

سمیت تنفسی اسانس اکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulensis*)
و بطری شور (*Callistemon viminalis*)
روی شیشه آرد (*Tribolium confusum*)

فاطمه حمزه‌وی^۱، سعید محرمی‌پور^{۲*} و علی اصغر طالبی^۳
۱، ۲، ۳. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیاران دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس، تهران
(تاریخ دریافت: ۹۰/۲/۱۵ - تاریخ تصویب: ۹۰/۱۰/۱۴)

چکیده

در این پژوهش سمیت تنفسی اسانس برگ گیاهان اکالیپتوس *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. و بطری شور *Callistemon viminalis* (Gaertn) روی حشرات کامل ۱ تا ۳ روزه شیشه آرد *Tribolium confusum* Jacquelin du Val. در ظروف خالی و در ظروف محتوی گندم و همچنین روی لاروهای ۵ و ۲۰ روزه آن بررسی شد. اسانس گیاهان با استفاده از دستگاه کلونجر به روش تقطیر با آب استخراج شد. آزمایش‌ها در دمای 27 ± 1 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی 60 ± 5 درصد و در تاریکی انجام شدند. نتایج آزمایش‌ها حاکی از آن بود که با افزایش غلظت اسانس و زمان اسانس‌دهی مرگ‌ومیر افزایش می‌یابد. غلظت کشنده ۵۰ درصد روی حشرات کامل برای اسانس اکالیپتوس ۲۰/۸۸ و برای اسانس بطری‌شور ۲۰/۰۶ میکرولیتر بر لیتر هوا به دست آمد که اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. LT_{50} حشرات کامل در غلظت‌های ۳۵/۷۱، ۳۲/۱۴، ۲۸/۵۷ و ۲۵ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس اکالیپتوس به ترتیب برابر با ۱۳/۳۹، ۱۴/۳۵، ۱۴/۱۴ و ۱۵/۵۹ ساعت محاسبه شد، در صورتی که برای اسانس بطری‌شور در همین غلظت‌ها برابر با ۱۰/۷۲، ۱۱/۶۹، ۱۴/۴۶ و ۱۷/۵۷ ساعت به دست آمد. لاروهای ۵ روزه نسبت به حشرات کامل و حشرات کامل از لاروهای ۲۰ روزه حساسیت بیشتری به اسانس‌های به کار رفته نشان دادند. غلظت کشنده ۵۰ درصد (LC_{50}) در توده محصول برای اسانس اکالیپتوس و بطری‌شور به ترتیب ۸۷۵/۵۰ و ۷۴۱/۲۷ میکرولیتر بر لیتر هوا به دست آمدند که افزایش مقدار LC_{50} در توده گندم احتمالاً به دلیل جذب مقدار قابل توجهی از اسانس توسط گندم بوده و یا اینکه قدرت نفوذ اسانس در توده کم بوده است.

واژه‌های کلیدی: سمیت تنفسی، *Eucalyptus camaldulensis*، *Tribolium confusum*، *Callistemon viminalis*

مقدمه

استفاده فراوان از سموم تدخینی برای کنترل آفات انباری است، به طوری که بیشتر از ۷۰ درصد فسفین تولیدی در انبارهای گندم مصرف شده است (Mueller)

سهولت کاربرد، صرفه اقتصادی، نفوذ آسان در توده محصول و اثر روی طیف وسیع آفات از جمله دلایل

متعدد از جمله استفاده از چوب، کاربرد زینتی، جذب زنبورعسل و تولید روغن‌های فرار به صورت انبوه در ایران کشت می‌شوند. پس با فراهم بودن منبع گیاهی فراوان، ارزان و در دسترس جنگل‌های اکالیپتوس و بطری‌شور استفاده از پتانسیل حشره‌کشی این گیاهان امکان‌پذیر بوده و از نظر اقتصادی توجیه‌پذیر خواهد بود. اسانس این گیاهان از هزاران سال قبل به عنوان قارچ‌کش، باکتری‌کش و ضدعفونی‌کننده در طبیعت شناخته شده و در صنعت و داروسازی نیز مصارف متعددی دارد. با توجه به این که اسانس‌ها در طبیعت زودتر تجزیه می‌شوند و سمیت کمتری برای انسان و سایر پستانداران دارند پس اثرات مخرب کمتری نسبت به سموم شیمیایی در محیط زیست بر جای می‌گذارند (Isman, 2000).

هدف از این تحقیق بررسی سمیت تنفسی اسانس برگ گیاهان اکالیپتوس و بطری‌شور روی شپشه آرد *T. confusum* می‌باشد که علاوه بر انجام آن به روش متداول (ظروف خالی) در ظروف محتوی گندم هم انجام شد. بنابراین در تحقیق حاضر بررسی اثرات حشره‌کشی اسانس‌ها در توده طبیعی محصول مورد توجه قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه

در اواسط شهریور ۱۳۸۸ برگ اکالیپتوس *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. از شاخه‌های ۱-۲ ساله از منطقه سیستان واقع در چاه نیمه و برگ بطری‌شور *Callistemon viminalis* (Gaertn) از شهرک نمک‌آبرود استان مازندران در مرحله گلدهی جمع‌آوری شد. سپس در شرایط سایه با تهویه مناسب خشک شده و در پاکت‌های کاغذی بسته‌بندی و در مکانی تاریک نگهداری شدند و گونه آنها با کمک متخصص گیاهشناسی شناسایی گردید.

