

بررسی اثرات کشندگی و دورکنندگی اسانس برگ بو، *Laurus nobilis* و اکالیپتوس، *Eucalyptus camaldulensis*
روی شته ی مومی کلم، *Brevicoryne brassicae*

سیده بنت الهدی حسینی امین^۱، شهرام شاهرخی^۲، فرامرز علی نیا^۱، محمود خسروشاهلی^۱

۱- دانشکده ی کشاورزی، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تهران، تهران، ایران

۲- موسسه ی تحقیقات گیاه پزشکی کشور، بخش تحقیقات کنترل بیولوژیک، تهران، ایران

مسئول مکاتبات: سیده بنت الهدی حسینی امین، amin_hoda@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۰/۲۰

۱-۱۱ (۱)

تاریخ دریافت: ۹۱/۲/۹

چکیده

شته ی مومی کلم (*Brevicoryne brassicae*) از آفات مهم گیاهان خانواده ی چلیپاییان از جمله انواع کلم و کلزا می باشد. در این تحقیق، به منظور بررسی میزان تاثیر اسانس های گیاهی در کنترل این شته، اثر اسانس برگ بو و گیاه دارویی اکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulensis*) و برگ بو (*Laurus nobilis*) روی فرم بی بال حشرات کامل شته ی مذکور مورد مطالعه قرار گرفت. برای تعیین LC₅₀، از غلظت های کشنده ۸۰-۲۰ درصد اسانس ها به روش قطره گذاری استفاده شد. برای این منظور، آزمایش زیست سنجی در پنج تکرار در شرایط دمایی ۲۵±۱ درجه ی سلسیوس، رطوبت نسبی ۶۰±۵ درصد و دوره ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شد. در هر تکرار تعداد ۱۰ حشره ی کامل شته ی مومی کلم روی یک دیسک برگ ی کلم درون پتری دیش قرار داده شد. نتایج به دست آمده، اثر تماسی اسانس هر دو گیاه را روی حشرات کامل شته ی مومی کلم نشان داد. مقدار LC₅₀ جمعیت شته، برای اسانس های برگ بو و اکالیپتوس به ترتیب ۱۱۵۶۳ و ۱۶۸۳۵ پی پی ام به دست آمد که تاثیر بیشتر اسانس برگ بو را نسبت به اسانس اکالیپتوس نشان داد. اسانس این دو گیاه باعث کاهش باروری و طول عمر حشرات کامل شته ی مومی کلم نسبت به تیمار شاهد شدند. اسانس برگ بو در مقایسه با اسانس اکالیپتوس در کاهش صفات مذکور تاثیر بیشتری داشت. اسانس برگ بو، باروری و طول عمر حشرات کامل شته ی مومی کلم را به ترتیب ۴۵/۴۷ و ۳۲/۷۸ درصد نسبت به تیمار شاهد کاهش داد. همچنین بررسی میزان دورکنندگی اسانس برگ بو و اکالیپتوس با استفاده از دستگاه بویایی سنج نشان داد که با افزایش غلظت، درصد دورکنندگی اسانس هر دو گیاه مذکور روی شته ی مومی کلم افزایش یافت، ولی میزان دورکنندگی اسانس برگ بو بیشتر از اسانس اکالیپتوس بود. به طوری که میزان دورکنندگی اسانس برگ بو ۸۶/۶۷٪ و اسانس اکالیپتوس ۱۰٪ به دست آمد. استخراج اسانس دو گیاه دارویی برگ بو و اکالیپتوس به روش تقطیر با آب و شناسایی ترکیبات آن با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی-مس اسپکترومتری (GC-MS) نیز نشان داد که 1,8-cineole (یکی از ترکیبات دارای خاصیت حشره کشی) بیشترین درصد ترکیبات تشکیل دهنده ی اسانس هر دو گیاه دارویی را تشکیل داده، به طوری که ۲۵/۵۰ درصد از ترکیبات اسانس برگ بو و ۳۵/۱۴ درصد از ترکیبات اسانس اکالیپتوس را به خود اختصاص داد.

واژه های کلیدی: زیست سنجی، اسانس، قطره گذاری، LC₅₀، شته ی مومی کلم، گاز کروماتوگرافی-

مس اسپکترومتری

مقدمه

براین اساس استفاده از روش‌های ایمن و مطمئن برای کنترل آفت ضروری است.

از اسانس‌ها به‌طور سنتی برای حفاظت از دانه‌های انباری و بقولات و برای دفع حشرات خانگی استفاده شده است (Isman, 2000). علاوه بر این، نتایج تحقیقات اخیر در کشورهای مختلف نشان می‌دهد که اسانس‌های گیاهی فقط دفع‌کننده آفات نیستند، بلکه اثرات حشره‌کشی آن‌ها نیز به‌صورت تماسی و تدخینی روی برخی آفات مشاهده شده است، همچنین فعالیت قارچ‌کشی آن‌ها روی برخی پاتوژن‌های مهم گیاهی گزارش شده است (Isman, 2000). از طرفی روغن‌های فرار (اسانس‌های) گیاهی به‌دلیل فرار بودن و ماندگاری بسیار کوتاه‌مدت در محیط، به‌عنوان ترکیبات زیست‌سازگار مطرح هستند، بنابراین می‌توان اسانس‌های گیاهی را به‌عنوان یکی از بهترین جایگزین‌های حشره‌کش‌های شیمیایی معرفی کرد (Isman, 2000). اثر جلب‌کنندگی اسانس برخی گیاهان نیز برای کفشدوزک‌ها که از مهم‌ترین دشمنان طبیعی شته‌ها می‌باشند، به اثبات رسیده است (Abramson et al., 2006).

