

بررسی اثرات تخم‌کشی، لاروکنشی و بازدارندگی تخم‌ریزی اسانس گیاه آویشن باغی *Thymus vulgaris* L. (Lamiaceae) روی سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات *Callosobruchus maculatus* (F.) (Col., Bruchidae)

الهام دزفولی^{۱*}، سعید محرمی پور^۲، شیلا گل‌دسته^۳

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد حشره‌شناسی کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اراک

۲- دانشیار، گروه حشره‌شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران

۳- استادیار، گروه حشره‌شناسی دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اراک

چکیده

استفاده وسیع از حشره‌کش‌های سنتتیک سبب به وجود آمدن جمعیتی از حشرات مقاوم به این دسته از حشره‌کش‌ها و همچنین آلودگی‌های زیست‌محیطی گردیده است. به همین دلیل خاصیت حشره‌کشی اسانس‌های گیاهی علیه آفات انباری، در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است. اسانس‌ها دارای تاثیرات زیادی از قبیل سمیت تنفسی، دورکنندگی، بازدارندگی تخم‌ریزی و تغذیه، روی گونه‌های مختلفی از حشرات می‌باشند.

در این تحقیق اثرات اسانس گیاه آویشن باغی *Thymus vulgaris* L. روی آفت انباری سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات *Callosobruchus maculatus* F. در شرایط دمایی 27 ± 1 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد و در تاریکی، مورد بررسی قرار گرفت. اسانس به‌روش تقطیر با آب به‌دست آمد. اثرات تخم‌کشی و لاروکنشی این اسانس روی سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات مورد بررسی قرار گرفت، نتایج نشان داد که تخم‌های مسن نسبت به تخم‌های جوان حساسیت بیشتری به اسانس دارند، در حالی‌که لاروهای مسن نسبت به لاروهای جوان مقاومت بیشتری به اسانس دارند. مطالعه اثر بازدارندگی تخم‌ریزی اسانس نشان داد، در بالاترین غلظت ۱۵۰۰ ppm، بالاترین میزان بازدارندگی تخم‌ریزی سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات به‌طور معنی‌داری نسبت به اسانس ایجاد شد.

واژه‌های کلیدی: سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات، *Callosobruchus maculatus*، آویشن باغی، *Thymus vulgaris*، سمیت تنفسی، بازدارندگی تخم‌ریزی

* نویسنده رابط، پست الکترونیکی: elhamdezfouli@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله (۸۹/۲/۸) - تاریخ پذیرش مقاله (۸۹/۴/۲)

مقدمه

بیشترین رشد جمعیت در کشورهای در حال توسعه وجود دارد. انتظار می‌رود تا سال ۲۰۳۰ میزان نیاز جهانی به غذا، ۲ برابر و در کشورهای جهان سوم حدود ۲/۵ تا ۳ برابر افزایش یابد (Daily & Dasyupta, 1998). تهیه غذای کافی برای جمعیت در حال رشد یکی از عمده‌ترین مشکلات بشر است. غلات و حبوبات مهمترین و ارزان‌ترین منبع غذایی محسوب می‌شود. این محصولات پس از برداشت برای مدت طولانی انبار می‌شوند. طی این فرآیند کمیت و کیفیت محصولات انبار شده توسط حشرات، کنه‌ها، جونندگان، پرندگان و میکروارگانیسم‌ها کاهش می‌یابد که از این میان حشرات خسارت قابل توجهی وارد می‌کنند. جمعیت حشرات در انبارها به علت شرایط آب و هوایی مطلوب برای رشد و نمو به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد. خسارت آفات انباری در کشورهایی که هنوز تکنیک پیشرفته‌ای برای انبارداری محصولات وجود ندارد ۱۰ تا ۴۰ درصد برآورد شده است (Shaaya et al., 1997) و در سطح جهانی میزان این خسارت ۱۰ تا ۲۵ درصد تخمین زده شده است. در ایران هر ساله ۱۰ تا ۲۰ درصد از محصولات کشاورزی در انبارها از بین می‌روند، اگرچه در برخی از مناطق روستایی ایران به علت وجود انبارهای سنتی خسارت تا ۸۰ درصد می‌رسد (Matthews, 1993).

امروزه برای کنترل آفات انباری بیشتر از سموم شیمیایی گازی به‌ویژه فومیگانت‌ها (Fumigants) استفاده می‌شود که خطرات جبران‌ناپذیری برای انسان و محیط‌زیست دارد. این ترکیبات هنوز متداول‌ترین، موثرترین و با صرفه‌ترین راه کنترل آفات به‌شمار می‌آیند و تا به امروز جانشین مناسبی در جهان برای آن‌ها پیدا نشده است. حداقل ۱۶ ماده تدریجی-کننده ثبت شده است، ولی به دلیل مسایل مربوط به سلامت انسان، تنها دو ماده تدریجی مهم، متیل‌بروماید و فسفین، به مقدار زیاد برای کنترل آفات انباری مورد استفاده قرار می‌گیرد. متیل‌بروماید که روزی یکی از پرمصرف‌ترین سموم گازی به‌شمار می‌آمد و به سبب داشتن قدرت حشره‌کشی، کنه‌کشی، قارچ‌کشی، نماتدکشی، جونده‌کشی و میکروب‌کشی بالای خود، در طیف گسترده‌ای استفاده می‌شد، در کنفرانس جهانی مونترال در سال ۱۹۹۲ جزء ترکیبات و عوامل مخرب لایه اوزون گنجانیده شد و طبق برنامه‌ریزی نهمین تفاهم‌نامه ۱۹۹۷ برای حذف و از رده خارج کردن آن یک برنامه زمانی تنظیم و به همه کشورها توصیه نمود که برای آن جایگزین مناسبی انتخاب و اعلام کنند. به این ترتیب در کشورهای پیشرفته تا سال ۲۰۰۵ و در کشورهای در حال توسعه تا سال ۲۰۱۵، مصرف این گاز سمی باید متوقف شود (Haque et al., 2000). همچنین مقاومت آفات انباری نسبت به سم فسفین در ۴۵ کشور دنیا گزارش شده است (Shaaya et al., 1997). استفاده از سموم شیمیایی آفت‌کش معایب زیادی از جمله، اثرات سوء روی موجودات غیرهدف، مسمومیت برای انسان و دیگر پستانداران، بروز مقاومت در مقابل سموم مورد استفاده، آلودگی‌های زیست‌محیطی و غیره دارد (Talukder & Howes, 1995; Perry et al., 1998; Haque et al., 2000).