پرورش حشرات

شپشه آرد *T. confusum* روی آرد گندم مخلوط با مخمر به نسبت ۱۰ به ۱ در شرایط دمایی 27 ± 1 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی 60 ± 5 درصد و تاریکی در

(1990). استفاده از متیل بروماید و فسفین به دلیل خطرات جبران‌ناپذیری که برای انسان و محیط زیست دارند محدود شده است. متیل بروماید باعث تخریب لایه اوزون می‌شود که طبق برنامه ریزی نهمین تفاهم‌نامه ۱۹۹۷ در کشورهای پیشرفته از سال ۲۰۰۵ متوقف شده و در کشورهای در حال توسعه تا سال ۲۰۱۵ مصرف این گاز سمی باید متوقف شود (Haque et al., 2000). با کاهش اثر بخشی فسفین به دلیل بروز مقاومت حشرات، استفاده از آن هم محدود خواهد شد (Meaklim, 1998). با افزایش شواهد در مورد اثرات زیان‌آور آفت‌کش‌ها برای سلامت محیط زیست، لزوم استفاده از روش‌های ایمن و کم خطر در مدیریت آفات آشکار می‌شود. (Field, 1999). Weave & Subramanyam (2000) استفاده از مواد معطر گیاهی در انبارهای گندم را برای کنترل آفات انباری پیشنهاد کردند. منوترپن‌های فرار یا اسانس‌های گیاهی استراتژی مهم دفاعی گیاهان در مقابل گیاه خوارها، حشرات آفت و پاتوژن‌های قارچی هستند (Langenheim, 1994). نتایج تحقیقات صورت گرفته مؤید این مطلب است که اسانس‌ها و ترکیبات آنها با داشتن خواص حشره‌کشی، دورکنندگی و ضدتغذیه‌ای می‌توانند به عنوان جایگزین و یا مکمل حشره‌کش‌های شیمیایی جهت حفاظت محصولات کشاورزی و انباری از جمله غلات در آینده نزدیک به کار روند (Shayya et Negahban & al., 1991; Singh et al., 1989) Moharramipour (2007) سمیت تنفسی اسانس سه گونه اکالیپتوس را روی شپشه آرد *Tribolium castaneum* (Herbst) بررسی کرده‌اند. Sahaf et al. (2007) سمیت تنفسی گیاه زنیان را علیه *T. castaneum* مطالعه کردند. Lee et al. (2004) سمیت تنفسی چندین گونه از خانواده Myrtaceae را در توده گندم تعیین کرده‌اند. اما با این وجود تا کنون گزارشی از خواص حشره‌کشی اسانس گیاهان مورد مطالعه در این تحقیق روی شپشه آرد Jacquelin du *Tribolium confusum* Val. در دست نمی‌باشد.

درخت اکالیپتوس و بطری‌شور از خانواده Myrtaceae و بومی استرالیا هستند که برگ‌های آنها سرشار از غده‌های حاوی اسانس است و به علت مصارف

بررسی سرعت مرگ‌ومیر حشرات کامل

با توجه به این که برای کنترل حشرات از غلظت‌های بالا استفاده می‌شود، چهار غلظت ۲۵، ۲۸، ۳۲ و ۳۵ میکرولیتر بر لیتر هوا بالاتر از LC₅₀ انتخاب شده و برای مطالعه سرعت مرگ‌ومیر به کار رفتند. در ابتدا زمان‌هایی را که پس از گذشت آن ۲۰ تا ۸۰ درصد حشرات مورد مطالعه تلف می‌شدند مشخص کرده و سپس در این فاصله زمانی حد اقل ۵ زمان انتخاب شد. مطابق آزمایش قبلی ۱۰ حشره ۱ تا ۳ روزه در شیشه‌های ۲۸۰ میلی‌لیتری قرار داده شد. غلظت‌های ذکر شده روی کاغذ صافی که در درپوش شیشه‌ها تعبیه شده بود به کار رفت. برای جلوگیری از خروج اسانس دور درپوش شیشه‌ها نوار پارافیلیم کشیده شد. این آزمایش به طور مستقل در ۵ تکرار همراه با شاهد انجام شد. به این معنی که برای هر زمان آزمایش جداگانه‌ای انجام شد که پس از گذشت زمان مورد مطالعه در شیشه‌ها باز شده و حشرات مرده در زیر استریومیکروسکوپ شمارش شدند. حشراتی که قادر به حرکت دادن سر، پا، شاخک و شکم خود نبودند، مرده تلقی شدند.

تعیین غلظت کشنده ۵۰ درصد روی لارو

این آزمایش روی لاروهای ۵ و ۲۰ روزه شیشه آرد به طریق ذکر شده برای حشرات کامل انجام شد. غلظت‌های ۸/۹، ۱۰/۷، ۱۲/۵، ۱۴/۲۸، ۱۶/۷۸ و ۱۹/۶۴ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس اکالیپتوس و غلظت‌های ۵/۳۵، ۷/۱۴، ۸/۹۲، ۱۰/۷۱، ۱۴/۲۸ و ۱۷/۸۵ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس بطری شور روی لاروهای ۵ روزه شیشه آرد در ظروف شیشه‌ای با حجم ۲۸۰ میلی‌لیتر انجام شد. غلظت‌های ۴۰/۵۴، ۴۰/۵۴، ۷۲/۹۷، ۱۰۰، ۱۳۵/۱۳ و ۱۸۹/۱۸ از اسانس اکالیپتوس و غلظت‌های ۱۳/۵۱، ۲۱/۶۲، ۳۵/۱۳، ۵۴/۰۵، ۸۱/۰۸ و ۱۳۵/۱۳ میکرولیتر بر لیتر هوا روی لاروهای ۲۰ روزه در ظروف شیشه‌ای با حجم ۳۷ میلی‌لیتر به کار رفت.

