

سمیت تماسی گیاهان اسطوخودوس و آویشن شیرازی روی سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات (*Callosobruchus maculatus* (F.)) و شناسایی ترکیبات شیمیایی آنها

زهرا گلستانی کلات^۱، غلام‌حسین مروج^{۲*}

۱-دانشجوی کارشناسی ارشد حشره‌شناسی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد
۲- استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

چکیده

در چند دهه اخیر تحقیقات گسترده‌ای در مورد استفاده از ترکیبات گیاهی به‌ویژه اسانس‌های گیاهی به‌عنوان حشره‌کش صورت گرفته است. در تحقیق حاضر اثر سمیت تماسی اسانس گیاهان اسطوخودوس *Lavandula angustifolia* Mill و آویشن شیرازی *Zataria multiflora* Boiss روی حشرات کامل نر و ماده سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات (*Callosobruchus maculatus* (F.)) (Coleoptera: Bruchidae) در شرایط دمای $29 \pm 1^\circ\text{C}$ ، رطوبت نسبی $60 \pm 5\%$ و تاریکی مورد بررسی قرار گرفت. اسانس‌ها به‌روش تقطیر با آب استخراج شدند. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. در هر دو اسانس مورد مطالعه با افزایش غلظت اسانس درصد مرگ‌ومیر در هر دو جنس نر و ماده افزایش یافت. بر اساس نسبت‌های LC_{50} و حدود اطمینان ۹۵٪، تفاوت معنی‌داری بین حساسیت افراد نر و ماده وجود نداشت. مقادیر LC_{50} برای افراد نر معادل ۷۱۹ و ۵۹۸ میکرولیتر بر مترمربع و علیه افراد ماده معادل ۷۸۷ و ۷۳۷ میکرولیتر بر مترمربع به ترتیب برای اسانس‌های اسطوخودوس و آویشن شیرازی بود. هیچ‌یک از دو اسانس اثر نامطلوبی بر قوه نامیه بذور لوبیا چشم بلبلی نداشتند. نتایج حاصل از آنالیز شیمیایی اسانس‌ها توسط دستگاه GC-MS نشان داد که لینالول (۴۲/۸٪)، ۱، ۸-سینئول (۲۳/۴٪)، روزفوران اپوکساید (۱۴٪)، منتون (۶/۸٪)، ایزومنتول (۵/۲) و ترانس-دی هیدروکاروون (۴/۳٪) ترکیبات اصلی اسانس اسطوخودوس و تیمول (۵۵٪)، لینالول (۳۷/۸٪) و پارا-سیمین (۷/۲٪) ترکیبات اصلی اسانس آویشن شیرازی را تشکیل می‌دهند. بر اساس نتایج این بررسی، به‌نظر می‌رسد اسانس گیاهان اسطوخودوس و آویشن شیرازی می‌توانند جایگزین مناسبی برای آفت‌کش‌های متداول جهت حفاظت محصولات انباری علیه سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات باشند.

واژه‌های کلیدی: اسانس‌های گیاهی، اسطوخودوس، آویشن شیرازی، سمیت تماسی، قوه نامیه بذور

*نویسنده رابط، پست الکترونیکی: moravej@um.ac.ir

تاریخ دریافت مقاله (۹۰/۶/۵) - تاریخ پذیرش مقاله (۹۱/۵/۵)



مقدمه

لوبیا چشم بلبلی یکی از پنج نوع حبوبات مهم در مناطق گرمسیری و فراهم کننده بخشی از پروتئین مورد نیاز مردم این نواحی است (Duke, 1990). مهم‌ترین آفت انباری این محصول به‌ویژه در نواحی گرمسیری، سوسک چهارنقطه‌ای حیوبات *Callosobruchus maculatus* است (NRI, 1996). خسارت سالانه وارده توسط این آفت به لوبیا چشم بلبلی قابل توجه است. در هندوستان پس از ۴ ماه نگهداری لوبیا چشم بلبلی در انبار، ۶۲٪ آن بر اثر حمله سوسک‌های جنس *Callosobruchus* خسارت می‌بیند و وزن آن ۱۵٪ کاهش می‌یابد (Venkat Rao et al., 1960). انبار کردن لوبیا چشم بلبلی به مدت ۶ ماه با ۷۰٪ آلودگی بذور و ۳۰٪ کاهش وزن همراه بوده است (Singh & Jackai, 1985). در ایران نیز بخش مهمی از حبوبات بر اثر حمله این آفت از بین می‌رود. بر اساس گزارش باقری‌زنوز خسارت سوسک چهارنقطه‌ای حیوبات روی لوبیا چشم بلبلی به قدری شدید است که اغلب کشاورزان ایرانی از کشت این محصول روی گردان هستند (Bagheri zenooz, 1984). طبق گزارشات زمردی در انبارهای بازار تهران ۹۵٪ لوبیا چشم بلبلی به علت خسارت این آفت از بین می‌رود (Zomorodi, 1991).

برای حفاظت لوبیا چشم بلبلی از حمله سوسک چهارنقطه‌ای حیوبات، ترکیبات شیمیایی مختلفی مورد استفاده قرار می‌گیرد. اما استفاده مداوم و طولانی مدت از این مواد موجب بروز مشکلات جدی و روبه افزایشی از قبیل ایجاد مقاومت (Zettler & Cuperus, 1990; Zettler, 1991)، باقی مانده سم در محصولات و آلودگی‌های زیست‌محیطی شده است (Pimentel et al., 1980). با توجه به مشکلات فوق‌الذکر، در دو دهه گذشته تلاش‌های قابل توجهی در انتخاب گیاهان مناسب جهت تولید و معرفی حشره‌کش‌های گیاهی جدید انجام شده است. گزارش‌ها نشان می‌دهد که مخلوط کردن مواد انباری با پودر برگ، پوست، دانه یا اسانس برخی گیاهان دارویی و معطر باعث کاهش تخم‌ریزی آفات و ظهور کمتر حشرات کامل خانواده Bruchidae و نیز کاهش میزان خسارت می‌گردد (Talukder & Howse, 1994; Onu & Aliyu, 1995; Shaaya et al., 1997; Kéïta et al., 2001; Tapondjou et al., 2002).

خواص حشره‌کشی اسانس بسیاری از گیاهان خانواده نعناعیان به اثبات رسیده است. (Kéïta et al., 2000; Kéïta et al., 2006)

(al., 2001; Lee et al., 2001; Varma & Dubey, 2001; Papachristos & Stamopoulos, 2002; Al-Jabr, 2006)

اسطوخودوس با نام عمومی لاواندر^۱ از ریشه لاتین لاوار^۲ مشتق شده و به معنای تمیز کننده و شوینده است. به طوری که مردم اروپا در گذشته از این گیاه برای شستشوی خود استفاده می‌کردند. اسطوخودوس فرانسوی (اسطوخودوس حقیقی) از قرن سیزدهم نزد مردم اروپا شناخته شده بود و در مرکز اروپا گسترش زیادی داشته و موارد استفاده آن نیز فراوان بوده است. در حال حاضر از اسطوخودوس در اکثر نقاط جهان استفاده می‌شود. اسانس این گیاه یکی از ترکیبات اصلی برخی فرآورده‌های بهداشتی و آرایشی را تشکیل می‌دهد و در تولید عطر، ادکلن، صابون، شامپو، خوشبو کننده‌های هوا و امثال آن کاربرد دارد. آویشن شیرازی یکی دیگر از گیاهان دارویی شناخته شده خانواده نعناعیان است که خواص دارویی آن به عنوان ضد عفونی کننده، ضد نفخ، مسکن اعصاب، قاعده آور و ملین کاملاً شناخته شده است (Avicenna, 1985; Mozzaffarian, 1998). اما در مورد خواص حشره‌کشی آن هیچ مطالعه‌ای انجام نشده است. در تحقیق حاضر سمیت تماسی اسانس گیاهان آویشن شیرازی و اسطوخودوس روی حشرات کامل نر و ماده سوسک چهار نقطه‌ای حیوبات و نیز اثر دو اسانس مذکور بر قوه نامیه بذور لوبیا چشم بلبلی مورد بررسی قرار گرفته است.