محققین مختلف اثر اسانس‌های گیاهی را روی آفات مختلف مورد بررسی قرار داده‌اند. Tunç & Sahinkaya (1998) سمیت تدخینی اسانس زیره سبز^۱، آنیسون^۲، پونه‌ی کوهی^۳ و اکالیپتوس را روی شته‌ی جالیز (*Aphis gossipii*) ثابت کردند. همچنین Digilio et al. (2008) سمیت تنفسی اسانس‌های گیاهی استخراج شده از ۱۲ گیاه مدیترانه‌ای را روی شته‌ی نخود (*Acyrtosiphon pisum*) و شته‌ی سبزی هلو (*Myzus persicae* Sulzer.) نشان داده‌اند. Isik & Gorur (2009) اثر شته‌کشی اسانس هفت‌گونه گیاهی شامل یید (*Juniperus excels* M. Bieb.)، رازیانه (*Foeniculum vulgare* L.)،

در میان حشرات، شته‌ها به‌عنوان یکی از آفات مهم محصولات کشاورزی در سراسر جهان مطرح هستند و به‌دلیل مقاوم شدن به‌بسیاری از سموم شیمیایی، تاکنون از استراتژی‌های کنترلی شدیدی علیه آن‌ها استفاده شده است (Ruberson, 1999). شته‌ی مومی کلم که موضوع تحقیق حاضر می‌باشد و به شته‌ی کلزا نیز معروف است، به‌عنوان یکی از آفات مهم چلیپاییان، Crussiferae، در ایران و جهان شناخته شده است. این شته در تمام نواحی ایران، به‌ویژه مناطق شمالی و مرکزی انتشار دارد و از روی انواع کلم، کلزا، شلغم، تربچه و چلیپاییان وحشی گزارش شده است (Farahbakhsh, 1961).

شته‌ی مومی کلم (*Brevicoryne brassicae* L.) با حمله به برگ، ساقه و گل‌های گیاه میزبان باعث کاهش محصول یا از بین رفتن گیاه می‌شود. از طرفی عسلک ناشی از فعالیت این شته، باعث رشد قارچ‌های فوماژین و کاهش فتوسنتز و در نتیجه کاهش کیفیت محصول می‌شود (Behdad, 2002 & Khanjani, 2004). این شته در صورت مساعد بودن شرایط آب و هوایی، ۲۰-۱۵ نسل در سال تولید می‌کند و باعث ایجاد خسارت مستقیم از طریق تغذیه از شیره گیاهی و خسارت غیرمستقیم از طریق انتقال ویروس‌های گیاهی مختلف می‌شود (Behdad, 2002 & Monfared, 2003).

از آنجا که در سال‌های اخیر برای کاهش وابستگی شدید کشور به روغن خوراکی وارداتی، توسعه کشت گیاهان روغنی از جمله کلزا در اولویت سیاست‌های وزارت جهاد کشاورزی قرار گرفته، لذا مبارزه با آفت مذکور به‌عنوان آفت مهم کلزا ضروری به‌نظر می‌رسد. هم‌اکنون برای از بین بردن این آفت، انواع حشره‌کش‌های شیمیایی در مزارع مورد استفاده قرار می‌گیرد. با توجه به این که این ترکیبات مشکلات بهداشتی و زیست‌محیطی زیادی را ایجاد می‌کنند،

^۱ Cumin

^۲ Anise

^۳ Oregano

گلدان‌ها به داخل گلخانه منتقل شده و شته‌ها روی برگ گیاهان سالم قرار داده شدند. شته‌ها با استفاده از کتاب کلید شناسایی شته‌های ایران (Rezvani, 2001) شناسایی شدند. شته‌های جمع‌آوری شده پس از پوره‌زایی به منظور جلوگیری از آلودگی احتمالی کلنی شته به پارازیتوئیدها، حذف شده و پوره‌های گذاشته شده برای تشکیل کلنی شته استفاده شدند.

به منظور به دست آوردن حشرات کامل هم‌سن شته برای انجام آزمایشات زیست‌سنجی، از روش دیسک برگی (Sengonca & Gerlach, 1983) در شرایط دمای 25 ± 1 درجه‌ی سلسیوس و رطوبت نسبی 60 ± 5 درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی استفاده شد. برای این منظور تعدادی از حشرات کامل شته از گلدان‌های آلوده با قلم‌مو برداشته شدند و به دیسک‌های برگ کلم که در پتری‌دیش‌هایی به قطر ۹ سانتی‌متر قرار داشتند، منتقل شدند. درون پتری‌دیش‌ها یک لایه پنبه‌ی خیس، برای حفظ رطوبت قرار داده شد، روی پنبه یک کاغذ صافی و روی آن یک دیسک برگی قرار داشت که در ناحیه‌ی آوند آن یک تکه پنبه‌ی خیس قرار می‌گرفت. روی هر دیسک برگی حدود ۲۰-۱۰ حشره کامل شته قرار داده شد. در وسط درب پتری‌ها برای تهویه، توری تعبیه شده بود. یک روز بعد، حشرات کامل شته پس از پوره‌زایی از روی دیسک‌های برگی برداشته شدند و به پوره‌های هم‌سن موجود روی دیسک‌های برگ اجازه داده شد، در شرایط یکسان رشد کنند. پس از ۷-۸ روز، پوره‌ها به حشرات کامل تبدیل شده و آزمایشات زیست‌سنجی روی حشرات کامل ۱-۲ روزه انجام شد.

آزمایشات زیست‌سنجی

در این آزمایشات، سمیت تماسی با استفاده از روش قطره‌گذاری (Topical application)، مورد بررسی قرار گرفت و برای تهیه غلظت‌های مختلف اسانس، از محلول ۱٪ توئین ۸۰ (Tween 80) در آب استفاده شد (Lima et al., 1993).