تعیین غلظت کشنده ۵۰ درصد روی حشرات کامل در گندم

به منظور تعیین اثر گندم بر قدرت حشره‌کشی اسانس این آزمایش روی حشرات کامل شیشه آرد

دستگاه ژرمیناتور Binder 240 liter پرورش داده شدند. بعد از غنی شدن کلنی از لارو و شفیره، حشرات کامل از درون ظروف پرورش جمع‌آوری شده و حشرات کامل ظاهر شده با طول عمر ۱ تا ۳ روز برای آزمایش استفاده شدند.

استخراج اسانس

جهت تهیه اسانس هر بار ۵۰ گرم نمونه برگ خرد شده همراه با ۶۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به درون بالن ریخته شد و با کمک دستگاه اسانس‌گیر شیشه‌ای Clevenger در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس به مدت ۴ ساعت اسانس گیری شد. اسانس به دست آمده توسط سولفات سدیم آگیری شد و تا زمان استفاده در میکروتیوب‌هایی به حجم ۲ میلی‌لیتر که با فویل آلومینیومی پوشیده شده بود، در یخچال نگهداری گردید.

آزمون‌های زیست‌سنجی

تعیین غلظت کشنده ۵۰ درصد روی حشرات کامل

به منظور تعیین سمیت تنفسی روی حشرات کامل بر اساس روش Robertson *et al.* (2007) ابتدا طی آزمایش‌های مقدماتی غلظت‌های مؤثر اسانس برای مرگ‌ومیر ۲۰ تا ۸۰ درصد حشرات تیمار شده به دست آمد. آزمون‌ها در ظروف شیشه‌ای با حجم ۲۸۰ میلی‌لیتر انجام شد. ۱۰ حشره هم سن در هر شیشه رهاسازی شد. غلظت‌های ۱۴/۲۸، ۱۶/۰۷، ۱۷/۸۵، ۱۹/۶۴، ۲۱/۴۲، ۲۳/۲۱، ۲۵ و ۲۸/۵۷ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس اکالیپتوس و غلظت‌های ۱۴/۲۸، ۱۶/۰۷، ۱۷/۸۵، ۲۱/۴۲، ۲۵، ۲۸/۵۷ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس بطری شور با فواصل لگاریتمی از بین غلظت‌هایی که موجب مرگ‌ومیر ۲۰ تا ۸۰ درصد حشرات مورد آزمایش شدند انتخاب گردید و با کمک سمپلر روی کاغذ صافی که در درپوش شیشه‌ها تعبیه شده بود ریخته شدند. بلافاصله در شیشه‌ها بسته شده و اطراف محل قرارگیری درپوش را با نوار پارافیلیم پوشانده تا از خروج اسانس به بیرون جلوگیری شود. پس از ۲۴ ساعت اسانس‌دهی تعداد حشرات مرده شمارش شدند. در این آزمایش‌ها حشراتی که قادر به حرکت سر، پا، شاخک و شکم نبودند مرده تلقی شدند. این آزمایش در ۵ تکرار همراه با شاهد انجام شد.

طراحی شد. از شیشه‌های با حجم ۲۸۰ میلی‌لیتر که محتوی ۹۴ گرم گندم (با ۸ درصد رطوبت) بود استفاده گردید، به طوری که ۴۰ درصد حجم شیشه (بر اساس چگالی) از گندم پر شد. به هر ظرف ۲۰ حشره اضافه شد. یک ساعت پس از استقرار حشره در گندم، غلظت‌های ۵۳۵/۷۱، ۷۱۴/۲۸، ۸۹۲/۸۵، ۱۱۷۸/۵۷، ۱۵۳۵/۷۱، ۱۹۶۴/۲۸ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس اکالیپتوس و غلظت‌های ۱۷۸/۵۷، ۲۸۵/۷۱، ۴۶۴/۲۸، ۷۱۴/۲۸، ۱۱۴۲/۸۵ و ۱۷۸۵/۷۱ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس بطری‌شور، که با فاصله لگاریتمی از بین غلظت‌های مؤثر روی در مرگومیر ۲۰ تا ۸۰ درصد حشرات مورد آزمایش انتخاب شده بودند روی کاغذ صافی تعبیه شده در درپوش شیشه‌ها، به کار رفتند. این آزمایش در ۳ تکرار انجام شد و پس از ۴۸ ساعت اسانس‌دهی حشرات از گندم خارج شدند. حشرات مرده شمارش شده و ۲۴ ساعت بعد دوباره نیز مرگومیر ارزیابی شد. کلیه آزمایش‌ها در شرایط دمایی 27 ± 1 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی 60 ± 5 درصد و در تاریکی انجام شد. مقادیر LC_{50} و LT_{50} در آزمایش‌های صورت گرفته با استفاده از نرم‌افزار SAS 6.12 به روش Finney (1971) محاسبه شد.