1- Lavander

2- Lavare

مواد و روش‌ها

روش پرورش حشرات

سوسک چهارنقطه‌ای *C. maculatus* از بخش تحقیقات حشره‌شناسی کشاورزی موسسه آفات و بیماری‌های گیاهی تهران تهیه و روی دانه‌های لوبیا چشم بلبلی پرورش داده شد. حشرات در شرایط دمایی $29 \pm 1^\circ\text{C}$ ، رطوبت نسبی $5 \pm 60\%$ و تاریکی نگهداری شدند. حشرات کامل خارج شده در طی ۲ روز برای انجام آزمایشات مورد استفاده قرار گرفتند. آزمایشات برای هر یک از جنس‌های نر و ماده به‌طور جداگانه انجام شد. تشخیص جنس حشرات در زیر استریومیکروسکوپ از روی اندازه کلی بدن، طرح رنگ بالپوش‌ها و به‌ویژه رنگ‌آمیزی و اندازه نیم‌حلقه پشتی انتهایی شکم^۱ صورت گرفت (Brown & Downhower, 1988).

تهیه اسانس

در اوایل تیرماه تا اواخر مردادماه ۱۳۸۷ و هم‌زمان با گل‌دهی گیاه اسطوخودوس *L. angustifolia* شاخه‌های گل‌دهنده آن از پردیس دانشگاه فردوسی مشهد جمع‌آوری گردید و پس از حذف شاخه‌ها، گل‌ها در شرایط سایه و تهویه مناسب به مدت ۳ روز خشک شدند. گل‌های خشک به‌وسیله آسیاب برقی خرد شدند. گیاه آویشن شیرازی *Z. multiflora* از یک بازار محلی در مشهد خریداری و آسیاب گردید. تایید نام‌های علمی و خلوص گیاهان جمع‌آوری شده یا خریداری شده به‌ترتیب توسط پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد و بخش گیاهان دارویی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی صورت گرفت. اسانس‌گیری با دستگاه کلونجر^۲ در گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. در هر بار اسانس‌گیری ۵۰ گرم نمونه گیاهی خرد شده با ۱۷۵۰ میلی‌لیتر آب مورد استفاده قرار گرفت. از هر ۱۰۰ گرم نمونه خشک گیاهی یک میلی‌لیتر اسانس به‌دست آمد. اسانس‌های جمع‌آوری شده به کمک سولفات سدیم (بدون آب) آب‌گیری گردیدند و تا زمان استفاده در ظروف شیشه‌ای تیره با درپوش آلومینیومی در یخچال در دمای 4°C نگهداری شدند.

آزمایشات زیست‌سنجی

۱- سمیت تماسی اسانس‌ها

آزمایش بر اساس روش Tapondjou و همکاران با کمی تغییرات در ظروف پتری دیش به قطر ۹ سانتی‌متر انجام گرفت (Tapondjou et al., 2005). به‌منظور یافتن غلظت‌های مناسب، چند سری آزمایشات مقدماتی انجام گرفت. به کمک میکروپیپت مقادیر ۲، ۲/۷، ۳/۶، ۴/۹، ۶/۶، ۸/۹ و ۱۲ میکرولیتر اسانس اسطوخودوس (به‌ترتیب معادل ۳۱۵، ۴۲۵، ۵۶۶، ۷۷۱، ۱۰۳۸، ۱۴۰۰ و ۱۸۸۷ میکرولیتر بر مترمربع) و مقادیر ۰/۵، ۰/۹، ۱/۷، ۳/۲، ۶، ۱۱/۲ و ۲۰ میکرولیتر اسانس آویشن شیرازی (به‌ترتیب معادل ۷۹، ۱۴۲، ۲۶۷، ۵۰۳، ۹۴۴، ۱۷۶۱ و ۳۱۴۵ میکرولیتر بر مترمربع) در یک میلی‌لیتر استون (ساخت شرکت مرک^۳ آلمان) حل گردید و روی کاغذ صافی (واتمن شماره ۱ به قطر ۹ سانتی‌متر) کف پتری دیش ریخته شد. در ظروف شاهد تنها استون به‌کار رفت. پس از گذشت ده دقیقه و خشک شدن سطح کاغذ صافی، ۱۰ حشره کامل ۱-۲ روزه نر یا ماده به‌طور جداگانه به‌درون پتری‌ها منتقل شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت، تعداد حشرات مرده در ظروف

1- Pygidium

2- Clavenger (Labor Múszseripari Múvek Esztergom, Made in Hungary)

1- Merck

شاهد و تیمار شمارش گردید. حشراتی که قادر به حرکت دادن پا و شاخک نبودند، مرده تلقی شدند. آزمایش در هر غلظت و برای هر جنس نر و ماده شش مرتبه تکرار شد. آزمایش بر پایه طرح کاملاً تصادفی انجام شد.

۲- روش بررسی اثر اسانس‌ها روی جوانه‌زنی بذور

برای انجام این آزمایش بذور لوبیا چشم بلبلی به مدت ۱۰ ثانیه در هیپوکلریت سدیم ۶٪ ضد عفونی و سپس چندین بار با آب مقطر کاملاً شستشو داده شدند. تعداد ۴۰ عدد بذر هم‌شکل و هم اندازه با غلظت‌های ۰/۸۰ و ۲/۵۸ میکرولیتر برای هر گرم بذر از اسانس آویشن شیرازی و ۰/۰۸ و ۰/۱۵ میکرولیتر برای هر گرم بذر از اسانس اسطوخودوس پس از حل کردن مقدار لازم اسانس در یک میلی‌لیتر استون آغشته گردید. ۴۰ عدد بذر نیز تنها با یک میلی‌لیتر استون تیمار شد. برای شاهد از هیچ‌گونه ترکیبی استفاده نشد. بذور آغشته شده به هر غلظت اسانس در ۴ تکرار (هر کدام ۱۰ بذر) با فاصله مساوی از یکدیگر درون ظروف پتری دیش استریل شده حاوی کاغذ صافی استریل قرار داده شد. به منظور تامین رطوبت مورد نیاز برای جوانه‌زنی، روزانه یک میلی‌لیتر آب مقطر استریل به هریک از پتری‌ها افزوده شد. تعداد بذور جوانه‌زده در طی سه روز شمارش و درصد جوانه‌زنی بذور محاسبه گردید.

۳- روش شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس‌ها

به منظور شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس‌ها از دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف‌سنج جرمی GC-MS¹ مدل Varian-star-3400 cx مجهز به ستون موئینه DB-5 با قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت فیلم ۰/۲۵ میکرومتر و طول ستون ۳۰ متر، گاز هلیوم به‌عنوان گاز حامل با سرعت جریان ۲ میلی‌متر در دقیقه استفاده شد. در هر مورد پس از تزریق مقدار ۱ میکرولیتر اسانس، کروماتوگرام حاصله و طیف‌های جرمی ترکیبات مختلف آن بررسی شد. شناسایی طیف‌ها با بانک اطلاعات جرمی، زمان بازداری ترکیبات^۲، محاسبه اندیس کوواتس^۳، مطالعه طیف‌های جرمی هر یک از اجزای اسانس و بررسی الگوی شکست آن‌ها و مقایسه آن‌ها با طیف‌های استاندارد و استفاده از منابع معتبر صورت گرفت (Adams, 2001). همچنین با توجه به سطح زیر منحنی هریک از پیک‌های کروماتوگرام GC و مقایسه آن با سطح کل زیر منحنی، درصد نسبی هریک از ترکیبات تشکیل دهنده اسانس تعیین گردید.