(Miller.)، آنیس (*Pimpinella anisum* L.)، رزماری (*Juglans regia* L.)، *Rosmarinus officinalis* L.) و برگ‌بو (*Laurus nobilis* L.) را روی شته‌ی مومی کلم گزارش کرده‌اند.

با توجه به این‌که در ایران اطلاعات چندانی در رابطه با اثر کشندگی و دورکنندگی اسانس برگ‌بو و اکالیپتوس روی شته‌ی مومی کلم وجود ندارد، لذا این تحقیق با هدف بررسی تاثیر اسانس برگ‌بو و اکالیپتوس روی فرم بی‌بال شته‌ی مومی کلم انجام شد.

مواد و روش‌های پژوهش

جمع‌آوری گیاهان و تهیه اسانس

برگ‌های گیاه برگ‌بو از باغ گیاهان موسسه‌ی تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور و برگ اکالیپتوس از فضای سبز شهری منطقه‌ی ۱۶ تهران در مرداد ماه ۱۳۸۹ جمع‌آوری و در شرایط سایه و دمای اتاق و با تهویه‌ی مناسب خشک شدند. برای تهیه‌ی اسانس، هر بار ۸۰ گرم از برگ‌های خشک و خرد شده، همراه با ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر با کمک دستگاه Clevenger در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۳ ساعت اسانس‌گیری شد. اسانس جمع‌آوری شده با کمک سولفات سدیم آب‌گیری شد و تا زمان استفاده در ظروف تیره‌ی شیشه‌ای دربسته در دمای ۴ درجه‌ی سلسیوس نگهداری شد.

پرورش گیاه میزبان آفت

بذر کلم *Brassica oleracea* L. ابتدا در کوکویت کاشته شد و سپس نشاء چهار برگی (حدود ۲-۳ هفته پس از کاشت بذر) به گلدان‌های پلاستیکی حاوی خاک سبک باغچه منتقل شد. گلدان‌ها هر دو روز یک‌بار آبیاری شدند.

جمع‌آوری شته‌ی مومی کلم

برای جمع‌آوری شته‌ی مومی کلم، در خرداد ماه سال ۱۳۸۹ چند گلدان حاوی بوته‌های گل کلم به عنوان گیاه تله در فضای باز خارج از گلخانه قرار داده شد. پس از جلب شدن شته‌های مومی به برگ‌های کلم،

استفاده شد. همچنین برای نرمال‌سازی داده‌ها از تبدیل آن‌ها به $\sqrt{(x+10)}$ استفاده شد. رسم نمودارها با نرم افزار Microsoft Excel 2003 انجام شد.

اثر دورکنندگی اسانس‌ها

جهت بررسی میزان دورکنندگی اسانس برگ بو و اکالیپتوس، از دستگاه بویایی سنج (Olfactometer) مدل RZR استفاده شد، (Rafiei Karahroodi *et al.*, 2008). این دستگاه به صورت لوله‌ی Y شکل می‌باشد که در یک طرف، حشره‌ی کامل و در دو بازوی مجاور آن میزبان‌های گیاهی سالم (بدون اسانس) و آغشته به اسانس قرار داده می‌شوند. برای انجام آزمایش، دستگاه بویایی سنج حدود ۱۵ دقیقه قبل از شروع آزمایش روشن شد تا هوا پس از عبور از ذغال فعال و تصفیه شدن، وارد دستگاه بویایی سنج شود. از یک تکه برگ تازه کلم به ابعاد 3×3 سانتی‌متر به عنوان منبع غذایی استفاده شد. به منظور یافتن حداقل ۵۰٪ دورکنندگی، ابتدا میزان دورکنندگی غلظت LC_{50} هر دو اسانس مورد آزمایش قرار گرفت و سپس بر حسب نتیجه‌ی به دست آمده، غلظت‌های دیگر هر یک از اسانس‌ها انتخاب و مورد آزمایش قرار گرفت.

برای آلوده‌سازی میزبان گیاهی شسته به اسانس، برگ کلم پس از غوطه‌ور شدن در امولسیون تهیه شده با غلظت‌های انتخاب شده‌ی اسانس، در بازوی مخصوص خود قرار داده شد. همچنین در بازوی شاهد، برگ کلم آغشته به توئین ۸۰ و آب، به نسبت ۱٪ قرار داده شد. حشرات مورد آزمایش به مدت ۲۴ ساعت گرسنه نگه داشته شدند و رهاسازی حشرات کامل شسته‌ی مومی کلم به صورت انفرادی و در ۳۰ تکرار صورت گرفت و پس از ۱۰ دقیقه وضعیت استقرار هر حشره ثبت شد. درصد دورکنندگی اسانس طبق فرمول زیر محاسبه شد (Liu *et al.*, 2006).