نتایج

برآورد غلظت کشنده ۵۰ درصد روی حشرات کامل

در تیمارهای صورت گرفته با اسانس روی حشرات کامل، بعد از اندک زمانی باعث ایجاد علائمی آشکار همچون افزایش فعالیت، تحرک، تشنج، لرزش و تکان‌های ناشی از فلج شدن که در نهایت به مرگ حشره منجر می‌شود. LC_{50} برای اسانس اکالیپتوس و بطری‌شور به ترتیب برابر با ۲۰/۸۸ و ۲۰/۲۱ میکرولیتر بر لیتر هوا به دست آمد (جدول ۱). با در نظر گرفتن سمیت نسبی LC_{50} ‌های برآورد شده می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که هر دو اسانس اثر یکسانی روی شیشه آرد داشته‌اند.

برآورد LT_{50} روی حشرات کامل

LT_{50} غلظت‌های ۳۵، ۳۲، ۲۸ و ۲۵ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس اکالیپتوس به ترتیب برابر با ۱۳/۳۹،

برآورد غلظت کشنده ۵۰ درصد روی لارو

نتایج به دست آمده از این آزمایش نشان می‌دهد که با افزایش سن لاروی شیشه آرد، میزان تحمل آن به اسانس افزایش می‌یابد. مقادیر به دست آمده برای غلظت کشنده ۵۰ درصد برای لارو ۵ روزه تحت تأثیر اسانس اکالیپتوس برابر با ۱۳/۶۱ و برای اسانس بطری‌شور ۱۰/۱۰ میکرولیتر بر لیتر هوا به دست آمد. لارو ۲۰ روزه تحمل بیشتری در مقابل اسانس از خود نشان داده به طوری که LC_{50} آن برای اسانس اکالیپتوس برابر ۶۳/۵۳ و برای اسانس بطری‌شور ۵۰/۰۰ میکرولیتر بر لیتر هوا به دست آمده است (جدول ۲). سمیت نسبی محاسبه برای شده برای لارو ۵ روزه سمیت بیشتر اسانس بطری‌شور را نسبت به اسانس اکالیپتوس نشان می‌دهد و روی لارو ۲۰ روزه اگرچه سمیت اسانس بطری‌شور بیشتر بود اما اختلاف آنها معنی‌دار نبود.