در راستای راه‌حلی برای جایگزینی سموم تدریجی، اسانس‌های گیاهی که از گیاهان معطر استخراج می‌شوند بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند (Shaaya et al., 1997). این اسانس‌ها در محیط‌زیست انباشته نشده و باعث آلودگی نمی‌گردند و گستره فعالیت‌شان وسیع می‌باشد. در نتیجه خطر ایجاد و توسعه نژادهای مقاوم را کاهش داده و ضمناً سمیت کمی برای پستانداران دارند. طبق آخرین اطلاعات موجود، ترکیبات گیاهی در مقایسه با حشره‌کش‌های متداول، اثر کمتر و هزینه بالاتری دارند، بنابراین با وجود نتایج امیدبخش حاصل، بازار هم‌چنان در دست تولیدکنندگان آفت‌کش‌های سنتتیک است. اسانس‌ها ترکیبات معطری هستند که در اندام‌های مختلف گیاهان یافت می‌شوند. وزن مخصوص آن‌ها از آب کمتر است

و در دمای عادی تبخیر می‌شوند، چون مایع بوده و دمای جوش پایین دارند، معمولاً در طبیعت زودتر تجزیه می‌شوند (Isman, 2000).

سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات (*C. maculatus* (F.) (Col., Bruchidae) در مزرعه و انبار به غلات آسیب می‌رساند. این آفت به میزان ۱۰۰ درصد به محصول خسارت وارد کرده و وزن محصول را به میزان ۶۰ درصد کاهش می‌دهد (Singh, 1997). این حشره، چندخوار بوده و لارو آن از دانه‌های بقولات مختلف، مانند لوبیا و وارپته‌های آن، نخود، ماش، عدس، باقلا و غیره تغذیه می‌کند. حشرات ماده اغلب دانه‌هایی را برای تخم‌ریزی انتخاب می‌کنند که لارو بتواند از آن‌ها تغذیه کند و اگر این انتخاب با دقت کافی انجام نشود، لارو جوان ضمن کندن دالان برای نفوذ به دانه در آغاز کار از بین می‌رود. لارو این آفت با سوراخ کردن بذور باعث کاهش بازارپسندی و قدرت جوانه‌زنی دانه‌های آسیب‌دیده می‌گردد. حشرات بالغ در انبارها رغبتی برای تغذیه نشان نمی‌دهند (Bagheri-Zenouz, 1997).

در راستای یافتن جایگزین مناسب برای متیل‌بروماید و سایر سموم سنتتیک در این تحقیق اثر اسانس آویشن روی سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات مطالعه می‌گردد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه مورد مطالعه

در اواسط بهار (اردیبهشت‌ماه سال ۱۳۷۸)، هم‌زمان با آغاز گل‌دهی، اندام‌های هوایی گیاه آویشن باغی *T. vulgaris* L. (Lamiaceae) از باغ گیاهان دارویی ابوعلی سینا واقع در استان همدان، جمع‌آوری گردید که شامل جوانه، برگ، گل و ساقه‌های نازک بود. سپس در شرایط سایه و با تهویه مناسب خشک گردید و درون پاکت‌های کاغذی، در فریزر در دمای ۲۴- درجه سلسیوس نگهداری شد.

پرورش حشرات

حشره مورد مطالعه در این آزمایش‌ها شامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات *C. maculatus* بود. پرورش سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات روی دانه‌های ماش در دمای 27 ± 1 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد و شرایط تاریکی در دستگاه ژرمیناتور BINDER مدل KBWF 240 صورت گرفت.

تهیه اسانس

جهت تهیه اسانس، شاخه‌های خشبی گیاهان خشک‌شده حذف گردید و مابقی خرد شدند. اسانس‌گیری به روش تقطیر با آب و با استفاده از دستگاه اسانس‌گیر شیشه‌ای Cleavenger (ساخته‌شده در واحد شیشه‌گری سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران) در دمای ۸۰ درجه سلسیوس صورت گرفت. در هر نوبت اسانس‌گیری، ۱۰۰ گرم گیاه خردشده همراه با ۱۲۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر داخل بالن قرار داده شد. زمان اسانس‌گیری برای هر نمونه ۴ ساعت بود. اسانس به‌دست آمده توسط سولفات سدیم آب‌گیری و تا زمان استفاده در میکروتیوپ‌هایی به حجم ۲ میلی‌لیتر که با فویل آلومینیومی پوشانده شده بودند، در یخچال و در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شد.