۴- آنالیز داده‌ها

روابط بین درصد مرگ‌ومیر حشرات و غلظت‌های مختلف اسانس با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16.0 مورد آنالیز قرار گرفت. مقایسه میانگین درصد مرگ‌ومیر در غلظت‌های مختلف با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن^۴ در سطح ۵٪ انجام شد. داده‌های درصد مرگ‌ومیر پس از ۲۴ ساعت در مورد هر اسانس بر اساس مدل پروبیت و با استفاده از نرم‌افزار POLO-PC آنالیز شد. پارامترهایی از قبیل LC₅₀، LC₉₀، شیب و عرض از مبدا (ثابت) معادله خط رگرسیون پروبیت مرگ‌ومیر غلظت، نسبت آزمون *t*، فاکتور ناهمگنی^۵ و فاکتور *g* با استفاده از این نرم‌افزار به‌دست آمد. مقایسه سمیت

1-Gas Chromatography-Mas Spectrometry

2- Retention time

3- Kováts Index

4- Duncan multiple range test

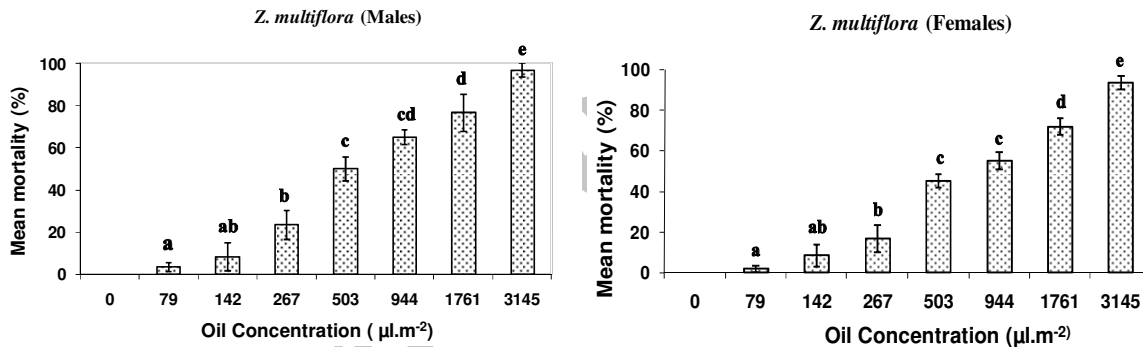
5- Heterogeneity factor

اسانس‌ها و نیز مقایسه حساسیت جنس نر و ماده با استفاده از نسبت‌های LC_{50} و LC_{90} و حدود اطمینان ۹۵٪ آن‌ها با استفاده از روش Robertson & Preisler صورت گرفت (Robertson & Preisler, 1992).

نتایج

۱- نتایج سمیت تماسی اسانس‌ها

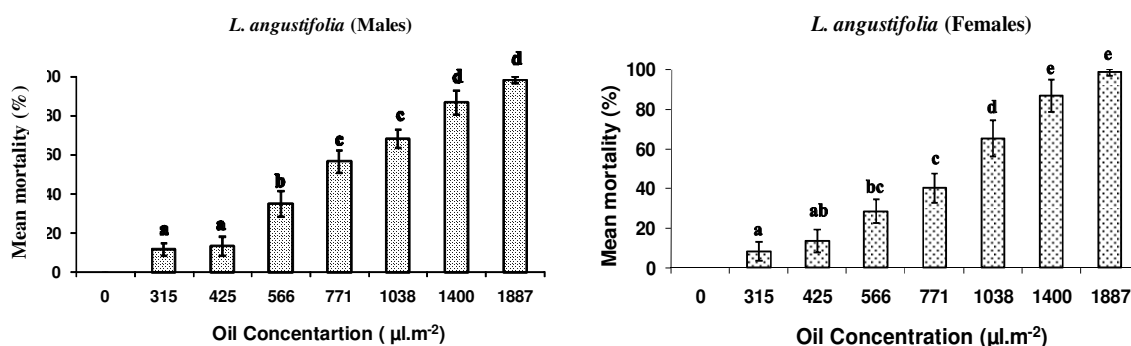
در هر دو اسانس مورد مطالعه با افزایش غلظت اسانس، درصد مرگ‌ومیر در هر دو جنس حشره افزایش یافت. بر اساس نتایج تجزیه واریانس یک طرفه درصد مرگ‌ومیر، در هر دو اسانس، غلظت‌ها با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند ($P < 0.001$) (شکل ۱ و ۲). پایین‌ترین غلظت به‌کار رفته از اسانس آویشن شیرازی (۷۹ میکرولیتر بر مترمربع) روی حشرات ماده ۱/۶۷ درصد و روی حشرات نر ۳/۳۳ درصد تلفات و پایین‌ترین غلظت به‌کار رفته از اسانس اسطوخودوس (۳۱۵ میکرولیتر بر مترمربع) روی حشرات ماده ۸/۳۳ درصد و روی حشرات نر ۱۱/۶۷ درصد تلفات ایجاد کرد. میزان تلفات ناشی از بالاترین غلظت مورد آزمایش از اسانس آویشن شیرازی (۳۱۴۵ میکرولیتر بر مترمربع) در حشرات ماده ۹۳/۳۳ درصد و در حشرات نر ۹۶/۶۷ درصد بود. بالاترین غلظت مورد آزمایش از اسانس اسطوخودوس (۱۸۸۷ میکرولیتر بر مترمربع) در هر دو جنس نر و ماده ۹۸/۳۳ درصد تلفات ایجاد کرد. در تمامی آزمایشات زیست‌سنجی هر دو اسانس، در شاهد تلفاتی مشاهده نشد.



شکل ۱- درصد مرگ‌ومیر (خطای میانگین $n=6$) حشرات کامل نر و ماده سوسک چهارنقطه‌ای *C. maculatus* در اثر سمیت تماسی اسانس آویشن شیرازی پس از ۲۴ ساعت اسانس‌دهی

Fig. 1- Percent mortality (Mean \pm SE, n=6) of male and female of *C. maculatus* and exposed to contact toxicity of *Z. multiflora* essential oil after 24h

ارزیابی اسانس‌ها با استفاده از آنالیز پروبیت روی درصد مرگ‌ومیر حشرات کامل پس از ۲۴ ساعت اسانس‌دهی صورت گرفت. نتایج حاصل از این آنالیز در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج آنالیز پروبیت نشان داد که در تمامی موارد نسبت آزمون t بیش از ۱/۹۶ و فاکتور g در تمامی سطوح احتمال کمتر از ۰/۵ بود. فاکتور ناهمگنی جز در زیست‌سنجی اسانس اسطوخودوس علیه حشرات ماده (۱/۱۴)، در سایر موارد کمتر از یک بود. فاکتور ناهمگنی بزرگتر از یک، نشان‌دهنده اعمال فاکتور g در تصحیح مقادیر LC_{50} و LC_{90} می‌باشد.