غلظت کشنده ۵۰ درصد روی حشرات کامل در توده

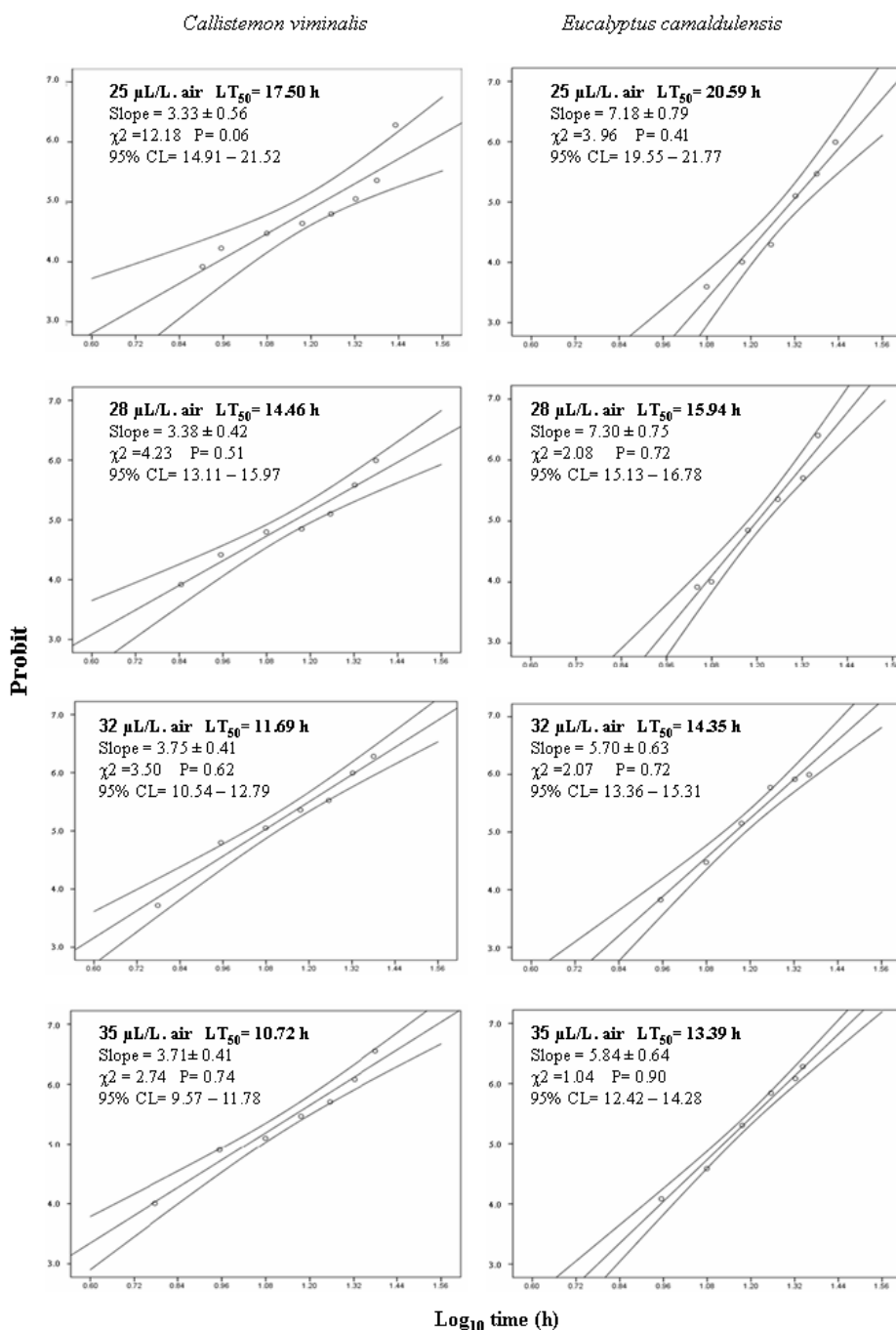
محصول

نتایج حاصل از این آزمایش نشان می‌دهد که با کاربرد اسانس در توده محصول گندم، مقدار زیادی از اسانس جذب محصول شده و حشره در پناه آن ایمن می‌ماند. LC_{50} به دست آمده برای اسانس اکالیپتوس ۸۷۸/۵۰ و برای بطری‌شور ۷۴۱/۲۷ میکرولیتر بر لیتر هوا به دست آمد، که اگرچه سمیت اسانس بطری‌شور بیشتر بود (شکل ۲)، در بررسی سمیت نسبی اختلاف معنی‌داری در حدود اطمینان ۹۵ درصد آنها مشاهده نشد (جدول ۴).

جدول ۱- مقادیر LC₅₀ محاسبه شده در سمیت تنفسی اسانس اکالیپتوس و بطری شور روی حشرات کامل شپشه آرد

اسانس	تعداد	χ^2 (d f)	p-value	شیب ± خطای استاندارد	LC ₅₀ (μl/l air) (حدود اطمینان ۹۵ درصد)	LC ₉₀ (μl/l air) (حدود اطمینان ۹۵ درصد)	سمیت نسبی ^۱ (حدود اطمینان ۹۵ درصد)
اکالیپتوس	۴۰۰	۷/۲۳ (۶)	۰/۳۰۰	۷/۰۲ ± ۰/۷۸	۲۰/۸۸ (۱۹/۹۹-۲۱/۸۶)	۳۱/۷۹ (۲۹/۰۹-۳۶/۳۱)	۰/۹۶ (۰/۸۷-۱/۰۵)
بطری شور	۲۵۰	۱/۶۵ (۵)	۰/۸۹۵	۶/۰۱ ± ۰/۶۵	۲۰/۰۶ (۱۸/۹۱-۲۱/۲۱)	۳۲/۷۹ (۲۹/۸۲-۳۷/۶)	

۱- سمیت نسبی یا (Relative toxicity) LC₅₀ اسانس بطری شور بر LC₅₀ اسانس اکالیپتوس می‌باشد.



شکل ۱- پروبیت سرعت مرگ و میر شپشه آرد (*T. confusum*) در غلظت‌های مختلف اسانس اکالیپتوس (*E. camaldulensis*) و بطری شور (*C. viminalis*)

جدول ۲- مقادیر LC₅₀ محاسبه شده در سمیت تنفسی اسانس اکالیپتوس و بطری شور روی لارو شپشه آرد

اسانس	طول عمر لارو	تعداد	χ^2 (d f)	p-value	شیب \pm خطای استاندارد	LC ₅₀ (μ l/l air) (حدود اطمینان ۹۵٪)	LC ₉₀ (μ l/l air) (حدود اطمینان ۹۵٪)	سمیت نسبی ^۱ (حدود اطمینان ۹۵٪)
اکالیپتوس	لارو ۵ روزه	۳۰۰	(۴) ۰/۹۲	۰/۹۲۱	۵/۹۱ \pm ۰/۷۳	۱۳/۶۱ (۱۲/۸۰-۱۴/۴۹)	۲۲/۴۲ (۲۰/۰۰-۲۶/۹۲)	۰/۷۳ (۰/۶۲-۰/۸۴)
بطری شور	لارو ۵ روزه	۳۰۰	(۴) ۳/۴۳	۰/۴۸۸	۴/۰۶ \pm ۰/۴۹	۱۰/۱۰ (۹/۲۴-۱۱/۰۷)	۲۰/۸۸ (۱۷/۷۵-۲۶/۷۸)	
اکالیپتوس	لارو ۲۰ روزه	۳۰۰	(۴) ۷/۰۶	۰/۱۳۳	۲/۶۱ \pm ۰/۳۶	۶۳/۵۳ (۵۳/۲۲-۷۲/۹۷)	۱۹۷/۱۴ (۱۵۷/۲۱-۲۸۵/۷۸)	۰/۸۲ (۰/۶۰-۱/۰۶)
بطری شور	لارو ۲۰ روزه	۳۰۰	(۴) ۲/۳۸	۰/۶۶۵	۱/۸۹ \pm ۰/۲۴	۵۰/۰۰ (۴۱/۴۸-۶۱/۲۸)	۲۳۸/۶۱ (۱۶۳/۲۷-۴۳۹/۵۸)	

۱- سمیت نسبی یا (Relative toxicity) LC₅₀ اسانس بطری شور بر LC₅₀ اسانس اکالیپتوس می باشد.