آزمایش‌های زیست‌سنجی سمیت تنفسی اسانس

بررسی اثر اسانس گیاه آویشن باغی روی تفریخ تخم‌های ۱ روزه و ۷ روزه سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات

در بررسی خاصیت تخم‌کشی اسانس آویشن باغی، ۵۰ جفت حشره نر و ماده ۱ تا ۳ روزه سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات در شرایط آزمایشگاه، روی ۱۵۰ گرم دانه‌های غیرآلوده ماش رهاسازی و اجازه داده شد به مدت یک روز تخم‌ریزی کنند. سپس حشرات کامل با کمک اسپیراتور جمع‌آوری و دانه‌های ماش حاوی یک عدد تخم جدا شدند. در صورت وجود تعداد بیشتری تخم روی هر دانه، در زیر استریومیکروسکوپ با کمک پنس ظریف تعداد آن به یک عدد کاهش داده شد. آزمایش روی تخم‌های ۱ و ۷ روزه گذاشته شده روی بذر انجام پذیرفت. برای این منظور تعداد ۱۰ دانه ماش که روی هر کدام یک عدد تخم موردنظر در آزمایش قرار داشت در هر ظرف شیشه‌ای به حجم ۲۷ میلی‌لیتر قرار داده شد. در این آزمایش تخم‌های ۱ و ۷ روزه، هر کدام به مدت ۲۴ ساعت در معرض اسانس قرار گرفتند. از اسانس آویشن باغی به کمک میکروپیپت مقادیر ۰/۳۷ تا ۷/۴۱ میکرولیتر بر لیتر هوا برای تخم ۱ روزه و ۷ روزه روی یک قطعه کاغذ صافی (Whatman 42) به قطر ۲ سانتی‌متر ریخته و جهت پخش یکنواخت اسانس، کاغذهای صافی داخل درپوش ظروف شیشه‌ای قرار داده شدند، سپس درب ظروف با نوار پارافیلیم مسدود و غیرقابل نفوذ گردید. پس از طی مدت زمان اسانس‌دهی، بلافاصله تخم‌های تیمار شده به ظروف تمیز و قابل تهویه منتقل شدند. پس از تفریخ کامل تخم‌ها در ظروف شاهد، با کمک استریومیکروسکوپ، تعداد تخم‌های تفریخ نشده در ظروف تیمار، شمارش گردید. ملاک تفریخ تخم، ورود لارو ۱ روزه به داخل بذر بود.

بررسی اثر اسانس گیاه آویشن باغی روی لاروهای ۱ روزه و ۱۴ روزه سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات

آزمایش روی لارو ۱ و ۱۴ روزه در حال رشد داخل بذر انجام گرفت. تعداد ۱۰ دانه ماش که هر کدام حاوی یک عدد لارو مورد نظر در آزمایش بود، در هر ظرف شیشه‌ای به حجم ۲۷ میلی‌لیتر قرار داده شد. در این آزمایش لاروهای ۱ و ۱۴ روزه، هر کدام به مدت ۲۴ ساعت در معرض اسانس قرار گرفتند. غلظت‌های ۳/۷۰ تا ۱۱/۱۱ میکرولیتر بر لیتر هوا برای لارو ۱ روزه و غلظت‌های ۳/۷۰ تا ۱۴/۸۱ میکرولیتر بر لیتر هوا برای لارو ۱۴ روزه به کار برده شد. پس از طی مدت زمان اسانس‌دهی، بلافاصله دانه‌های تیمار شده به ظروف تمیز و تهویه‌دار منتقل شدند. ۲۴ ساعت پس از پایان اسانس‌دهی، با شکافتن دانه‌ها در زیر استریومیکروسکوپ، تعداد لاروهای مرده در ظروف تیمار شمارش شدند. در تمام آزمایش‌ها برای به دست آوردن غلظت‌های مورد نظر از حلال استون استفاده شد. مقادیر LC_{50} با استفاده از نرم‌افزار SAS ver 9 و به روش Finney (1971) محاسبه شد.

بررسی اثر اسانس گیاه آویشن باغی روی بازدارندگی تخم‌ریزی حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای

مقدار ۵ گرم دانه ماش در هر ظرف شیشه‌ای به حجم ۲۷ میلی‌لیتر قرار داده شد، سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول‌های ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ پی‌پی‌ام به بذور اضافه شد. بذور با یک میله شیشه‌ای به خوبی هم‌زده شدند تا اسانس به خوبی در سطح بذور پخش شود. پس از گذشت مدت زمان ۲۰ دقیقه به منظور تبخیر حلال، با کمک اسپیراتور به هر ظرف دو جفت حشره کامل نر و ماده یک روزه سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات اضافه شد. تشخیص حشرات نر و ماده بر اساس روش باندارا و ساکسنا صورت پذیرفت (Bandara & Saxena, 1995). پس از ۵ روز، تعداد تخم‌های قرار داده شده

توسط حشرات مذکور روی بذور، با استفاده از استریومیکروسکوپ شمارش شد. درب ظروف در حین انجام آزمایش باز بوده و با توری پوشیده شده بود. در تمام آزمایش‌ها برای تهیه محلول‌های مورد نظر از حلال استون استفاده شد. درصد بازدارندگی تخم‌ریزی طبق فرمول زیر محاسبه گردید.

$$\% \text{Oviposition deterrence} = \left[1 - \left(\frac{NEt}{NEc} \right) \right] \times 100$$

NEt = تعداد تخم در تیمار، NEC = تعداد تخم در شاهد

نتایج

اثر اسانس گیاه آویشن باغی روی تفریح تخم‌های ۱ روزه و ۷ روزه سوسک چهارنقطه‌ای حیوانات

نتایج حاصل از اثر غلظت‌های مختلف اسانس بر میزان مرگ و میر تخم‌ها با سنن مختلف، نشان داد که با افزایش غلظت اسانس، میزان مرگ و میر در تخم‌های سنن مختلف، افزایش می‌یابد. همچنین با افزایش سن تخم‌ها، میزان حساسیت آن‌ها نسبت به اسانس، افزایش یافت. به طوری که مرگ و میر تخم‌های ۱ روزه و ۷ روزه به ترتیب در غلظت‌های ۱/۹۹ و ۱/۵۸ میکرولیتر بر لیتر هوا، به ۵۰٪ رسید. اگرچه اختلاف معنی‌داری بین LC₅₀ به دست آمده از تخم‌های ۱ روزه و ۷ روزه مشاهده نشد.