شکل ۲- درصد مرگ‌ومیر ($n=6$, خطای میانگین±معیار) حشرات کامل نر و ماده سوسک چهارنقطه‌ای *C. maculatus* در اثر سمیت تماسی اسانس اسطوخودوس پس از ۲۴ ساعت اسانس دهی

Fig. 2- Percent mortality (Mean±SE, n=6) of male and female of *C. maculatus* were exposed to contact toxicity of *L. angustifolia* essential oil for 24h.

مقایسه بین سمیت اسانس‌ها و نیز مقایسه بین حساسیت حشرات نر و ماده با پذیرش و یا رد آزمون‌های تساوی و متوازی بودن خطوط پروبیت و نسبت‌های LC_{50} یا LC_{90} انجام شد. در اسانس آویشن شیرازی، شیب خطوط رگرسیون پروبیت مرگ‌ومیر حشرات نر و ماده به ترتیب ۲/۰۸ و ۲/۰۱ به دست آمد که بر اساس فرضیه موازی بودن، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ($\chi^2=0.07$, $df=1$, $P=0.789$). بنابراین شیب معادل $2/05 (\pm 0/12)$ به عنوان شیب مشترک بین خطوط پروبیت مرگ‌ومیر افراد نر و ماده در اثر سمیت این اسانس محاسبه شد. همچنین در اسانس اسطوخودوس بین شیب خطوط پروبیت حشرات نر (۳/۹۷) و ماده (۴/۱۷) اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد ($\chi^2=0.17$, $df=1$, $P=0.683$). بنابراین شیب معادل $4/07 (\pm 0/24)$ به عنوان شیب مشترک بین خطوط مذکور در این اسانس تعیین گردید. مقایسه بین شیب خطوط پروبیت برای دو اسانس نشان داد که در افراد ماده شیب خط پروبیت برای اسانس اسطوخودوس (۴/۱۷) به طور معنی‌داری بزرگتر از شیب خط پروبیت برای اسانس آویشن شیرازی (۲/۰۱) بود ($\chi^2=35.09$, $df=1$, $P<0.001$). همچنین در حشرات نر، شیب خط پروبیت برای اسانس اسطوخودوس (۳/۹۷) به طور معنی‌داری بزرگتر از شیب خط پروبیت برای اسانس آویشن شیرازی (۲/۰۸) بود ($\chi^2=27.96$, $df=1$, $P<0.001$).

نتایج مقایسه جفتی ثابت‌های خطوط پروبیت با استفاده از آزمون فرضیه یکسان بودن خطوط نشان داد که در اسانس آویشن شیرازی ثابت معادله پروبیت مرگ‌ومیر افراد نر (۵/۷۷-) و ماده (۵/۷۸-) با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نداشتند ($\chi^2=3.11$, $df=2$, $P=0.211$). نتیجه مشابهی در مورد اسانس اسطوخودوس بین ثابت‌های معادلات پروبیت مرگ‌ومیر حشرات نر (۱۱/۳۵-) و ماده (۱۲/۰۷-) به دست آمد ($\chi^2=2.59$, $df=2$, $P=0.274$). ثابت معادله پروبیت مرگ و میر افراد نر برای اسانس آویشن شیرازی با اسانس اسطوخودوس اختلاف معنی‌دار داشت ($\chi^2=31.47$, $df=2$, $P<0.001$). نتیجه مشابهی در مورد مقایسه بین ثابت‌های معادلات پروبیت دو اسانس در حشرات ماده نیز به دست آمد ($\chi^2=36.26$, $df=2$, $P<0.001$). مقادیر شاخص‌های LC_{50} نشان دادند که هر دو اسانس آویشن شیرازی و اسطوخودوس دارای سمیت تماسی بالاتری علیه حشرات نر بودند. بیشترین میزان سمیت مربوط به اسانس آویشن شیرازی علیه حشرات نر با LC_{50} معادل $598 \mu l.m^{-2}$ و کمترین میزان سمیت مربوط به اسانس اسطوخودوس علیه حشرات ماده با LC_{50} معادل 787 میکرولیتر بر مترمربع بود. بر اساس شاخص LC_{50} و LC_{90} اسانس اسطوخودوس در مقایسه با اسانس آویشن شیرازی دارای سمیت بالاتری علیه حشرات نر و ماده بود. بیشترین میزان LC_{90} (۳۱۹۲ میکرولیتر بر مترمربع) مربوط به اثر اسانس آویشن شیرازی روی حشرات ماده و کمترین میزان آن (۱۵۱۰ میکرولیتر بر مترمربع) مربوط به اسانس اسطوخودوس روی حشرات نر بود.

(جدول ۱). مقایسه جفتی حساسیت حشرات نر و ماده نسبت به هر اسانس با استفاده از نسبت LC_{50} و حدود اطمینان ۹۵٪ آن نشان داد که در هر دو اسانس آویشن شیرازی و اسطوخودوس تفاوت معنی داری بین میزان حساسیت حشرات نر و ماده وجود نداشت (جدول ۲). بر اساس شاخص LC_{90} نیز برای هر یک از اسانس‌ها، تفاوت معنی داری بین حساسیت حشرات نر و ماده وجود نداشت (جدول ۳). مقایسه جفتی سمیت تماسی اسانس‌ها روی هر جنس حشره با استفاده از نسبت LC_{50} و حدود اطمینان ۹۵٪ آن نشان داد که روی حشرات ماده یا نر تفاوت معنی داری بین میزان LC_{50} اسانس آویشن شیرازی و اسانس اسطوخودوس وجود نداشت. در حالی که بر اساس شاخص LC_{90} ، حشرات ماده یا نر به طور معنی داری نسبت به اسانس آویشن شیرازی در مقایسه با اسطوخودوس مقاوم تر بودند. مقایسه حساسیت حشرات نر و ماده با استفاده از نسبت LC_{90} و حدود اطمینان ۹۵٪ آن نشان داد که در هر دو اسانس مورد مطالعه میزان LC_{90} اسانس‌ها علیه حشرات نر تفاوت معنی داری با میزان این شاخص علیه حشرات ماده نداشت (جدول ۳).

جدول ۱- نتایج آنالیز پروبیت مرگومیر- غلظت در آزمایش سمیت تماسی اسانس‌های آویشن شیرازی و اسطوخودوس روی حشرات کامل نر و ماده سوسک چهارنقطه‌ای حیوانات *C. maculatus* پس از ۲۴ ساعت اسانس دهی

Table 1- Probit analyses of contact toxicity of *L. angustifolia* and *Z. multiflora* essential oils against male and female of *C. maculatus* after 24h

Essential oil	Sex	No. of insects	Intercept (\pm SE)	Slope (\pm SE)	t ratio	Heterogeneity	g factor (0.95)	Lethal concentration (μ m ⁻²) (95% CL)	
								LC_{50}	LC_{90}
<i>Z. multiflora</i>	Female	420	-5.78(\pm 0.48)	2.01(\pm 0.17)	11.97	0.90	0.03	737 (624-878)	3129 (2427-4580)
	Male	420	-5.77(\pm 0.47)	2.08(\pm 0.17)	12.30	0.85	0.03	598 (508-706)	2473 (1920-3437)
<i>L. angustifolia</i>	Female	420	12.07(\pm 0.98)	4.17(\pm 0.34)	12.26	1.14	0.05	787 (703-884)	1598 (1350-2044)
	Male	420	11.35(\pm .95)	3.97(\pm 0.33)	12.03	0.92	0.03	719 (661-781)	1510 (1329-1785)

۲- نتایج اثر اسانس‌ها بر قوه نامیه بذور

نتایج این بررسی نشان داد که اسانس گیاهان آویشن شیرازی و اسطوخودوس اثر منفی روی جوانه‌زنی بذور لوبیا چشم بلبلی نداشتند. پس از گذشت ۲۴ ساعت، هیچ یک از بذور موجود در ظروف شاهد و تیمار، جوانه نزدند. پس از گذشت ۴۸ ساعت، بیشترین میزان جوانه‌زنی (۴۲/۵٪) در اثر غلظت ۲/۵۸ میکرولیتر برای هر گرم بذر از اسانس آویشن شیرازی و کمترین میزان جوانه‌زنی (۷/۵٪) در اثر غلظت ۰/۰۸ میکرولیتر برای هر گرم بذر از اسانس اسطوخودوس حاصل شد. اما پس از گذشت ۷۲ ساعت میزان جوانه‌زنی در تمامی تیمارها ۱۰۰٪ بود.