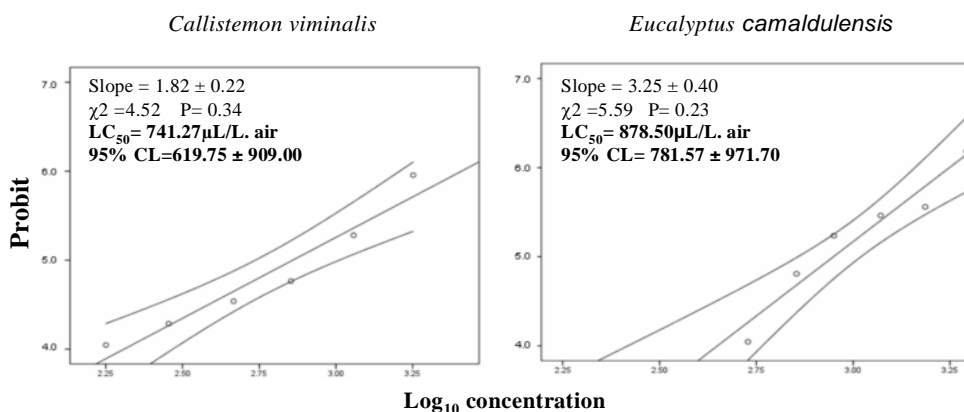
جدول ۳- سمیت نسبی (Relative toxicity) و حدود اطمینان ۹۵ درصد LT₅₀

اسانس های اکالیپتوس و بطری شور روی شپشه آرد

تیمار	سمیت نسبی	حدود اطمینان ۹۵ درصد
A _{Ca} : A _{Eu}	۰/۸۰	(۰/۷۰ \pm ۰/۹۱) *
B _{Ca} : B _{Eu}	۰/۹۱	(۰/۸۰ \pm ۱/۰۱)
C _{Ca} : C _{Eu}	۰/۸۵	(۰/۷۴ \pm ۰/۹۵) *
D _{Ca} : D _{Eu}	۰/۸۵	(۰/۷۵ \pm ۰/۹۶) *
A _{Eu} : B _{Eu}	۱/۲۷	(۱/۱۶ \pm ۱/۴۱) *
B _{Eu} : C _{Eu}	۱/۰۸	(۰/۹۹ \pm ۱/۱۷) *
C _{Eu} : D _{Eu}	۱/۰۷	(۰/۹۸ \pm ۱/۱۸)
A _{Eu} : C _{Eu}	۱/۴۳	(۱/۲۸ \pm ۱/۶۴) *
B _{Eu} : D _{Eu}	۱/۱۷	(۱/۰۸ \pm ۱/۲۹) *
A _{Ca} : B _{Ca}	۱/۲۱	(۱/۰۶ \pm ۱/۴۱) *
B _{Ca} : C _{Ca}	۱/۲۱	(۱/۰۹ \pm ۱/۴۴) *
C _{Ca} : D _{Ca}	۱/۰۸	(۰/۹۵ \pm ۱/۲۴)
A _{Ca} : C _{Ca}	۱/۵۰	(۱/۳۰ \pm ۱/۷۹) *
B _{Ca} : D _{Ca}	۱/۳۵	(۱/۱۸ \pm ۱/۵۹) *

A: 25(μ l/l air), B: 28(μ l/l air), C: 32(μ l/l air), D: 35(μ l/l air),
Eu: Eucalyptus, Ca: Callistemon

* وجود اختلاف معنی دار.



شکل ۲- پروبیت مرگ و میر شپشه آرد (*T. confusum*) در توده محصول گندم توسط اسانس اکالیپتوس (*E. camaldulensis*) و بطری شور (*C. viminalis*)

جدول ۴- سمیت نسبی (Relative toxicity) و حدود اطمینان ۹۵ درصد اسانس بطری‌شور براکالیپتوس روی حشرات کامل شپشه آرد در توده محصول

گونه حشره	نسبت LC_{50} (Relative toxicity)	
	حدود اطمینان	LC_{50} اسانس اکالیپتوس
شپشه آرد	۰/۸۷	۰/۶۲ - ۱/۱۳