اسانس مذکور در غلظت‌های ۱۸/۹۵ و ۱۵/۲۱ میکرولیتر بر لیتر هوا، مرگ و میری معادل ۹۰٪ را برای تخم‌های ۱ روزه و ۷ روزه رقم زد، به طوری که بین LC₉₀ به دست آمده از تخم‌های ۱ روزه و ۷ روزه اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۱). بر اساس نتایج به دست آمده تخم‌های ۷ روزه با LC₅₀ ۱/۵۸ میکرولیتر بر لیتر هوا نسبت به تخم ۱ روزه با LC₅₀ به میزان ۱/۹۹ میکرولیتر بر لیتر هوا حساسیت بیشتری به اسانس داشت.

اثر اسانس گیاه آویشن باغی روی لاروهای ۱ روزه و ۱۴ روزه سوسک چهارنقطه‌ای حیوانات

نتایج حاصل از اثر غلظت‌های مختلف اسانس بر میزان مرگ و میر لاروها با سنن مختلف نشان داد که با افزایش غلظت اسانس، میزان مرگ و میر در لاروهای سنن مختلف، افزایش می‌یابد. همچنین با افزایش سن لاروی، میزان مقاومت آن‌ها نسبت به اسانس افزایش یافته و میزان حساسیت آن‌ها نسبت به اسانس کاهش یافته است. به طوری که مرگ و میر لاروهای ۱ روزه و ۱۴ روزه به ترتیب در غلظت‌های ۶/۱۴ و ۷/۲۹ میکرولیتر بر لیتر هوا به ۵۰٪ رسید. اگرچه اختلاف معنی‌داری بین LC₅₀ به دست آمده از لاروهای ۱ روزه و ۱۴ روزه مشاهده نشد.

اسانس مذکور به ترتیب در غلظت‌های ۱۲/۳۷ و ۱۵/۷۹ میکرولیتر بر لیتر هوا، مرگ و میر ۹۰٪ را برای لاروهای ۱ روزه و ۱۴ روزه سبب شد، به طوری که بین LC₉₀ به دست آمده از لاروهای ۱ روزه و ۱۴ روزه اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۲). بر اساس نتایج به دست آمده لاروهای یک روزه با LC₅₀ ۶/۱۴ میکرولیتر بر لیتر هوا نسبت به لاروهای ۱۴ روزه با LC₅₀ ۷/۲۹ میکرولیتر بر لیتر هوا حساسیت بیشتری به اسانس داشتند.

جدول ۱- مقادیر LC_{50} و LC_{90} آویشن باغی روی تخم‌های ۱ و ۷ روزه سوسک چهارنقطه‌ای حیوانات به‌روش Finney (1971)
 Table 1- Values of LC_{50} and LC_{90} of *T. vulgaris* essential oil on 1 day and 7 days old eggs of *C. maculatus* calculated by Finney's method (1971)

Egg Age	N	$LC_{90}(\mu L/L_{air})$ Confidency Limit 95%	$LC_{50}(\mu L/L_{air})$ Confidency Limit 95%	Slope±SE	Intercept±SE	$\chi^2(df)$	p-value
1 Day	180	18.95 (9.39-77.89)	1.99 (1.40-2.95)	1.31 ± 0.24	-0.39 ± 0.11	0.19(4)	0.996
7 Days	180	15.21 (7.84-57.32)	1.58 (1.09-2.27)	1.30 ± 0.24	-0.26 ± 0.11	0.08(4)	0.999

جدول ۲- مقادیر LC_{50} و LC_{90} آویشن باغی روی لارو ۱ و ۱۴ روزه سوسک چهارنقطه‌ای حیوانات به‌روش Finney (1971)
 Table 2- Values of LC_{50} and LC_{90} of *T. vulgaris* essential oil on 1 day and 14 days old larva of *C. maculatus* calculated by Finney's method (1971)

Larva Age	N	$LC_{90}(\mu L/L_{air})$ Confidency Limit 95%	$LC_{50}(\mu L/L_{air})$ Confidency Limit 95%	Slope±SE	Intercept± SE	$\chi^2(df)$	p-value
1 Day	180	12.37 (10.23-17.33)	6.14 (5.47-6.88)	4.21± 0.67	-3.32 ± 0.54	0.25(4)	0.993
14 Days	210	15.79 (12.92-21.96)	7.29 (6.50-8.22)	3.82 ± 0.53	-3.29 ± 0.46	4.23(5)	0.517

اثر بازدارندگی اسانس گیاه آویشن باغی از تخم‌ریزی حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای حیوانات داده‌های به‌دست آمده از اسانس آویشن باغی، از نظر خاصیت بازدارندگی تخم‌ریزی حشرات کامل در سطح ۵٪، نشان داد که با افزایش غلظت اسانس، میزان بازدارندگی تخم‌ریزی حشرات کامل افزایش می‌یابد. به‌طوری‌که در غلظت‌های ۲۵۰، ۵۰۰، ۷۵۰، ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ پی‌پی‌ام، میانگین درصد بازدارندگی تخم‌ریزی به‌ترتیب ۱۸/۳۳، ۳۰/۴۲، ۴۱/۲۵، ۵۹/۱۷، ۸۲/۵۰ درصد برآورد شد (جدول ۳).