جدول ۲- نسبت LC₅₀ها و حدود اطمینان ۹۵٪ آن‌ها جهت مقایسه سمیت تماسی اسانس‌های آویشن شیرازی (Zm) و اسطوخودوس (La) روی

حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای حیوانات *C. maculatus*

Table 2- LC₅₀s ratios and their respective 95% confidence limits calculated for comparing contact activities of *L. angustifolia* and *Z. multiflora* oils against *C. maculatus* adults

Subject	LC ₅₀ ratio	Confidence limits (95%)
Essential oil	Comparing of insect's sex resistance to each oil	♀ LC ₅₀ : ♂ LC ₅₀
<i>Z. multiflora</i>	1.13	(0.97-1.57) ^{ns}
<i>L. angustifolia</i>	1.06	(0.97-1.23) ^{ns}
Sex	Comparing of oil toxicity on each sex	(Zm LC ₅₀ : La LC ₅₀)
Female	1.07	(0.89-1.29) ^{ns}
Male	1.20	(1.00-1.45) ^{ns}

^Y The lower and upper 95% confidence limits were calculated according to procedure described by Robertson and Preisler. 1992.

^{ns}: not significantly differences between crossed LC₅₀s at 5%

*: significantly differences between crossed LC₅₀s at 5%

جدول ۳- نسبت LC₉₀ها و حدود اطمینان ۹۵٪ آن‌ها جهت مقایسه سمیت تماسی اسانس‌های آویشن شیرازی (Zm) و اسطوخودوس (La) روی

روی حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای حیوانات *C. maculatus*

Table 3- LC₉₀s ratios and their respective 95% confidence limits calculated for comparing contact activities of *L. angustifolia* and *Z. multiflora* oils against *C. maculatus* adults

Subject	LC ₉₀ ratio	Confidence limits (95%)
Essential oil	Comparing of insect's sex resistance to each oil	♀ LC ₉₀ : ♂ LC ₉₀
<i>Z. multiflora</i>	1.29	(0.84-1.98) ^{ns}
<i>L. angustifolia</i>	1.06	(0.86-1.30) ^{ns}
Sex	Comparing of oil toxicity on each sex	(Zm LC ₉₀ : La LC ₉₀)
Female	1.99	(1.41-2.82)*
Male	1.64	(1.18-2.27)*

^Y The lower and upper 95% confidence limits were calculated according procedure described by Robertson and Preisler. 1992.

^{ns}: not significantly differences between crossed LC₉₀s at 5%

*: significantly differences between crossed LC₉₀s at 5%

۳- نتایج بررسی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس‌ها

نتایج حاصل از آنالیز شیمیایی اسانس‌ها توسط دستگاه GC-MS نشان داد که تیمول^۱، لینالول^۲ و پارا-سیمن^۳، به ترتیب با میزان ۵۵، ۳۷/۸ و ۷/۲٪ ترکیبات اصلی اسانس آویشن شیرازی مورد مطالعه در این تحقیق را تشکیل دادند. در اسانس اسطوخودوس، لینالول (۴۲/۸٪)، ۱، ۸-سینئول (۲۳/۴٪)، روزفوران اپوکساید^۵ (۱۴٪)، منتون^۶ (۶/۸٪)، ایزومنتول^۷ (۵/۲٪) و ترانس-دی هیدروکاروون^۸ (۴/۳٪) ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس بودند. در جدول ۵ ترکیبات تشکیل دهنده اسانس‌های آویشن شیرازی و اسطوخودوس با مشخصات طیفی مانند زمان بازداری، شاخص کوآتس و درصد نسبی هر ترکیب نشان داده شده است.

- 1- Thymol
- 2- Linalool
- 3- *p*-Cymene
- 4- 1,8-Cineol
- 5- Rosefuran epoxide
- 6- Menthone
- 7- Isomenthol
- 8- Dihydro carvone (trans)

جدول ۴- میانگین درصد جوانه زنی بذور لوبیا چشم بلبلی در اثر اسانس‌های آویشن شیرازی و اسطوخودوس پس از گذشت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت (n=۴) *

Table 4- Mean percent germination of cowpea seeds treated by *L. angustifolia* and *Z. multiflora* essential oils after 24, 48 and 72 h from application

Treatment	Concentration lg ⁻¹ μ ^W	Time(h)		
		24	48	72
Control	-	0.00	27.50	100.00
Aceton	-	0.00	15.00	100.00
<i>Z. multiflora</i>	0.80	0.00	27.50	100.00
	2.58	0.00	42.50	100.00
<i>L. angustifolia</i>	0.08	0.00	7.50	100.00
	0.15	0.00	17.50	100.00

*Seeds were impregnated with oils or acetone and were placed in pre-sterilized 9 cm petri dishes containing sterilized filter paper.

^W:The concentrations that applied for each oils were LC₅₀ and LC₉₀ value that obtained from fumigant toxicity.

جدول ۵- آنالیز شیمیایی اسانس‌های آویشن شیرازی و اسطوخودوس تهیه شده در سال ۱۳۸۷ از مشهد

Table5- Chemical composition of *L. angustifolia* and *Z. multiflora* essential oils collected from Mashhad region in 1387

Essential oil	Compounds	Retention time	Koats Index	Amount (%)
<i>Z. multiflora</i>	Thymol	21.73	1291	55
	Linalool	12.75	1094	37.8
	p-Cymene	9.76	1025	7.2
<i>L. angustifolia</i>	Linalool	12.75	1094	42.8
	1,8-Cineol	10.06	1031	23.4
	Rosefuran epoxide	16.06	1175	14
	Menthone	14.98	1150	6.8
	Isomenthol	16.39	1183	5.2
	Dihydro carvone (trans)	17.04	1200	4.3

بحث

۱- سمیت تماسی اسانس‌ها

نتایج نشان داد که در هر اسانس همبستگی مثبت و معنی‌داری بین درصد تلفات و غلظت اسانس وجود دارد. همبستگی مثبت و معنی‌دار بین میزان تلفات حشرات کامل و غلظت در مورد سایر اسانس‌های گیاهی و برخی از حشرات آفت محصولات انباری آفات گزارش شده است. از جمله سمیت تماسی اسانس هل *E. cardamomum* روی حشرات کامل شپشه ذرت *S. zeamais* و شپشه قرمز آرد *T. castaneum* (Huang et al., 2000)، اسانس برگ سلمک معطر *C. ambrosioides* روی حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات *C. maculatus*، سوسک چینی حبوبات *C. chinensis*، سوسک لوبیا *A. obtectus* شپشه گندم *S. granarius* و شپشه برنج *S. oryzae* (Tapondjou et al., 2002)، اسانس *C. obtusa* روی حشرات کامل سوسک چینی حبوبات و شپشه برنج (Park et al., 2003) و اسانس سروناز *C. sempervirens* و نوعی اکالیپتوس *E. saligna* روی حشرات کامل شپشه قرمز آرد و شپشه ذرت (Tapondjou et al., 2005) با افزایش غلظت اسانس افزایش یافت. نسبت‌های LC₅₀ و حدود اطمینان ۹۵٪ آن‌ها به‌منظور مقایسه میزان حساسیت جنس نر و ماده نسبت به اثر تماسی اسانس‌ها مورد استفاده قرار گرفت. هرچند حشرات نر در مقایسه با حشرات ماده نسبت به اثر تماسی اسانس‌ها حساسیت بیشتری داشتند اما این تفاوت معنی‌دار نبود. معنی‌دار نبود تفاوت