بحث

جثه بزرگ تر، وزن بیشتر بدن، میزان اجسام چربی و فعالیت بالای آنزیم‌های سم‌زدا، عوامل کلیدی در متحمل بودن حشرات به سموم هستند (Javvi *et al.*, 2005). با توجه به این مطلب، می‌توان تحمل بیشتر لارو ۲۰ روزه را در مقایسه با لارو ۵ روزه و حشره کامل در مقابل اسانس‌های اکالیپتوس و بطری‌شور به عوامل فوق نسبت داد. Mondal & Khalequzzaman (2010) سمیت تنفسی و تماسی چهار ترکیب از اسانس‌های گیاهی به نام‌های ترانس آنتول، تیمول، اوژنول و سینامالدهید را روی لارو ۱۰ روزه، ۱۸ روزه و حشره کامل *T. castaneum* آزمایش کرده و نتیجه گرفتند که لارو ۱۰ روزه و بعد از آن حشره کامل حساسیت بیشتری به اسانس‌ها داشتند و اما لارو ۱۸ روزه مقاوم‌تر از بقیه مراحل بوده است. با کاربرد اسانس در توده محصول نکته قابل توجه، افزایش غلظت کشنده ۵۰ درصد اسانس در توده نسبت به ظروف عاری از گندم است که نشان می‌دهد اسانس به شدت جذب گندم شده و یا نمی‌تواند در فضای بین دانه‌های گندم نفوذ کافی داشته باشد، البته در این تحقیق اسانس با توده محصول انباری مخلوط نشده و فقط در بالای محصول قرار گرفته بود تا سمیت تنفسی اسانس بدون تماس با حشره و از سطح بالای محصول بررسی شود. اما در صورتی که اسانس با توده محصول انباری مخلوط می‌گردید امکان دسترسی اسانس به حشره بیشتر فراهم شده و ممکن بود درصد مرگ‌ومیر افزایش یافته و یا مقدار LC_{50} کاهش یابد.

در تحقیقی Lee *et al.* (2004) با بررسی اسانس ۶ گونه از خانواده میرتاسه در توده محصول روی شپشه گندم (*T. castaneum*)، در ظروف عاری از گندم سمیت بسیار بالایی دست یافتند و در توده کاهش چشم‌گیری در سمیت اسانس‌ها مشاهده کردند. به عنوان مثال برای اسانس گیاه *Eucalyptus nicholii* با داشتن ۸۴ درصد ۸۰۱ سینئول مقدار اسانس مورد نیاز برای کنترل شپشه

براساس نتایجی که از زیست‌سنجی و سمیت حشرات مورد مطالعه از دو اسانس به دست آمد و با توجه به محاسبه سمیت نسبی مشخص شد که سمیت دو اسانس به هم نزدیک بوده و در بسیاری موارد اسانس بطری‌شور اختلاف معنی‌داری با اسانس اکالیپتوس نداشته است. ترکیبات اصلی اسانس‌ها بر اساس نتایج حاصل از GC-MS ۸۰۱ سینئول، آلفا پینن و متیل استات به ترتیب با ۶۱/۷، ۲۴/۲، ۵/۳ درصد، بیشترین فراوانی را در اسانس بطری‌شور داشته است (Srivastava *et al.*, 2003). اما در اسانس اکالیپتوس *E. camaldulensis* ۸۰۱ سینئول (۲۶/۱ درصد)، آلفا پینن (۱۲/۶ درصد) و بتا فلاندرن (۱۲/۲۶ درصد) مهمترین ترکیبات آن هستند (Sefidkon *et al.*, 2006). برای همه ترکیبات نامبرده خاصیت حشره‌کشی گزارش شده است (Batish *et al.*, 2008). اما ۸ و ۱ سینئول رایج ترین ترکیب حشره‌کش در تیره میرتاسه به شمار می‌رود. بنا به تحقیقات Lee *et al.* (2004) سمیت تنفسی اسانس *Callistemon siberi* DC. روی شپشه آرد *T. castaneum* در دمای ۲۵ درجه سلسیوس بعد از ۲۴ ساعت برابر ۱۷/۴ میکرولیتر بر لیتر هوا به دست آمده است. در بررسی Negahban & Moharramipour (2007) سمیت تنفسی اسانس *E. camaldulensis* (LC_{50}) روی شپشه آرد *T. castaneum* برابر با ۳۳/۵۰ میکرولیتر بر لیتر هوا به دست آورده‌اند که نشان‌دهنده سمیت بیشتر اسانس اکالیپتوس بر *T. confusum* نسبت به *T. castaneum* است. از آنجا که مهمترین مرحله خسارت‌زای شپشه آرد مراحل لاروی آن است، بررسی سمیت تنفسی اسانس‌ها روی مرحله لاروی ضرورت دارد. نتایج حاکی از آن است که لارو ۵ روزه حساس‌تر از لارو ۲۰ روزه و حشرات کامل است. اما لارو ۲۰ روزه از حشره کامل هم مقاومت بیشتری نشان داد. نتایج تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که فاکتورهایی از قبیل

این تحقیق نیز دلیل دیگری برای نیاز به غلظت‌های بالای اسانس برای تحت تأثیر قرار دادن این آفت در توده محصول گندم است. بر خلاف سموم تدخینی رایج، استفاده از ترکیبات اسانس‌ها در داروسازی بسیار متداول است. ۸۰۱ سینئول در تهیه شربت اسپکتورانت (شربت خلط‌آور) استفاده می‌شود (Rajaendran & Sriranjini, 2008). پس جذب اسانس توسط محصول به دلیل سابقه مصرف و اثرات دارویی آن چندان هم ایجاد نگرانی نخواهد کرد. بنابراین باید غلظت‌های مؤثر در توده، میزان جذب اسانس توسط محصول و اثر باقیمانده آن روی طعم مواد غذایی مورد توجه قرار گیرد و تحقیقات بیشتری صورت گیرد تا زمینه استفاده از اسانس‌ها برای کنترل آفات فراهم شود.