از سوی دیگر با افزایش غلظت اسانس، میزان تخم‌ریزی حشرات کامل کاهش یافت. به‌طوری‌که در غلظت‌های مذکور، میانگین میزان تخم‌ریزی به‌ترتیب ۶۵/۳۳، ۵۵/۶۷، ۴۷، ۳۲/۶۷، ۱۴ درصد مشخص شد. که در مقابل کمترین میزان تخم‌ریزی در غلظت ۱۵۰۰ ppm رخ داد. این در حالی است که میانگین میزان تخم‌ریزی در شاهد ۸۰ درصد ثبت شد (جدول ۳). بنابراین اختلاف معنی‌داری بین میزان تخم‌ریزی حشرات کامل در ظروف تیمار شده با اسانس و ظروف عاری از اسانس نشان داده شد.

جدول ۳- تاثیر اسانس آویشن باغی بر میزان درصد بازدارندگی تخم‌ریزی و میزان تخم‌ریزی حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای حیوانات
 Table 3- Influence of *T. vulgaris* essential oil on Oviposition deterrency and Oviposition of *C. maculatus*

Concentration (ppm)	Mean of Oviposition ± SE	Mean of Oviposition deterrency ± SE
0	80.00±2.08 a	
250	65.33±5.36 ab	18.33±6.71 d
500	55.67±2.60 ab	30.42±3.25 cd
750	47.00±2.08 bc	41.25±2.60 bc
1000	32.67±3.18 c	59.17±3.97 b
1500	14.00±2.08 d	82.50±2.60 a

بحث

اثر اسانس گیاه آویشن باغی روی تفریح تخم‌های ۱ روزه و ۷ روزه سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، با افزایش سن تخم، حساسیت به اسانس افزایش یافت، به طوری که LC_{50} تخم ۷ روزه کمتر از LC_{50} تخم یک روزه بود. بر اساس تحقیقات تقی‌زاده، LC_{50} اسانس جاشیرکوتوله، روی تخم‌های ۱ و ۴ روزه سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات، به ترتیب ۱/۸۲ و ۱/۳۸ میکرولیتر بر لیتر هوا به دست آمده است که نشان می‌دهد با افزایش سن تخم، حساسیت تخم به اسانس افزایش می‌یابد (Taghizadeh, 2008) ولی گیاه مورد مطالعه در این تحقیق، در مورد خواص تخم‌کشی ضعیف‌تر از اسانس جاشیرکوتوله عمل کرده است.

طبق بررسی‌های اکرمی نیز با افزایش سن تخم شیشه‌آرد، میزان حساسیت تخم‌ها به اسانس افزایش می‌یابد (Akrami, 2009) که این نتایج، با نتایج به دست آمده توسط محققین دیگر مطابقت دارد (Papachristos & Stamopoulos, 2004). با توجه به تاثیر اسانس‌های گیاهی روی سیستم عصبی، می‌توان حساسیت بالای تخم‌های سنین بالا را به دلیل شکل‌گیری و تکامل سیستم عصبی دانست، در حالی که در تخم یک روزه سیستم عصبی هنوز تکامل نیافته است. از آنجا که محل اثر اسانس‌های گیاهی، سیستم عصبی حشرات می‌باشد، حساسیت تخم‌هایی با سنین بالاتر به سبب تکامل این سیستم، منطقی به نظر می‌رسد. نتایج حاصل از این تحقیق با نتایج برخی محققین مطابقت ندارد، به طوری که در نتایج این محققین، با افزایش سن تخم، میزان حساسیت آن‌ها به اسانس‌های گیاهی کاهش می‌یابد (Ho et al., 1996; Huang et al., 1997). (Keita et al., 2001). در تحقیقات عربی، LC_{50} تخم یک روزه آفات انباری برای گیاه *Cuminum cyminum* L. (Apiaceae) ۵/۳۵ برابر و در گیاه *Perovskia abrotanoides* Karel (Lamiaceae) ۳/۶ برابر کمتر از LC_{50} تخم ۶ روزه است (Arabi, 2008)، که نتایج به دست آمده در این تحقیق با نتایج این محقق مطابقت ندارد.

نقطه مشترک از نتایج به دست آمده از تحقیقات بسیاری از محققین حاکی از این مطلب است که، اثر تخم‌کشی اسانس‌های گیاهی با افزایش غلظت، افزایش پیدا کرده است و در مورد تخم‌های سنین مختلف، بیشترین مرگ و میر در بالاترین غلظت به کار رفته از اسانس‌ها، مشاهده شده است. به طوری که با افزایش غلظت اسانس، افزایش مرگ و میر در جمعیت تخم‌ها مشاهده می‌شود (Huang et al., 2000; Ketoh et al., 2005; Papachristos & Stamopoulos, 2002). (Tripathi et al., 2000; Tunc et al., 2000) در تحقیقی LC_{50} به دست آمده از اسانس *Artemisia scoparia* Waldst. & Kit. (Asteraceae) و *Artemisia sieberi* Besser (Asteraceae) برای تخم‌های یک روزه سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات به ترتیب ۱/۱۱ و ۱/۲۲ میکرولیتر بر لیتر هوا است (Negahban, 2006) که سمیت بیشتری نسبت به اسانس مورد مطالعه در این تحقیق دارند.