$$R = \frac{C - E}{T} \times 100$$

به منظور به دست آوردن میزان LC_{50} اسانس برگ بو و اکالیپتوس، پس از انجام آزمایشات مقدماتی با استفاده از غلظت‌های مختلف، اثر غلظت‌های کشنده‌ی حدود ۸۰-۲۰ درصد اسانس‌ها روی حشرات کامل بی‌بال شسته‌ی مومی کلم مورد بررسی قرار گرفت. بدین ترتیب غلظت‌های ۲۰۰۰، ۴۰۰۰، ۶۰۰۰، ۸۰۰۰، ۱۰۰۰۰، ۱۲۰۰۰، ۱۴۰۰۰، ۱۶۰۰۰، ۱۸۰۰۰ و ۲۰۰۰۰ پی‌پی‌ام اسانس برگ بو و غلظت‌های ۶۰۰۰، ۷۰۰۰، ۱۰۰۰۰، ۱۲۰۰۰، ۱۴۰۰۰، ۱۶۰۰۰، ۱۸۰۰۰، ۲۰۰۰۰، ۲۳۰۰۰، ۲۶۰۰۰، ۲۸۰۰۰ و ۳۰۰۰۰ پی‌پی‌ام اسانس اکالیپتوس مورد آزمایش قرار گرفت. در تیمار شاهد از محلول ۱٪ توئین در آب استفاده شد. اسانس‌ها قبل از استفاده، به خوبی با شیکر به هم زده می‌شد تا کاملاً یکنواخت شود. آزمایش در ۵ تکرار انجام شد و هر تکرار شامل یک دیسک برگ‌ی با ۱۰ حشره‌ی کامل شسته بود. در پشت شکم هر کدام از شته‌های کامل با سمپلر، یک قطره‌ی یک میکرولیتری از اسانس‌ها قرار داده شد. درصد تلفات شته در هر کدام از غلظت‌های مورد بررسی پس از ۳ ساعت، یادداشت شد. تخمین LC_{50} با استفاده از برنامه‌ی پروبیت از نرم افزار SAS (ver.6.12)، برای هر کدام از اسانس‌ها انجام شد.

اثر اسانس‌ها بر باروری و طول عمر شته

به منظور بررسی اثر اسانس‌ها روی باروری و طول عمر شته‌ی مومی کلم، شته‌های زنده مانده پس از تیمار با اسانس دو گیاه برگ بو و اکالیپتوس در غلظت LC_{50} ، روی دیسک‌های برگ کلم قرار داده شده و تعداد پوره‌های گذاشته شده توسط هر شته و تلفات به صورت روزانه تا زمان مرگ شته‌ها ثبت شد. بدین ترتیب میانگین باروری و طول عمر شته‌های تیمار شده با شاهد مقایسه شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به دست آمده به صورت طرح کاملاً تصادفی با استفاده از نرم افزار SAS (ver.6.12) انجام شد و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪

انجام شد. محاسبات کمی به روش نرمال کردن سطح طیف (غلظت هر ترکیب برابر است با سطح پیک مربوط به آن ترکیب تقسیم بر مجموع متناظر با ترکیبات دیگر) محاسبه شد.

نتایج

تخمین مقدار LC₅₀ اسانس‌ها روی جمعیت شته

با توجه به نتایج به‌دست آمده، LC₅₀ اسانس برگ اکالیپتوس روی حشرات کامل شته‌ی مومی کلم (۱۶۸۳۵ پی‌پی‌ام) بیشتر از LC₅₀ اسانس برگ‌بو (۱۱۵۶۳ پی‌پی‌ام) بود (جدول ۱) و با افزایش غلظت در هر اسانس، میزان مرگ و میر افزایش یافت. با توجه به دامنه‌ی غلظت کشنده‌ی LC₅₀ در اسانس‌های دو گیاه دارویی برگ‌بو و اکالیپتوس (جدول ۱)، مشاهده می‌شود که اسانس برگ‌بو سمیت تماسی بیشتری نسبت به اسانس اکالیپتوس داشت.

جدول ۱- مقادیر LC₅₀ محاسبه شده برای اسانس برگ گیاهان برگ‌بو، *Laurus nobilis* و اکالیپتوس، *Eucalyptus camaldulensis* روی حشرات کامل شته‌ی مومی کلم.

Table 1- LC₅₀ values for essential oils from *Laurus nobilis* and *Eucalyptus camaldulensis* Leaves on cabbage aphid adults.

Plant species	Number (Insect)	χ^2 (df)	P-Value	Slope±SE	Intercept ± SI	LC ₅₀ (Confidential limits)
<i>Laurus nobilis</i>	1000	16.12 (6)	0.01	1.48±0.15	-5.99±0.61	11563 (10002-13634)
<i>Eucalyptus camaldulensis</i>	800	19.38 (6)	0.05	2.18±0.24	-9.22±1.01	16835 (15268-18730)

اعداد داخل پرانتز بیانگر حدود اطمینان ۹۵ درصد پایین و بالا می‌باشند.

The letters in the parenthesis show lower and upper 95% confidence intervals.

تفاوت معنی‌داری با شاهد نداشت (شکل ۱)، به‌طوری که متوسط تعداد پوره‌ی گذاشته شده توسط هر حشره‌ی کامل ماده در شاهد، اکالیپتوس و برگ‌بو به ترتیب ۲۰/۶۵، ۱۴/۰۱ و ۱۱/۲۶ عدد به‌دست آمد.

غلظت LC₅₀ اسانس برگ‌بو، طول عمر حشرات کامل شته‌ی مومی کلم را به‌طور معنی‌داری کاهش داد، ولی اسانس اکالیپتوس از این نظر تفاوت

در این فرمول R درصد دورکنندگی، C تعداد حشرات در بازوی شاهد، E تعداد حشرات در بازوی تیمار و T تعداد کل حشرات مورد آزمایش می‌باشد. برای مقایسه‌ی میزان دورکنندگی دو اسانس مورد آزمایش با آزمون T-test از نرم افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۱۸ استفاده شد.

شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس‌ها

جهت شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس گیاهان مورد مطالعه، از دستگاه گاز کروماتوگرافی-مس اسپکترومتری GC/MS مدل HP-5973 مجهز به MS و ستون موئینه (غیرقطبی) HP-5MS (طول ۳۰m، قطر داخلی ۲۵۰nm و ضخامت فاز ساکن ۰/۲۵μm) موجود در آزمایشگاه شیمی مجتمع آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران استفاده شد. شناسایی طیف‌ها با کمک شاخص‌های بازداری آن‌ها و مقایسه با مقادیر شاخص‌های بازداری ترکیبات استاندارد که در منابع مختلف منتشر شده،

تأثیر اسانس‌ها بر باروری و طول عمر شته‌ی مومی کلم

نتایج آزمایشات انجام شده نشان داد که غلظت LC₅₀ اسانس به‌دست آمده از برگ درخت برگ‌بو، باروری شته را به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش داد. اسانس به‌دست آمده از برگ اکالیپتوس نیز باعث کاهش باروری شته‌ی مومی کلم شد، ولی

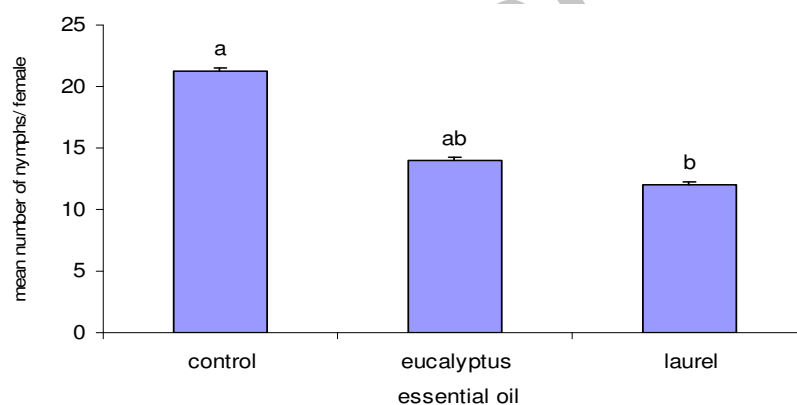
کدام از اسانس‌های مذکور، درصد دورکنندگی در شته‌ی مومی کلم افزایش می‌یابد.

طبق نتایج به‌دست آمده از آزمایش، اثر دورکنندگی اسانس برگ‌بو در غلظت LC_{50} ، $86/67$ درصد بود. برای به‌دست آوردن میزان دورکنندگی حدود ۵۰ درصد، غلظت‌های پایین‌تر این اسانس (دو غلظت LC_{40} و LC_{30})، مورد آزمایش قرار گرفت که میزان دورکنندگی آن‌ها به ترتیب برابر ۶۰ و ۵۰ درصد به‌دست آمد (شکل ۳). اثر دورکنندگی اسانس اکالیپتوس در غلظت LC_{50} برابر ۱۰ درصد بود که برای به‌دست آوردن میزان دورکنندگی حداقل ۵۰ درصد، دو غلظت LC_{75} و LC_{90} این اسانس مورد آزمایش قرار گرفت و دورکنندگی آن‌ها به ترتیب، ۲۰ و $53/33$ درصد بدست آمد (شکل ۴).

معنی‌داری با شاهد نداشت (شکل ۲). طول عمر حشرات کامل شته‌ی مومی کلم در شاهد، اکالیپتوس و برگ‌بو به‌طور متوسط، به ترتیب $15/59$ ، $12/59$ ، $10/48$ روز به‌دست آمد.

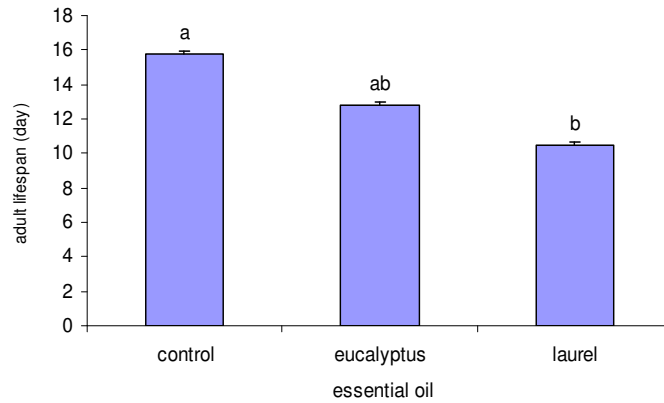
اثر دورکنندگی اسانس‌ها

غلظت LC_{50} اسانس دو گیاه دارویی برگ‌بو و اکالیپتوس به ترتیب $86/67$ و ۱۰ درصد روی شته‌ی مومی کلم دورکننده بودند (شکل‌های ۳ و ۴). نتایج آزمون T-test نشان داد که بین اسانس این دو گیاه از نظر دورکنندگی شته‌ی مومی کلم تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ وجود داشته و میزان دورکنندگی در اسانس برگ‌بو بیشتر از اسانس اکالیپتوس بود. آزمایشات انجام شده نشان داد که با افزایش غلظت هر



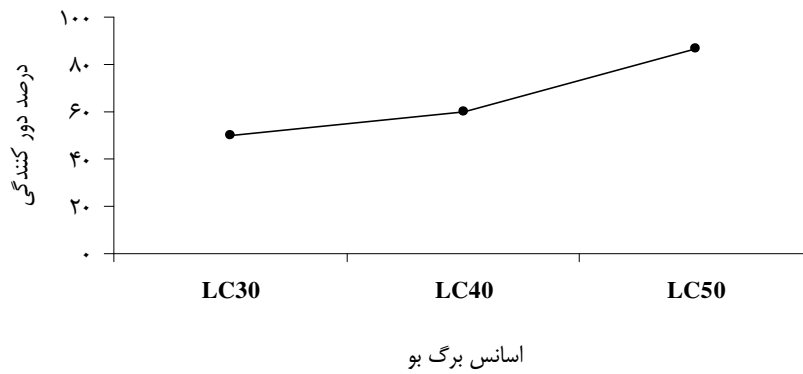
شکل ۱- میانگین تعداد پوره‌ی گذاشته شده توسط شته‌ی مومی کلم (*B. brassicae*) تیمار شده با غلظت LC_{50} اسانس‌های برگ‌بو (*L. nobilis*) و اکالیپتوس (*E. camaldulensis*) در مقایسه با شاهد

Fig.1- Mean number of nymphs per female for *B. brassicae* treated by LC_{50} of laurel (*L. nobilis*) and eucalyptus (*E. camaldulensis*) essential oils in comparison to the control.