برنج *Sitophilus oryzae* L. در توده محصول تقریباً سه برابر اسانس به کار رفته در ظروف عاری از محصول بود. در تحقیقی دیگر Kostjukovski & Shaaya (1997) با به کار بردن ۵۰ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس گیاه ZP51 در ظرف محتوی ۷۰ درصد گندم بعد از گذشت ۷ روز به ۹۴ تا ۱۰۰ درصد مرگ‌ومیر روی شیشه آرد *T. castaneum*، شیشه برنج *S. oryzae*، شیشه دنداندار *Rhyzopertha* و *Oryzaephilus surinamensis* L. *dominica* F. دست یافتند و این در حالی بود که در فضای عاری از محصول با ۱/۴ تا ۴/۵ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس بعد از گذشت ۲۴ ساعت به ۹۰ درصد مرگ‌ومیر روی حشرات ذکر شده دست یافتند و شیشه آرد در بین آفات ذکر شده متحمل‌ترین آفت بود، نتیجه

REFERENCES

- Batish, D. R., Singh, H. P., Kohli, R. K. & Kaur, S. (2008). Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*, 256, 2166-2174.
- Fields, P. G. (1999) Diatomaceous earth: Advantages and limitations. In: Jin, Z., Liang, Q., Liang, Y., Tan, X. & Guan, L. (Eds). In: *Proceedings of the 7th International Conference on Stored-Product Protection*. Beijing, P. R. China, 14-19 October 1998. Sichuan Publishing House of Science and Technology, Chengdu, Sichuan Province, P. R. China, 781-784.
- Finney, D. J. (1971). *Probit analysis*. (3rd ed.). 333pp. Cambridge University Press, London.
- Haque, M. A., Nakakita, H., Ikenaga, H. & Sota, N. (2000). Development inhibiting activity of some tropical plants against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Stored Products Research*, 36, 281-287.
- Isman, M. B. (2000). Plant essential oils for pest and diseases management. *Crop Protection*, 19, 603-608.
- Javvi, E., Safar Ali zadeh, M. H. & Pourmirza, A. A. (2005). Studies on the effect of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* on different larval instars of Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say), and the role of synergists in enhancement of its efficiency under laboratory conditions. *Journal of Sciences and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 8(4), 199-199.
- Langenheim, J. H. (1994). Higher plant terpenoids: a phyto-centric overview of their ecological roles. *Journal of Chemical Ecology*, 20, 1223-1280.
- Lee, B. H., Anis, P. C. & Tumaalii, F. (2004). Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1, 8-cineole against 3 major stored-grain insects. *Journal of Stored Products Research*, 40, 553-564.
- Meaklim, J. (1998). Phosphine toxicity: are phosphine users, or the general community, at risk of adverse health effects In: H. J. Banks, E. J. Wright and K. A. Damcevski (Eds.), *Stored Grain in Australia*. In: *Proceedings of the Australia Postharvest Technical Conference*, Canberra, 119-125.
- Mondal, M. & Khalequzzaman, M. (2010). Toxicity of naturally occurring compounds of plant essential oil against *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Biological Sciences* 10, 10-17.
- Mueller, D. K. (1990). Fumigation. In: A. Mallis, (Ed.). *Handbook of Pest Control*. Franzak and Foster Co. Ohio. 901-939.
- Negahban, M. & Moharramipour, S. (2007). Fumigant toxicity of *Eucalyptus intertexta*, *Eucalyptus sargentii* and *Eucalyptus camaldulensis* against stored product beetles. *Journal of Applied Entomology*, 131(4), 256-261.
- Rajendran, S. & Sriranjini, V. (2008). Plant products as fumigants for stored-product insect control. *Journal of Stored Product Research*, 44, 126-135.
- Robertson, J. L., Russel, R. M., Perisler, H. K. & Savin, N. E. (2007). *Bioassay with Arthropods*. (2nd ed.). CRC Press 224.
- Sahaf, B., Moharramipour, S. & Meshkatsadat, M. H. (2007). Chemical constituents and fumigant toxicity of essential oil from *carum copticum* against two stored product beetles. *Insect Science*, 14, 213-

- 218.
16. Sefidkon, F., Assareh, M. H., Abravesh, Z. & Mirza, M. (2006). Chemical composition of the essential oils of five cultivated eucalyptus species in Iran; *E. intertexta*, *E. platypus*, *E. leucoxyton*, *E. sergentii* and *E. camaldulensis*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 9(3), 245-250.
 17. Shaaya, E. & M. Kostjukovski. (1997). Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. *Journal of Stored Product Research*, 33(1), 7-15.
 18. Shaaya, E., Ravid, U., Paster, N., Juven, B., Zisman, U. & Pizarrev, V. (1991). Fumigant toxicity of essential oils against four major stored- product insect. *Journal of Chemical Ecology*, 17, 499-507.
 19. Singh, D., Siddiqui, S. & Sharma, S. (1989). Reproduction retardant and fumigant properties in essential oils against rice weevil (Coleoptera: Curculionidae) in stored wheat. *Journal of Economic Entomology*, 82, 727-733.
 20. Srivastava, S. K., AteequeAhmad, K. V., Syamsunder, K. K. & Aggarwal, S. P. S. (2003). Essential oil composition of *Callistemon viminalis* leaves from India. *Flavour and Fragrance Journal*, 18, 361-363.
 21. Weaver, D. K. & Subramanyam, B. (2000). Botanicals. In: B. H. Subramanyam and D. W. Hagstrum, (Eds.). *Alternative to pesticides in stored-products IPM*. (pp. 303-320). Kluwer Academic Publisher.