همچنین در تحقیق دیگری، اسانس *Carum copticum* (L.) (Apiaceae) با LC_{50} ۱/۰۱ میکرولیتر بر لیتر هوا، سمیت بیشتر و اسانس *Vitex pseudo-negundo* (Hauskn) (Verbenaceae) با LC_{50} ۲/۲۰ میکرولیتر بر لیتر هوا سمیت کمتری روی تخم‌های ۱ روزه سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات نسبت به اسانس مورد مطالعه در این تحقیق ایجاد کرده‌اند (Sahaf, 2007).

به طور کلی میزان مرگ و میر تخم، بستگی به سن تخم و غلظت‌های مختلف اسانس دارد و با افزایش غلظت اسانس، درصد مرگ و میر تخم‌ها افزایش می‌یابد (Keita et al., 2001; Raja et al., 2001).

اثر اسانس گیاه آویشن باغی روی لاروهای ۱ و ۱۴ روزه سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، با افزایش سن لاروی، مقاومت به اسانس افزایش یافت، به طوری که LC₅₀ لارو یک روزه کمتر از LC₅₀ لارو ۱۴ روزه بود. همچنین با افزایش غلظت اسانس، درصد مرگ و میر لاروها افزایش داشت، به طوری که لاروهای سنین مختلف، بیشترین میزان مرگ و میر را در بالاترین غلظت به کار رفته از اسانس نشان دادند. این نتایج با گزارشات محققین دیگر مطابقت دارد (Papachristos & Stamopoulos, 2004; Park *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2006). بر اساس تحقیقات عربی، LC₅₀ به دست آمده از اسانس *Cuminum cyminum* L. (Apiaceae) و *Perovskia abrotanoides* Karel (Lamiaceae) برای لارو یک روزه، ۵ برابر کمتر از لارو ۸ روزه است (Arabi, 2008). بر اساس گزارشات دیگر محققین نیز این مطلب تایید می‌شود (Huang *et al.*, 2000; Liu & Ho, 1999; Tripathi *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2006).

بررسی‌ها نشان می‌دهد اسانس گیاه *Alcea aucheri* (Boiss.) (Malvaceae) نسبت به اسانس مورد مطالعه در این تحقیق اثر سمیت کمتری روی لارو یک روزه سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات داشته است. LC₅₀ به دست آمده از این اسانس برابر ۴۲/۶۱ میکرولیتر بر لیتر هوا می‌باشد (Shakarami, 2005). در حالی که اسانس *Artemisia sieberi* با LC₅₀ ۱/۱۶ میکرولیتر بر لیتر هوا و *A. scoparia* با LC₅₀ ۱/۰۶ میکرولیتر بر لیتر هوا سمیت بیشتری روی لاروهای یک روزه سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات ایجاد کرده اند (Negahban, 2006). به طور کلی میزان مرگ و میر لارو، بستگی به سن لارو و غلظت‌های مختلف اسانس دارد.

اثر بازدارندگی اسانس گیاه آویشن باغی روی تخم‌ریزی حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات

نتایج حاصل از داده‌های به دست آمده نشان می‌دهد که بین غلظت‌های مختلف اسانس از نظر بازدارندگی روی تخم‌ریزی اختلاف معنی‌داری وجود دارد. در این آزمایش با افزایش غلظت اسانس، بازدارندگی تخم‌ریزی سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات افزایش یافت که محققین مختلفی نیز این موضوع را گزارش نموده‌اند (Keita *et al.*, 2000; Raja *et al.*, 2001; Ketoh *et al.*, 2002; Rajapakse & Van Emden, 1997). بازدارندگی تخم‌ریزی اسانس‌های *A. aucheri* (Lamiaceae) *Nepeta cataria* L. (Lamiaceae) *Salvia bracteata* Banks and Sol. (Lamiaceae) در غلظت ۳۷۰ میکرولیتر بر لیتر هوا به ترتیب ۱۰۰، ۹۶ و ۹۷ درصد به دست آمده است (Shakarami, 2005). این در حالی است که قدرت بازدارندگی اسانس آویشن که در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفته است کمتر از اسانس‌های فوق می‌باشد. بر اساس تحقیقات نگهبان، بازدارندگی تخم‌ریزی اسانس‌های *A. sieberi* و *A. scoparia* در غلظت ۰/۱۴ میکرولیتر بر هر گرم بذر، به دست آمده است نسبت به اسانس مورد مطالعه در این تحقیق قوی‌تر می‌باشد (Negahban, 2006). بر اساس تحقیقات صحاف، اسانس زنیان و هنده‌بید در غلظت ۰/۵ میکرولیتر بر هر گرم بذر، به ترتیب باعث ۱۰۰ و ۷۶/۲۳ درصد بازدارندگی تخم‌ریزی گردیده‌اند (Sahaf, 2007).

بر اساس تحقیقات عربی، اسانس *P. abrotanoides* و *C. cyminum* در بالاترین غلظت ۰/۵ میکرولیتر بر هر گرم بذر، به ترتیب باعث ۶۴/۸ و ۸۱/۱۶ درصد بازدارندگی تخم‌ریزی گردیدند (Arabi, 2008). اسانس‌های آویشن ایرانی و جاشیرکوتوله در غلظت ۷/۱۴ میکرولیتر بر میلی لیتر استون، به ترتیب ۷۵/۳۱ و ۸۹/۴۵ درصد بازدارندگی تخم‌ریزی ایجاد کرده‌اند (Taghizadeh, 2008). اسانس‌های آویشن کوهی و پونه در غلظت ۱۸۰۰ ppm به ترتیب ۸۶/۳۶ و ۸۷/۶۴ درصد، از تخم‌ریزی ممانعت به عمل آورده‌اند (Akrami, 2009). اختلافات بین اثرات اسانس‌های گیاهی روی بازدارندگی

