>\alpha</math>-pinene</b>	<b>932</b>	<b>16.6</b>
$\beta$ -pinene	974	0.2
myrcene	990	0.4
<b>P-cymene</b>	<b>1023</b>	<b>22.4</b>
<b>1,8-cineole</b>	<b>1030</b>	<b>48.2</b>
terpinolene	1085	0.2
isopentyl isovalerate	1102	0.3
endofenchol	1115	0.3
trans pinene hydrate	1120	0.1
trans pinocarveol	1136	1.2
pinocavone	1160	1.7
terpnen-4-ol	1174	1.5
$\alpha$ -terpineol	1186	0.2
myrtenal	1194	0.4
trans piperitol	1205	1.3
$\alpha$ -guaiene	1435	1.2
allo-aromadendrene	1458	0.3
spathulenol	1572	0.5
globulol	1580	1.7
viridiflorol	1587	0.3
guaiol	1592	0.1

جدول ۶- ترکیبات شیمیایی اسانس *Eucalyptus kingsmillii*

Compound	Retention Index	% Composition
<b><math>\alpha</math>-pinene</b>	<b>932</b>	<b>7.1</b>
<b>P-cymene</b>	<b>1023</b>	<b>11.5</b>
<b>1,8-cineole</b>	<b>1030</b>	<b>55.5</b>
$\gamma$ -terpinene	1104	0.1
isopentyl isovalerate	1102	0.2
endofenchol	1115	0.4
trans pinene hydrate	1120	0.3
trans pinocarveol	1136	2.3
pinocavone	1160	1.8
terpinen-4-ol	1174	1.9
$\alpha$ -terpineol	1186	0.2
myrtenal	1194	0.5
trans piperitol	1205	1.9
trans carveol	1226	0.3
cumin aldehyde	1236	0.3
$\alpha$ -guaiene	1435	1.5
allo-aromadendrene	1458	1.2
$\beta$ -selinene	1487	0.2
spathulenol	1572	3.8
globulol	1580	5.8
viridiflorol	1587	1.1
guaiol	1592	0.5

انجام داد و با استفاده از امکانات موجود به طور کلی نسبت به ترویج و اشاعه استفاده از ترکیبات گیاهی به عنوان جایگزینی امن به منظور کاهش مصرف سموم سنتز شده شیمیایی اقدامات شایسته را به عمل آورد. با توجه به محدودیت تعداد سموم مورد مصرف برای کنترل آفات انباری و گلخانه ای، بروز مقاومت در آفات نسبت به سموم، خطرات استفاده از سموم شیمیایی برای جانوران خونگرم که در عین حال دارای بقایای خطرناک برای محیط زیست نیز می باشند، نیاز به معرفی جایگزین های اقتصادی برای آفت کش های مصنوعی می باشد که بقایای کم خطرتری در محیط باقی گذاشته و در عین حال دارای فعالیت قابل قبولی در مقایسه با سموم شیمیایی باشد.

تدخینی آنها بوده و از طریق سیستم تنفسی در آنها کشندگی ایجاد کنند. به هر حال ترکیبات شیمیایی مورد استفاده در کشاورزی در طول چند دهه گذشته استفاده شایان توجهی را در کنترل آفات و بیماری های گیاهی به همراه داشته است، از سوی دیگر زیان های عظیم و گاه جبران ناپذیری را در مقابله با تعادل طبیعی و حفظ محیط زیست بر جای گذاشته اند. در شرایط فعلی بهتر است استفاده از ترکیبات گیاهی را به عنوان یکی از عواملی که باعث کاهش مصرف سموم شیمیایی سنتتیک است، قبول نماییم. در عین حال ضرورت تولید محصولات سالم و سازگار با محیط زیست حکم می کند که هر چه سریعتر مطالعات لازم را در مورد هزینه ها و اثر بخش بودن اسانس ها روی طیف وسیعی از آفات گلخانه ای و انباری و ظرفیت های بالقوه ای که در کشور وجود دارد

#### منابع

- بهداد، ا. ۱۳۸۱. حشره شناسی مقدماتی و آفات مهم گیاهی ایران. چاپ نشاط اصفهان، ۸۴۰ ص.
- حامدی، ن. ۱۳۸۶. اثرات کشندگی و زیر کشندگی دو کنه کش روی کنه شکارگر *Phytoseius plumifer* در شرایط آزمایشگاهی. پایان نامه کارشناسی ارشد حشره شناسی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، ۱۱۴ ص.
- حریری مقدم، ف. ۱۳۸۸. بررسی خواص کنه کشی اسانس و عصاره دو گونه اکالیپتوس روی کنه تارتن دولکه ای *Tetranychus urticae* Koch. پایان نامه کارشناسی ارشد حشره شناسی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، ۱۰۳ ص.
- حریری مقدم، ف.، محرمی پور، س. و سفیدکن، ف. ۱۳۹۰. اثرات دورکنندگی و دوام اسانس *E. salmonophloia* و *Eucalyptus kingsmillii* روی کنه تارتن دولکه ای *Tetranychus urticae*. فصلنامه تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. مقاله زیر چاپ.
- خانجانی، م. ۱۳۸۳. آفات گیاهان زراعی ایران. انتشارات دانشگاه بوعلی سینا، ۷۱۹ ص.
- خانجانی، م. ۱۳۸۵. آفات سبزی و صیفی ایران. انتشارات دانشگاه بوعلی سینا، چاپ دوم، ۴۸۶ ص.