حساسیت جنس نر و ماده به اثر تماسی برخی از عصاره‌های گیاهی در تحقیقات برخی از محققان نیز مشاهده شده است. به‌عنوان مثال جلالی و همکاران در بررسی اثر سمیت تماسی عصاره گیاهان گندواش *Artemisia annua* L. و آق‌طی *Sambucus ebulus* L. روی حشرات کامل نر و ماده شپشه گیج *T. confusum* بیان کردند که با این که درصد مرگ‌ومیر برای جنس نر در عصاره هر دو گیاه بیشتر از جنس ماده بود، اما از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری بین درصد تلفات هر یک از عصاره‌ها بین دو جنس وجود نداشت (Jalali sendi et al., 2003).

در این آزمایش تفاوت معنی‌داری در میزان حساسیت بین جنس نر و ماده به هر یک از دو اسانس دیده نشد. اگرچه میزان LC_{50} حشرات نر کمتر از حشرات ماده بود. میزان حساسیت جزیی بیشتر حشرات نر در مقایسه با حشرات ماده به اسانس‌ها را می‌توان در تفاوت‌های جزیی در وزن کمتر حشرات نر، میزان چربی کمتر آن‌ها و یا تفاوت‌های جزیی در مکانیسم عمل اسانس‌ها در دو جنس نسبت داد. شیب خطوط پروبیت مرگ‌ومیر- غلظت در اثر اسانس آویشن شیرازی روی حشرات ماده کمتر از حشرات نر بود اما در مورد اسانس اسطوخودوس، شیب خطوط پروبیت روی حشرات ماده بیشتر از حشرات نر بود. به عبارت دیگر در اسانس آویشن شیرازی به ازای هر واحد افزایش در غلظت اسانس، افزایش درصد تلفات در حشرات نر بیشتر از حشرات ماده بود اما در اسانس اسطوخودوس به ازای هر واحد افزایش در غلظت اسانس، افزایش درصد تلفات در حشرات ماده بیشتر از حشرات نر بود که نشان می‌دهد نحوه عمل هر یک از اسانس‌ها روی جنس نر و ماده ممکن است متفاوت باشد (Robertson & Preisler, 1992) که نیاز به تحقیق بیشتر دارد. مقایسه سمیت جفتی اسانس‌ها با استفاده از نسبت‌های LC_{50} و حدود اطمینان ۹۵٪ آن‌ها نیز نشان داد که برای هر دو جنس نر و ماده، LC_{50} اسانس‌های آویشن شیرازی و اسطوخودوس تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. اما بر اساس نسبت‌های LC_{90} و حدود اطمینان ۹۵٪ آن‌ها در هر یک از جنس‌های نر یا ماده تفاوت معنی‌داری بین LC_{90} اسانس‌های آویشن شیرازی و اسطوخودوس وجود داشت. این موضوع می‌تواند ناشی از تفاوت در شیب خطوط پروبیت مرگ‌ومیر- غلظت بین اسانس‌ها باشد (Robertson & Preisler, 1992).

Owolabi و همکاران مقادیر LC_{50} تماسی اسانس گیاهان علف لیمو *C. citratus*، جوز هندی *Monodora myristica* (Geartn.) و زنجبیل *Zingiber officinale* Rosc. را پس از ۲۴ ساعت روی حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات *C. maculatus* به ترتیب برابر با ۰/۴۳۷، ۰/۳۴۶ و ۰/۵۶۸ میکرولیتر بر سانتی‌متر مربع (به ترتیب معادل ۴۳۷۰، ۳۴۶۰ و ۵۶۸۰ میکرولیتر بر مترمربع) ذکر کردند (Owolabi et al., 2007). با توجه به یکسان بودن روش، مدت زمان انجام آزمایش و گونه حشره مورد مطالعه و نیز مقایسه مقادیر LC_{50} محاسبه شده برای اسانس‌های آویشن شیرازی (۷۳۷ و ۵۹۸ میکرولیتر بر مترمربع به ترتیب روی حشرات نر و ماده) و اسطوخودوس (۷۸۷ و ۷۱۹ میکرولیتر بر مترمربع به ترتیب روی حشرات نر و ماده) در تحقیق حاضر با مقادیر گزارش شده توسط این محققان می‌توان گفت که سمیت تماسی اسانس‌های آویشن شیرازی و اسطوخودوس روی سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات بسیار بیشتر از اسانس‌های علف لیمو، جوز هندی و زنجبیل می‌باشد.

سمیت تماسی بسیاری از اسانس‌های گیاهی ناشی از ترکیبات تشکیل‌دهنده آن‌ها یعنی مونوترپن‌ها است که اثرات بیولوژیک برخی از این ترکیبات علیه آفات انباری مورد بررسی قرار گرفته است (Obeng-Ofori et al., 1998; Taponjrou et al., 2005).

۲- اثر اسانس‌ها روی جوانه‌زنی بذور

هدف از انجام این آزمایش بررسی اثرات دگرآسیبی اسانس‌های آویشن شیرازی و اسطوخودوس روی بذور لوبیا چشم بلبلی بود. نتایج آزمایش نشان داد که اسانس‌های آویشن شیرازی و اسطوخودوس علی‌رغم داشتن سمیت تماسی روی سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات، اثر نامطلوبی روی جوانه‌زنی بذور لوبیا چشم بلبلی نداشتند. عدم وجود اثرات دگرآسیبی برخی اسانس‌های گیاهی روی بذور مختلف در تحقیقات نشان داده شده است. به‌عنوان مثال Rahma and Talukder نشان دادند که اسانس نوعی پنج انگشت *V. negundo*، نوعی اکالیپتوس *E. globulus* و بانکالمی *I. sepiaria* روی جوانه‌زنی بذور لوبیا سیاه *V. mungo* اثری نداشتند (Rahma & Talukder, 2006). نتایج مشابهی توسط Tripathi و همکاران در بررسی اثر اسانس شوید هندی *A. sowa* روی جوانه‌زنی بذور نخود به‌دست آمد (Tripathi et al., 2003).