تخم‌ریزی، در آزمایش‌های مختلفی که توسط محققین صورت گرفته است نیز تایید شده است (Papachristos & Stamopoulos, 2002; Regnault-Roger & Hamraoui, 1995; Xie *et al.*, 1995; Tripathi *et al.*, 2002). این پژوهش نشان می‌دهد که اسانس گیاه آویشن با سایر اسانس‌های گیاهی مطالعه‌شده، می‌تواند گزینه مناسبی برای مدیریت سوسک چهارنقطه ای حبوبات در انبار محسوب شود. اما با این وجود لازم است قدرت جذب و قدرت نفوذ اسانس در توده محصول انباری مورد بررسی قرار گیرد چه بسا اگر مقدار قابل‌توجهی از اسانس جذب محصول انباری شود قدرت نفوذ به‌داخل محصول و در نتیجه خاصیت حشره‌کشی اسانس کاهش و مقدار مصرف اسانس افزایش خواهد یافت. از طرفی باید صرفه اقتصادی استفاده از این اسانس در نظر گرفته شود. یکی دیگر از محدودیت‌های استفاده از اسانس ممکن است مربوط به بوی ناخواسته‌ای باشد که اسانس‌ها در محصولات انباری بر جای می‌گذارند، هر چند که این موضوع نیاز به تحقیق دارد ولی اسانس آویشن به‌خاطر دوام کم و بوی قابل تحمل آن به‌نظر نمی‌رسد که عامل محدودکننده به‌شمار رود. اما دوام کم اسانس می‌تواند در برنامه مدیریت تلفیقی آفات انباری مهم بوده و قابل تلفیق با برنامه کنترل بیولوژیک آفات انباری باشد.

References

- Akrami, H. 2009.** Insecticidal Effects of Essential oils from *Thymus kotschyanus* and *Mentha longifolia* on species of Stored Product Insect Pests, M. Sc. thesis, faculty of agriculture, Science and Research branch, Islamic Azad University, Tehran. [In Persian]
- Arabi, F. 2008.** Insecticidal effects of Essential oils from *Perovskia abrotanoides* Karel (Lamiaceae) and *Cuminum cyminum* L. (Apiaceae) on species of Stored Product Insect Pest, M. Sc. thesis, faculty of agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran. [In Persian]
- Bagheri-Zenouz, E. 1997.** Storage Pests and Their Control, Vol. 1. Sepehr Press, 309pp. [In Persian]
- Bandara, K. A. N. P. and Saxena, R. C. 1995.** A technique for handling and sexing *Callosobruchus maculatus* (F.) adults (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Stored Products Research, 31(1): 97-100.
- Daily, C. P. and Dasyupta, B. B. 1998.** Food production, population growth and environment. Science, 281: 1291-1292.
- Finney, D. J. 1971.** Probit Analysis 3rd Edition, Cambridge University, London, 333 pp.
- Haque, M. A., Nakakita, H., Ikenaga, H. and Sota, N. 2000.** Development inhibiting activity of some tropical plants against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Stored Products Research, 36: 281-287.
- Ho, S. H., Koh, L., Ma, Y., Huang, Y. and Sim, K. Y. 1996.** The oil of garlic, *Allium sativum* L. (Amaryllidaceae), as a Potential grain protectant against *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus oryzae* Motsch. Postharvest Biology and Technology, 9: 41-48.
- Huang, Y., Tan, J. M. W. L., Kini, R. M. and Ho, S. H. 1997.** Toxic and antifeedant action of nutmeg oil against *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus oryzae* Motsch. Journal of Stored Products Research, 33(4): 289-298.
- Huang, Y., Lam, S. L. and Ho, S. H. 2000.** Bioactivity of essential oil from *Elletaria cardamomum* (L.) Maton. To *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). Journal of Stored Products Research, 36(1): 107-117.

- Isman, M. B. 2000.** Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19: 603-608.
- Keita, S. M., Vincent, C., Schmit, J., Remaswamy, S. and Belanger, A. 2000.** Effect of various essential oil on *callosobruchus maculates* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 37: 355-364.
- Keita, S. M., Vincent, C., Schmit, J., Arnason, J. 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* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 37: 339-349.
- Ketoh, C. K., Glitoh, A. I. and Huignard, J. 2002.** Susceptibility of the bruchid *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Hymenoptera: Pteromalidae) to three essential oils. *Journal of Economic Entomology*, 95(1): 174-182.
- Ketoh, C. K., Koumaglo, H. K. and Glitho, I. A. 2005.** Inhibition of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) development with essential oil extracted from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. (Poaceae), and the wasp *Dinarmus basalis* (Rondani). (Hymenoptera: Pteromalidae). *Journal of Stored Products Research*, 41: 363-371.
- Liu, Z. I. and Ho, S. H. 1999.** Bioactivity of the essential oil extracted from *Evodia rulaecarpa* Hook against the grain storage insects, *Sitophilus zeamais* Motsch. and *Tribolium castaneum* Herbst. *Journal of Stored Products Research*, 35: 317-328.
- Matthews, G. A. 1993.** Insecticide application in stores. In: Matthews, G. A., Hislop, E. C. (Eds.), *Application Technology for Crop Protection*. CAB International, Wallingford, UK, pp: 305-315.
- Negahban, M. 2006.** Insecticidal Effects of Essential oils from *Artemisia sieberi* Besser and *Artemisia scoparia* Waldst et kit on species of Stored Product Insect Pest, M. Sc. thesis, faculty of agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran. [In Persian]
- Papachristos, D. P. and Stamopoulos, D. C. 2002.** Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthosclides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 38: 117-128.
- Prapachristos, D. P. and Stamopoulos, D. C. 2004.** Fumigant toxicity of three essential oils on the eggs of *Acanthosclides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 40: 517-525.
- Park, I. K., Lee, S. G., Choi, D. H., Park, J. D. and Ahn, Y. J. 2003.** Insecticidal activities of constituents identified in the essential oil from leaves of *Chamaecyparis obtuse* against *Callosobruchus chiensis* (L.) and *Sitophilus oryzae* (L.). *Journal of Stored Products Research*, 39(4): 375-384.
- Perry, A. S., Yamamoto, I., Ishhya, I. and Peryy, R. Y. 1998.** *Insecticides in Agriculture and Environment*. Springer, 261 pp.
- Raja, N., Albert, S., Ignacimuthu, S., and Dron, 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.