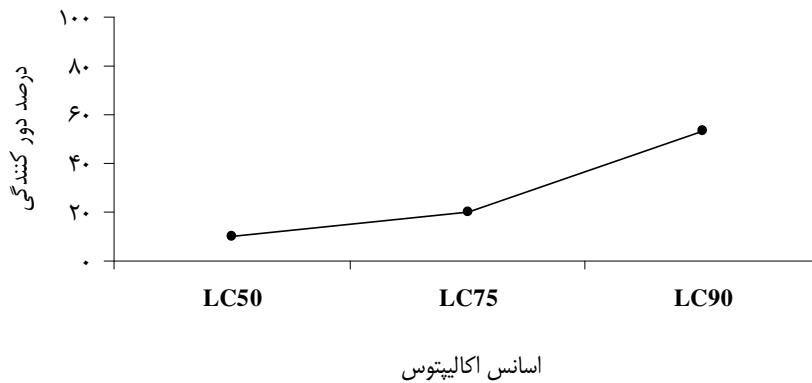
شکل ۲- میانگین طول عمر حشرات کامل شته‌ی مومی کلم تیمار شده با غلظت LC_{50} اسانس‌های برگ‌بو (*L. nobilis*) و اکالیپتوس (*E. camaldulensis*) در مقایسه با شاهد.

Fig. 2- Mean adult longevity for *B. brassicae* treated by LC_{50} of (*L. nobilis*) and (*E. camaldulensis*) essential oils in comparison to the control.



شکل ۳- درصد دورکنندگی اسانس برگ‌بو (*L. nobilis* L.) روی شته‌ی مومی کلم (*B. brassicae* L.).

Fig. 3- Repellency percentage of *L. nobilis* L. essential oil on *B. brassicae*.



شکل ۴- درصد دورکنندگی اسانس اکالیپتوس (*E. camaldulensis* Dehnh.) روی شته‌ی مومی کلم (*B. brassicae*)

Fig.4- Repellency percentage of *E. camaldulensis* Dehnh. essential oil on *B. brassicae*.

(2008) سمیت تنفسی اسانس اکالیپتوس گونه‌ی *E. globulus* Labill. راروی شته‌ی جالیز *A. gossipii* Glover. نشان داده و LC_{50} آن را ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام به دست آوردند که کمتر از LC_{50} تماسی اسانس گونه‌ی اکالیپتوس مورد بررسی در تحقیق حاضر روی شته‌ی مومی کلم (۱۶۸۳۵ پی‌پی‌ام) می‌باشد که علت این اختلاف مربوط به تفاوت در گونه‌ی گیاه دارویی، نوع شته و نیز تفاوت در روش زیست‌سنجی می‌باشد.

همچنین بررسی‌های *Mareggiani et al.*, (2008) نشان داد که 1,8-cineol ترکیب اصلی ایجاد کننده‌ی سمیت اسانس *E. globulus* می‌باشد. بر اساس آزمایشات انجام شده در تحقیق حاضر، 1,8-cineole بیشترین درصد ترکیبات موجود در اسانس برگ بو و اکالیپتوس (به ترتیب ۲۵/۵۰ و ۳۵/۱۴ درصد) را به خود اختصاص داده و به نظر می‌رسد نقش مهمی در سمیت اسانس این دو گیاه دارویی روی شته‌ی مومی کلم داشته باشد. *Bamoniri et al.*, (2009) نیز 1,8-cineol را به عنوان بیشترین ترکیب موجود در برگ گیاه دارویی *E. camaldulensis* واریته‌ی *obtusata* (۳۴/۸۷ درصد) معرفی کرده‌اند که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. همچنین *Kemal Sangun et al.*, (2006) ترکیب عمده‌ی اسانس برگ بو را 1,8-Cineole معرفی می‌کنند و میزان آن را در سه منطقه‌ی مختلف ۴۶/۶۱ تا ۵۹/۹۴ درصد بیان کرده‌اند.

طبق تحقیقات *Abramson et al.*, (2006) در رابطه با اثر تماسی اسانس دو گیاه دارویی *Citronella* و *Alfazema*، غلظت ۱۰۰۰۰ پی‌پی‌ام اسانس دو گیاه مذکور به ترتیب سبب حدود ۸۱٪ و ۹۵٪ تلفات در شته‌ی رازیانه (*Hyadaphis foeniculi*) شده و علاوه بر اکالیپتوس و برگ بو، اثر تماسی اسانس سایر گیاهان دارویی را روی شته‌ها نشان می‌دهد.

Isik & Görür (2009) تأثیر اسانس هفت گیاه دارویی را بر باروری شته‌ی مومی کلم بررسی نموده و به این نتیجه رسیدند که اسانس سه گیاه *Juniperus oxycedrus*، *excelsa* و برگ بو به ترتیب بیشترین تأثیر را در کاهش باروری شته داشتند، به طوری که

شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس برگ بو و اکالیپتوس

طبق نتایج به دست آمده از گاز کروماتوگرافی - مس اسپکترومتری، تعداد ۳۳ ترکیب شیمیایی در اسانس گیاه برگ بو شناسایی شد که ترکیبات 1,8-cineole، β -pinene، α -pinene، sabinene، methyl eugenol به ترتیب با ۲۵/۵۰، ۸/۲۵، ۷/۷۵، ۷/۱۶ و ۵/۰۲ درصد، بیش از ۵۰ درصد از حجم اسانس این گیاه را به خود اختصاص دادند.