۳- ترکیبات تشکیل دهنده اسانس‌ها

در تحقیق حاضر اسانس گیاهان آویشن شیرازی و اسطوخودوس به روش تقطیر با آب به‌وسیله دستگاه کلونجر استخراج گردیده و توسط دستگاه گاز کروماتوگراف/ اسپکترومتری جرمی (GC-MS) مورد آنالیز قرار گرفتند. نتایج حاصل از آنالیز اسانس آویشن شیرازی نشان داد که این اسانس عمدتاً از تیمول، لینالول و پاراسیمین تشکیل شده است. مقایسه ترکیبات اصلی این اسانس با تحقیقات سایر محققان روی این اسانس نشان می‌دهد که میزان آن‌ها در نمونه‌های مختلف متفاوت است. شهسواری و همکاران ترکیبات اصلی اسانس آویشن شیرازی جمع‌آوری شده از مزرعه تحقیقاتی موسسه تحقیقات گیاهان دارویی و محصولات طبیعی کرج که به‌روش مشابه در تحقیق حاضر استخراج و آنالیز شده بود را کارواکول (۲۶/۰۸٪)، پاراسیمین (۲۰/۳۴٪) و تیمول (۱۷/۲۳٪) و لینالول (۱۰/۰۹٪) ذکر کردند (Shahsavari et al., 2008). صادق‌زاده و همکاران ترکیبات اصلی اسانس آویشن شیرازی جمع‌آوری شده از شیراز و استخراج شده به روش تقطیر با بخار آب را تیمول (۵۲/۴٪)، گاما-ترپینین^۱ (۱۷/۶٪)، پاراسیمین (۱۳/۲٪) و کارواکول (۶/۱٪) گزارش کردند (Sadeghzadeh et al., 2006). شریفی‌فر و همکاران تیمول (۳۷/۵۹٪)، کارواکول (۳۳/۶۵٪)، پاراسیمین (۷/۷۲٪) و گاما-ترپینین (۳/۸۸٪) را ترکیبات اصلی تشکیل‌دهنده اسانس آویشن شیرازی ذکر کردند (Sharififar et al., 2007). دلایل احتمالی تفاوت در برخی از ترکیبات علی‌رغم یکسان بودن روش اسانس‌گیری و آنالیز می‌تواند ناشی از تفاوت توده‌های مورد بررسی، شرایط آب‌وهوایی منطقه جمع‌آوری نمونه‌ها باشد (Shahsavari et al., 2008). لینالول (۴۲/۸٪)، ۱، ۸-سینئول (۲۳/۴٪)، روزفوران اپوکساید (۱۴٪)، متنون (۶/۸٪)، ایزومنتول (۵/۲٪) و ترانس-دی هیدروکاروون (۴/۳٪) اصلی‌ترین ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس اسطوخودوس جمع‌آوری شده از محوطه پردیس دانشگاه فردوسی مشهد در تحقیق حاضر بودند. پورتو و دکورتی اسانس اسطوخودوس جمع‌آوری شده از منطقه‌ای در شمال ایتالیا را به روش HS-SPME^۲ استخراج و توسط دستگاه GC-MS آنالیز کردند. اصلی‌ترین ترکیبات شناسایی شده در این اسانس لینالول (۴۵٪) و لینالیل استات^۳ (۳۱/۷٪) بودند (Porto & Decorti, 2008). در تحقیقی که توسط Sokoviã و همکاران انجام شد، اسانس اسطوخودوس متعلق به کشور بلغراد با استفاده از GC-FID تجزیه‌ای و تکنیک GC-MS آنالیز شد. ترکیبات شناسایی شده شامل لینالول (۲۷/۲۱٪)، لینالول استات (۲۷/۵۴٪)، لیمونن (۸/۵٪)، لواندولیل استات^۴

1- δ -terpinene

2- Headspace Solid-Phase Microextraction

3- Linalyl acetate

4- Lavandulyl acetate

۱، ۸-سینئول (۶/۵۴٪)، آلفا ترپینئول^۱ (۴/۳۰٪) و ۱، ۸-سینئول (۳/۳۴٪) بود (Sokoviā et al., 2007). میزان ترکیب لینالول و ۱، ۸-سینئول شناسایی شده در این تحقیق کمتر از میزان آن‌ها در تحقیق حاضر بود. میزان ترکیبات لینالول و ۱، ۸-سینئول شناسایی شده در تحقیقات فوق با تحقیق حاضر متفاوت است که می‌تواند ناشی از شرایط آب‌وهوایی مناطق رویش این گیاه، زمان برداشت، شرایط اسانس‌گیری و یا سایر عوامل باشد.

تفاوت در میزان و نوع برخی از ترکیبات شیمیایی اسانس‌های شناسایی شده در تحقیقات انجام گرفته در نقاط مختلف دنیا لزوم استانداردسازی، شرایط تولید و استخراج اسانس‌های گیاهی را در زمینه کنترل آفات روشن‌تر می‌سازد.

به دلیل کم بودن مقدار اسانس‌ها در گیاهان معطر، هزینه تهیه و تولید این ترکیبات جهت کاربرد در مقیاس تجاری بسیار زیاد می‌باشد. اما با توجه به ایمنی این ترکیبات روی پستانداران، موجودات غیرهدف و محیط‌زیست توصیه می‌شود تحقیقات بیشتر در جهت تهیه فرمولاسیون‌های مناسب و مقرون به صرفه انجام شود.

سپاسگزاری

تحقیق حاضر بخشی از پایان‌نامه نگارنده اول می‌باشد که بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد به جهت حمایت‌های مالی کمال تشکر را می‌نمایم. همچنین از آقای دکتر عزیزی عضو هیئت علمی گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد جهت همکاری در تهیه اسانس‌های مورد بررسی، آقای دکتر حسن‌زاده خیاط عضو هیئت علمی دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی مشهد به خاطر همکاری در آنالیز اسانس‌ها و آقای مهندس هاتفی به خاطر همکاری در تهیه لوازم مورد نیاز آزمایشات نهایت سپاسگزاری را داریم.

References

- Adams, R. P. 2001. Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectroscopy. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL. Pp: 63-344.
- Al-Jabr, A. M. 2006. Toxicity and repellency of seven plant essential oils to *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). Scientific Journal of King Faisal University (Basic and Applied Sciences), 7(1): 49-60.
- Avicenna.1985. Al-Qanun fi al Tibb, (The Canon of Medicine). 1 ed. Persian Edition, Sharaf-Kandi, A.R. Soroush Press. Tehran. 244 PP
- Bagheri zenooz, E. 1984. Control methods of stored and quarantine pests. Adib press. 252 PP
- Brown, L. and Downhower, J. F. 1988. Analyses in Behavioral Ecology: A Manual of Lab and Field. Sinauer Associates. 194 PP
- Duke, J. A. 1990. Introduction to food legumes. 1-42. In: Singh, S. R. Insect Pests of Tropical Food Legumes. John Wiley and Sons, Chichester. England. 451 pp
- Huang, Y., Lam, S. L. and HO, S. H. 2000. Bioactivities of essential oil from *Elletaria cardamomum* (L.) Maton. To *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). Journal of Stored Products Research, 36: 107-117.
- Jalali sendi, J., Haghghian, F. and Ali akbar, A. R. 2003. Insecticidal effects of *Artemisia annua* L. and *Sambucus ebulus* L. extracts on *Tribolium confusum* Duv. Iranian journal of agriculture sciences, 44(2): 313-319.
- Kéita, S. M., Vincent, C., Schmit, J. P., Ramaswamy, S. and Bélanger, 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, 37(4): 339-349.