۷. شاکرمی، ج. ۱۳۸۳. بررسی اثرات حشره کشی اسانس ها، آلکالوئیدهای استروئیدی و ایندولی چهار گونه گیاه روی برخی از حشرات و شناسایی ترکیب شیمیایی آنها. رساله دکتری حشره شناسی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس، ۱۳۶ص.

۸. مدرس اول، م. ۱۳۸۰. فهرست آفات کشاورزی ایران و دشمنان طبیعی آنها. چاپ دانشگاه فردوسی مشهد، ۴۲۹ص.

9. Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-276.
10. Chiasson, H., Belanger, A., Bostanian, N., Vincent, C., and Poliquini, A. 2001. Acaricidal properties of *Artemisia absinthium* and *Tanacetum vulgare* (Asteraceae) essential oils obtained by three methods of extraction. *Journal of Economic Entomology*, 94: 167-171.
11. Choi, W., Lee, S., Prak, H., and Ahn, Y. 2004. Toxicity of plant essential oils to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). *Journal of Economic Entomology*, 97: 553-558.
12. Keita, S.M.C., Vincent, J., Schmit, J., Arnason, T., and Belanger, A. 2001. Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *O. gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 33: 339-349.
13. Mansour, F.A., Rvid, U., and Putievsky, E. 1986. Studies of the effects of essential oils isolated from 14 species of Labiatae on the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus*. *Phytoparasitica*, 14: 137-142.
14. Mansour, F., Azizeh, H., Saad, B., Tadmor, Y., Abo-moch, F., and Said, O. 2004. The potential of Middle Eastern flora as a source of new safe bio-acaricides to control *Tetranychus cinnabarinus*, the carmine spider mite. *Phytoparasitica*, 32(1): 66-72.
15. Matsumura, F. 1985. *Toxicology of insecticides*. Plenum press, 598p.
16. Miresmailli, S., and Isman, M.B. 2006. Efficacy and persistence of rosemary oil as an acaricide against two spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*, 99(6): 2015-2023.
17. Miresmailli, S., Bradbuty, R., and Isman, M.B. 2006. Comparative toxicity of *Rosemarinus officinalis* L. essential oil and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on two different host plants. *Pest Management Science*, 62: 366-371.
18. Moretti, M.D.L., Peana, A.T., Franceschini, A. and Carta, C. 1998. In vivo activity of *Salvia officinalis* oil against *Botrytis cinerea*. *Journal of Essential Oil Research*, 10: 157-160.
19. Negahban, M., and Moharramipour, S. 2007. Fumigant toxicity of *Eucalyptus intertexta*, *Eucalyptus sargentii* and *Eucalyptus camadulensis* against stored-product beetles. *Journal of Applied Entomology*, 131(4): 256-261.

20. Negahban, M., Moharramipour, S., and Sefidkon, F. 2007. Fumigant toxicity of essential oil from *Artemisia sieberi* Besser against three stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, 43: 123-128.
21. Nicholas, C.I., Parrella, M.P., and Alteri, M.A. 1998. Advances and perspectives in the biological control of greenhouse pests with special reference to Colombia. *Integrated Pest Management Review*, 3: 66-109.
22. Papachristos, D.P., and Stampoulus, D.C. 2004. Fumigant toxicity of three essential oils on the eggs of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 40: 517-525.
23. Papachristos, D.P., and Stampoulus, D.C. 2002. Toxicity of vapors of three essential oils to the immature stages of *Acanthoscelides obtectus* (say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 38: 365-373.
24. Pontes, W.J.T., Oliviera, J.C.G., Camara, C.A.G., Lopes, A.C.H.R., Condim Junior, M.G.C., Oliviera, J.V., Barros, R., and Schwartz, M.O. E. 2007a. Chemical composition and acaricidal activity of the leaf and fruit essential oils of *Protium heptaphyllum* (Aubl.) Marchand (Burseraceae). *Acta Amazonica*, 37(1): 103-110.
25. Pontes, W.J.T., Oliviera, J.C.S., Camara, C.A.G., and Lopes, A.C.H.R. 2007b. Composition and acaricidal activity of the Resin's Essential oil of *Protium bahianum* Daly against two spotted spider mite (*Tetranychus urticae*). *Journal of Essential Oil Research*, 19: 379-383.
26. Raja, N., Albert, S., Ignacimuthu, S., and Dorn, S. 2001. Effect of plant volatile oils in protecting stored cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walpers against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) infestation. *Journal of Stored Products Research*, 37: 127-132.
27. SAS Institute. 2002. SAS software version 6.12. SAS Institue, Cary, NC.
28. Sefidkon, F., Assareh, M.H., Abravesh, Z, and Mirza, M. 2006. Chemical composition of the essential oils of five cultivated Eucalyptus species in Iran: *E. intertexta*, *E. platypus*, *E. leucoxylon*, *E. sargentii* and *E. camadulensis*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 9 (3): 245-250.
29. Tamas, K.T. 1990. Study on the production possibilities of botanical pesticides in developing African countries. Unido Press, 98 p.
30. Tunc, I., and Sahinkaya, S. 1998. Sensitivity of two greenhouse pests to vapors of essential oils. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 86: 187-193.
31. Tunc, I., Berger, B.M., Erler, F., and Dagli, F. 2000. Ovicidal activity of essential oils from plants against two stored - product insects. *Journal of Stored Products Research*, 36: 161-168.