در اسانس گیاه اکالیپتوس نیز تعداد ۲۴ ترکیب شیمیایی شناسایی شد که از آن جمله می‌توان 1,8-cineole، para- α -pinene، gamma-terpinen، cymen و α -pinene را نام برد که به ترتیب با ۳۵/۱۴، ۱۴/۴۴، ۱۱/۹۹ و ۷/۳۳ درصد، بیش از ۵۰ درصد از حجم اسانس این گیاه را به خود اختصاص دادند.

در مجموع با توجه به نتایج این تحقیق، اسانس دو گیاه دارویی اکالیپتوس گونه‌ی *E. camaldulensis* و برگ بو علاوه بر سمیت تماسی، برای شته‌ی مومی کلم، دورکننده بوده و به عنوان ترکیبات طبیعی امید بخش برای کنترل شته‌ی مومی کلم معرفی شدند. لذا پیشنهاد می‌شود امکان استفاده از اسانس گیاهان مورد مطالعه برای کنترل این شته در گلخانه و مزارع به عنوان جایگزین آفت کش‌های شیمیایی مورد بررسی قرار گیرد که در این میان به نظر می‌رسد استفاده از اسانس برگ بو، بیشتر از اسانس اکالیپتوس موفقیت آمیز باشد، زیرا اسانس این گیاه علاوه بر کشندگی بیشتر و کاهش معنی دار باروری و طول عمر شته‌ی مومی کلم، دورکنندگی بیشتری نیز داشته و میزان دورکنندگی LC_{30} آن تقریباً معادل دورکنندگی LC_{90} اسانس اکالیپتوس بود. همچنین بررسی اثر ماده‌ی 1,8-cineole روی شته‌ی مومی کلم در تحقیقات آتی می‌تواند منجر به سنتز این ماده‌ی طبیعی و استفاده از آن در کنترل شته در آینده شود.

بحث

نتایج به دست آمده، سمیت تماسی اسانس دو گیاه دارویی اکالیپتوس گونه‌ی *E. camaldulensis* و برگ بو را روی شته‌ی مومی کلم نشان داد. *Mareggiani et al.*

دیگر نشان دادند که غلظت زیرکشندگی $0.03\mu\text{l}/\text{cm}^3$ اسانس مریم‌گلی به ترتیب سبب ۳۸/۱۱، ۴۶/۴۲، ۴۱ و ۴۳/۷۰ درصد دورکنندگی روی حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات، شپشه‌ی آرد، شپشه‌ی برنج و شپشه‌ی گندم شد. در تحقیقات انجام شده توسط نگهبان و محرمی پور، ۱۳۸۵، نیز غلظت $4\mu\text{l}/\text{ml}$ اسانس گیاه *Artemisia sieberi* حدود ۷۷ درصد روی شپشه‌ی آرد دورکننده بود (Negahban & Moharramopour, 2006).

سپاسگزاری

بدین وسیله از آقای مهندس قلی‌بیگیان کارشناس آزمایشگاه زراعت، آقای مهندس استادی کارشناس آزمایشگاه حشره‌شناسی و آقای دکتر لاریجانی مسئول آزمایشگاه شیمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران به دلیل مساعدت در تهیه اسانس گیاهان دارویی مورد بررسی و انجام گاز کروماتوگرافی - مس اسپکتوفوتومتري سپاسگزاری می‌شود.

پوره‌زایی روزانه در شاهد حدود ۱۰ عدد بود که اسانس این سه گیاه آن را به حدود ۲ عدد و پایین‌تر کاهش دادند. طبق تحقیق حاضر نیز اسانس برگ بو باعث کاهش معنی‌دار باروری شته‌ی مومی کلم نسبت به شاهد شد، ولی اسانس اکالیپتوس چنین تأثیری را نشان نداد.

نتایج نشان داد که اسانس برگ بو دورکنندگی قابل ملاحظه‌ای روی شته‌ی مومی کلم داشته و بیشتر از اسانس اکالیپتوس دور کننده می‌باشد، به طوری که دورکنندگی LC_{30} آن تقریباً معادل دورکنندگی LC_{90} اسانس اکالیپتوس می‌باشد. سایر محققین نیز به دورکنندگی اسانس گیاهان دارویی اشاره کرده‌اند. برای مثال شاکرمی و همکاران، ۱۳۸۳، دورکنندگی اسانس گیاه درمنه‌ی کوهی (*Artemisia aucheri*) را روی چهار گونه آفت انباری بررسی کردند که میزان دورکنندگی در غلظت $0.03\mu\text{l}/\text{cm}^3$ را برای هر یک از حشرات سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات، شپشه‌ی آرد، شپشه‌ی برنج و شپشه‌ی گندم به ترتیب برابر ۴۱/۹۹، ۵۱/۴۵، ۴۷/۳۱ و ۴۶/۳۱ درصد بیان کرده‌اند (Shakarami et al., 2004). این محققین در تحقیقی

References

- Abramson, C. I., Wanderley, P. A., Wanderley, M. J. A., Mina, A. J. S. & de Souza, O. B. 2006. Effect of essential oil from Citronella and Alfazema on fennel aphid, *Hyadaphis foeniculi* Passerini (Hemiptera: Aphididae) and its predator, *Cycloneda sanguinea* L. (Coleoptera: Coccinellidae). American Journal of Environmental Sciences. 3(1): 9-10.
- Bamoniri, A., Mazoochi, A., Mirjalili, B. B. F., Mehrasa, M. & Batooli, H. 2009. Survey of the bioactive and fragrant constituents separated by nano scale injection of *Eucalyptus camaldulensis* Var. *obtusata* cultivated in Kashan area. Journal of Nanomaterials and Biostructures. 4(4): 603-606
- Behdad, E. 2002. Introductory entomology and important plant pests in Iran. Yadbood Publication. Isfahan. (In Persian).
- Digilio, M. C., Mancini, E., Voto, E. & De Feo, V. 2008. Insecticide activity of Mediterranean essential oils. Journal of Plant Interactions. 3(1): 17-23.
- Farahbakhsh, G. 1961. List of important plant pests and agricultural products in Iran. Iranian Plant Protection Organization Publication. No.1 (In Persian).
- Isik, M. & Görür, G. 2009. Aphidicidal activity of seven essential oils against the cabbage aphid, *Brevicoryne Brassicae* L. (Hemiptera: Aphididae). Munis Entomology and Zoology. 4(2): 424-431.