- Rajapakse, R. and Van Emden, F. 1997.** Potential of four vegetable oils and ten botanical powder for reducing infestation of cowpeas by *Callosobruchus maculatus*, *C. chinensis* and *C. rhodesianus*. Journal of Stored Products Research, 33: 59-68.
- Regnault-Roger, C. and Hamraoui, A. 1995.** Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say)(Coleoptera), a bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal of Stored Products Research, 31: 291-299.
- Sahaf, B. Z. 2007.** Insecticidal Effects of Essential oils from *Carum copticum* and *Vitex pseudo-negundo* on species of Stored Product Insect Pest, M.Sc. thesis, faculty of agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran. [In Persian]
- Shaaya, E., Kostjukovski, M., Eilberg, J. and Sukprakarn, C. 1997.** Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insect. Journal of Stored Products Research, 33(1): 7-15.
- Shakarami, J. 2005.** Study insecticidal effects of essential oils and steroidal and indole alkaloids of four plants on some insects and identification chemical component of them, Ph.D. thesis, faculty of agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran. [In Persian]
- Singh, S. R. 1997.** Cowpea cultivars resistant to insect pests in world germplasm collection. Trop. Grain Legume Bulletin, 9: 3-7.
- Taghizadeh, A. 2008.** Insecticidal Effects of essential oils from *Thymus persicus* and *Prangos acaulis* on species of stored product insect pest, M. Sc. thesis, faculty of agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran. [In Persian]
- Talukder, F. A. and Howes, P. E. 1995.** Evaluation of *Aphanamixis polystachya* as a source of repellents, antifeedants, toxicants and protectants in storage against *Tribolium castaneum* (Herbst). Journal of Stored Products Research, 31(1): 55-61.
- Tripathi, A., Prajapati, V., Aggarwal, K. K., Khanuja, S. P. S. and Kumar, S. 2000.** Repellency and toxicity of oil from *Artemisia annua* to certain stored-product beetles. Journal of Economic Entomology, 93(1): 43-47.
- Tripathi, A., Prajapati, V., Verma, N., Bahl, J. L., Bansla, R. P. and Khanuja, S. P. S. 2002.** Bioactivities of the leaf essential oil of *Curcuma longa* on three species of stored-product beetles (Coleoptera). Journal of Economic Entomology, 95(1): 183-189.
- Tunc, I., Berger, B. M., Erler, F. and Dagli, F. 2000.** Ovicidal activity of essential oils from five plants against two stored-product insects. Journal of Stored Products Research, 36: 161-168.
- Wang, J., Zhu, F., Zhou, X. M., Niu, C. Y. and Lei, C. L. 2006.** Repellent and fumigant activity of essential oil from *Artemisia vulgaris* to *Tribolium castaneum* (Herbst.) (Coleoptera: Tenebrionidae). Journal of Stored Products Research, 42: 339-347.
- Xie, Y. S., Fields, P. G., Isman, M. B., Chen, W. K. and Zhang, X. 1995.** Insecticidal activity of *Melia toosendan* extracts and Toosendanin against three stored-product insects. Journal of Stored Products Research, 31: 259-265.

Ovicidal, larvicidal and oviposition deterreny effects of essential oil from *Thymus vulgaris* L. (Lamiaceae) on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Col., Bruchidae)

E. Dezfouli^{1*}, S. Moharramipour², SH. Goldasteh³

1- Department of Entomology, Agriculture faculty, Islamic Azad University, Arak branch, Arak, Iran

2- Associate Professor, Department of Entomology, College of Agriculture, Tarbiat Modarres University, Tehran, Iran

3- Assisstant professor, Entomology Department, Agricultural faculty, Islamic Azad University, Arak, Iran

Abstract

Extensive uses of synthetic pesticides caused development of resistant strains of insects to pesticides and also environmental pollution. Therefore, the use of essential oils extracted from plants as pest control agents of stored product insects has been received much attention in recent years. Essential oils contain various effects such as toxicity, repellency, oviposition and feeding deterreny on different species of insects. In this research, effects of essential oil of *Thymus vulgaris* L. (Lamiaceae) were studied on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Col., Bruchidae) at $27\pm 1^\circ\text{C}$ and $65\pm 5\%$ RH in dark condition. The essential oil was obtained via hydro distillation. Ovicidal and larvicidal effects of the essential oil were investigated on *C. maculatus*. Results showed that old eggs were more sensitive than the young ones. However old larvae were less sensitive than the young ones. The highest oviposition deterreny of *C. maculatus* was observed at highest concentration of 1500 ppm.

Key words: *Callosobruchus maculatus*, *Thymus vulgaris*, fumigant toxicity, oviposition deterreny

* Corresponding Author, E-mail: elhamdezfooli@yahoo.com

Received: 28 Apr. 2010 – Accepted: 23 Jun. 2010