- Kêita, S. M., Vincent, C., Schmit, J. P., Ramaswamy, S. and Bélanger, A. 2000.** Effect of various essential oils on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) Journal of Stored Products Research, 36: 355-364.
- Lee, B. H., Choi, W. S., Lee, S. E. and Park, B. S. 2001.** Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). Crop Protection, 20: 317-320.
- Mozzaffarian, V. A. 1998.** A Dictionary of Iranian Plant Names. 2 ed. Farhang Moaser publication, Tehran. 740 PP
- NRI. 1996.** Insect pests of Nigerian Crops: Identification, Biology and Control. Natural Resource Institute. Chatham, UK. 253 pp.
- Obeng-Ofori, D., Reichmuth, C., Bekele, A. J. and Hassanali, A. 1998.** Toxicity and protectant potential of camphor, a major component of essential oil of *Ocimum Kilimandscharicum*, against four stored product beetles. International Journal of Pest Management, 44(4): 203-209.
- Onu, I. and Aliyu, M. 1995.** Evaluation of powdered fruits of four peppers (*Capsicum* spp.) for the *Callosobruchus maculatus* (F) on stored cowpea seed. International Journal of Pest Management, 41(3): 143-145.
- Owolabi, M. S., Oladimeji, M. O., Lajide, L., Singh, G., Marimuthu, P. and Isidorov, V. A. 2007.** Bioactivity of three plant derived essential oils against the maize weevil *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) and cowpea weevil *Callosobruchus maculatus* (Fabricius). *Electronical Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 8(9): 828-835
- Papachristos, D. P. and Stamopoulos, D. C. 2002.** Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Stored Products Research, 38: 117-128.
- Park, I. K., Lee, S. G., Choi, D. H., Park, J. D. and Ahn, Y. J. 2003.** Insecticidal activities of constituents identified in essential oil from leaves of *Chamaecyparis obtusa* against *Callosobruchus chinensis* (L.) and *Sitophilus oryzae* (L.). Journal of Stored Products Research, 39: 375-384.
- Pimentel, D., Andow, D., Dyson-Hudson, R., Gallahan, D., Jacobson, S., Irish, M., Croop, S., Moss, A., Schreiner, I., Shepard, M., Thompson, T. and Vinzant, B. 1980.** Environmental and social costs of pesticides: a preliminary assessment. *Oikos*, 34:125-140.
- Porto, C. D. and Decorti, D. 2008.** Analysis of the volatile compounds of flowers and essential oils from *Lavandula angustifolia* cultivated in northeastern Italy by Headspace Solid-Phase Microextraction coupled to Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Planta Medica*, 74(2): 182-187.
- Rahman, A. and Talukder, F. A. 2006.** Bioefficacy of some plant derivatives that protect grain against the pulse beetle, *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Insect Science*, 6(3): 10 pp.
- Robertson J. L and Preisler H. K. 1992.** Pesticide Bioassays with Arthropods. CRC Press. Florida, 127 pp.
- Sadeghzadeh, L., Sefidkon, F. and Owlia, P. 2006.** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Zataria multiflora*. *Pajouhesh and Sazandegi*, 71: 52-56.
- Shaaya, E., Kostjukovski, M., Eilberg, J. and Sukprakarn, C. 1997.** Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, 33(1): 7-15.
- Shahsavari, N., Barzegar, M., Sahari, M. A. and Naghdi badi, H. A. 2008.** Antioxidant activity of *Zataria multiflora* Boiss. Essential oil in soya oil. *Medical plant*, 28:56-68.
- Shariffar, F., Moshafi, M. H., Mansouri, S. H., Khodashenas, M. and Khoshnoodi, M. 2007.** In vitro evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil and methanol extract of endemic *Zataria multiflora* Boiss. *Food Control*, 18: 800-805.
- Singh, S. R. and Jackai, L. 1985.** Insects pests of cowpea in Africa, their life cycle, economic importance, and potential for control. In: Singh, S. R. and Rachie, K. (Eds.), *Cowpea Research, Production and Utilization*. John Wiley and Sons, Chinchester. 488 PP
- Sokoviã, M. D., Glamoãlija, J. M., Marin, P. D., Brkiã, D. D., Vukojeviã, J. B., Jovanoviã, D., Bulajiã, N. and Kataranovski, D. S. 2007.** Experimentally induced dermatomycoses at rats and treatment with *Lavandula angustifolia* essential oil. *Protection of National Science*, 113: 249-254.
- Talukder, F. A. and Howse, P. E. 1994.** Repellent, toxic and food protectant effects of pithraj, dusts against the pulse beetle, *Callosobruchus chinensis* in storage. *Journal of Chemical Ecology*, 20(4): 899-908.

- Tapondjou, L. A., Adler, C., Bouda, H. and Fontem, D. A. 2002.** Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* as post-harvest grain protectants against six-stored product beetles. *Journal of Stored Products Research*, 38(4): 395-402.
- Tapondjou, L. A., Adler, C., Fontem, D. A., Bouda, H. and Reichmuth, C. 2005.** Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* du Val. *Journal of Stored Products Research*, 41: 91-102.
- Tripathi, A. K., Prajapati, V., Aggarwal, K. K. and Kumar, S. 2003.** Insecticidal and ovicidal activity of the essential oil of *Anethum sowa* Kurz against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Insect Science and its Application*, 21(1): 61-66.
- Varma, J. and Dubey, N. K. 2001.** Efficacy of essential oils of *Caesulia axillaris* and *Mentha arvensis* against some storage pests causing biodeterioration of food commodities. *International Journal of Food Microbiology*, 68: 207-210.
- Venkat Rao, S., Nuggehalli, R. N., Pingale, S. V., Swaminathan, M. and Subramanyam, V. 1960.** Effect of insect infestation on stored fieldbean (*Dolichos lablab*) and blackgram (*Phaseolus mungo*). *Food Science*, 9: 79-82.
- Zettler, J. L. 1991.** Pesticide resistance in *Tribolium castaneum* and *T. confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae) from flour mills in the United States. *Journal of Economic Entomology*, 84:763-767.
- Zettler, J. L. and Cuperus, G. W. 1990.** Pesticide resistance in *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) in wheat. *Journal of Economic Entomology*, 83:1677-1681.
- Zomorodi, A. 1991.** Sanitation of plants and agricultural products. Editor press. 620 PP

Archive of SID

Contact toxicity of *Lavandula angustifolia* Mill and *Zataria multiflora* Boiss essential oils against the adults of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Col., Bruchidae) and identification of their chemical compositions

Z. Golestani kalat¹, G. Moravej^{*2}

1- MSc student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

2- Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

Abstract

In last decades, many researches have been done on use of botanical compound especially essential oils as insecticides. In the present study, the contact toxicity of *Lavandula angustifolia* and *Zataria multiflora* essential oils was evaluated on both sexes of *C. maculatus* adults at 29±1°C, 60±5% RH in dark condition. Essential oils were obtained by hydro distillation. The toxicity of both oils against males and females was positively and significantly associated with concentration. On the basis of LC₅₀ ratios and their 95% confidence limits, there was no significant difference between sensitivity of males and females. The LC₅₀ values for males were 719 and 598 µl.m⁻² and for females were 787 and 738 µl.m⁻² for *L. angustifolia* and *Z. multiflora*, respectively. Both essential oils had no negative effect on seed germination of the cowpea. The essential oils analysis by GC-MS showed that the main compounds of *L. angustifolia* oil were linalool (42.8%), 1,8-cineol (23.4%), rosefuran epoxide (14%), menthone (6.8%), isomenthol (5.2%) and dihydro carvone (trans) (4.3%) and those of *Z. multiflora* oil were thymol (55%), linalool (37.8%) and *p*-cymene (7.2%). The results suggested that *L. angustifolia* and *Z. multiflora* essential oils might be suitable alternatives to conventional pesticides for protecting pulses against *C. maculatus* adult.

Key words: Essential oils, *Lavandula angustifolia*, *Zataria multiflora*, Contact toxicity, seed germination

*Corresponding Author, E-mail: Moravej@ferdowsi.um.ac.ir

Received: 27 Aug. 2011 – Accepted: 26 Jul. 2012