- Isman, M. B. 2000.** Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*. 19: 603-608.
- Khanjani, M. 2004.** Agricultural plant's pests in Iran. Bu Ali Sina University Publication. (In Persian). 719 pp.
- Lima, E. O., Gompertz, O. F., Giesbrecht, A. M. & Paulo, M. Q. 1993.** In vitro antifungal activity of essential oils obtained from officinal plants against dermatophytes. *Mycoses*. 36: 333-336.
- Mareggiani, G., Serafina, R. & Margarita, R. 2008.** *Eucalyptus globulus* (Mirtaceae) essential oil: efficacy against *Aphis gossypii* (Hemiptera: aphididae), an agricultural pest. *Revista Latino-americana de Química*. 36(1): 16-21.
- Monfared, A., Moharramipour, S. & Fathipour, Y. 2003.** An evaluation of resistance to cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae* L.) in rapeseed (*Brassica napus* L.) lines, hybrids and varieties under natural field infestation conditions. *Agricultural Sciences Journal*. 34 (4): 987-994 (In Persian with English Summary).
- Negahban, M. & Moharramipour, S. . 2006.** Repellent activity and persistence of essential oil from *Artemisia sieberi* Besser on three stored-product insect species. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*. 22(4): 293-302 (In Persian with English Summary).
- Rafiei Karahroodi, Z., Moharramipour, S., Rahbarpoor, A., Zahabi, P. & Salehi Marzigarani, M. 2008.** Presentation of an olfactometer model RZR to assess repellency of essential oils. Proceedings of 18th Iranian Plant Protection Congress, Vol. I, Pests, 24-27 August, Hamedan, Iran.
- Rezvani, A. 2001.** Key to the aphids (Homoptera: Aphidinea) in Iran. Ministry of Jihad Agriculture, Iran.
- Ruberson, J. R. 1999.** Handbook of pest management. Marcel Dekkar Inc, New York.
- Sengonca, C. & Gerlach, S. 1983.** A new developed method "leaf-island" for observation of thrips in the laboratory. *Turkiye Bitki Koruma Dergisi*. 7: 17 – 22.
- Shakarami, J., Kamali, K., Moharramipour, S. & Meshkatassadat M. H. 2004.** Effects of three plant essential oils on biological activity of *Callosobruchus maculatus* F. (Coleoptera: Bruchidae). *Iranian Agricultural Sciences Journal*. 35(4): 965- 972 (In Persian with English Summary).
- Tunc, I. & Sahinkaya, S. 1998.** Sensitivity of two greenhouse pests to vapors of essential oils. *Entomologia Experimentalis et Applicata*. 86: 183-187.

Insecticidal and repellent effects of essential oils from laurel, *Laurus nobilis* and eucalyptus, *Eucalyptus camaldulensis* against cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae*

Seyedeh Bentolhoda Hosseini amin¹, Shahram Shahrokhi², Faramarz Alinia², Mahmood Khosroshahli¹

1- Agriculture Faculty, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- Iranian Research Institute of Plant Protection, Biological Control Research Department, Tehran, Iran

Corresponding Author: Seyedeh Bentolhoda Hosseini amin , amin_hoda@yahoo.com

Received: Apr. 28, 2012

1 (1) 1-11

Accepted: Jan. 9, 2013

Abstract

Cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* is one of the major pests of Cruciferae plants, especially cabbages and canola. In order to investigate the effect of plant essential oils to control of cabbage aphid, the contact effect of essential oils of laurel, *Laurus nobilis* and eucalyptus, *Eucalyptus camaldulensis* leaves was evaluated on apterous morph adults of cabbage aphid. Bioassay experiments were carried out with essential oil concentrations causing 20-80% mortality to determine LC₅₀ by Topical application. The experiment was done in a Germinator with 25±1°C, 60±5% RH and photoperiod of 16:8 (L:D) at five replications and 10 aphid adults were placed on cabbage leaf disc in each Petri dish as one replication. According to the results, essential oils derived from the studied plants had contact effect on cabbage aphid. LC₅₀ of laurel and eucalyptus essential oils on cabbage aphid were estimated as high as 11563 and 16835 ppm, respectively, and so laurel essential oil was more effective than eucalyptus one. Results of the experiments conducted as completely randomized design with five replications also revealed that tested essential oils reduced the aphid's fecundity and longevity in comparison to the control, but laurel essential oil was more effective. Application of laurel essential oil caused up to 45.47% and 32.78% reduction in fecundity and longevity of cabbage aphid, respectively. Repellency activity of essential oils of laurel and eucalyptus was evaluated using an Olfactometer (model RZR). An increased repellency percentage was observed at higher concentration of the studied essential oils. Repellency of laurel's essential oil was more than that of eucalyptus, so that repellency percentage was 86.67% for laurel and 10% for eucalyptus essential oils in LC₅₀. Plant essential oils were extracted by Distillation method and their compounds were identified by GC-MS. Results showed that 1,8-cineole (a component with insecticidal effect) was the major component in *L. nobilis* (25.5%) and *E. camaldulensis* (35.14%) essential oils, respectively.

Key words: bioassay, essential oil, Topical application, LC₅₀, cabbage aphid, GC-MS.