نامه‌ی انجمن حشره‌شناسی ایران
۱۳۸۶ – ۲۷(۲): ۲۹-۴۱

مطالعه‌ی اثر تدخینی عصاره‌ی گیاه *Origanum vulgare* (Lamiales: Lamiaceae) در کنترل دو گونه سوسک محصولات انباری

عارف معروف[۱و*]، سیروس سنگری[۲] و لیدا جباری[۱]

۱- موسسه‌ی تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، تهران، صندوق پستی ۱۴۵۴-۱۹۳۹۵، ایران، ۲- موسسه‌ی آموزش عالی علمی کاربردی وزارت جهاد کشاورزی، تهران صندوق پستی۱۷۸۳- ۱۳۱۴۵، ایران.

*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: maroof@ppdri.ac.ir

An investigation on fumigant effect of the extract of *Origanum vulgare* (Lamiales: Lamiaceae) for control of two stored-product beetles

A. Marouf[1&*], S. Sangari[2] and L. Jabbari[1]

1. Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, P.O. Box 19395-1454, Iran, 2. Institute of Technical and Occasional Higher Education of Ministry of Jahad-e-Agriculture, Tehran, P.O. Box 13145-1783, Iran.

*Corresponding author, E-mail: maroof@ppdri.ac.ir

چکیده

به منظور ارزیابی اثر تدخینی عصاره‌ی گیاه *Origanum vulgare* L. در کنترل آفات انباری و تعیین LC_{50} و LC_{95} برای مراحل مختلف رشدی دو گونه‌ی مهم از آفات انباری شامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات (*Callosobruchus maculatus* F.) و شپشه‌ی آرد (*Tribolium confusum* J. du Val.)، این گیاه از استان‌های گیلان، مازندران و اردبیل جمع‌آوری گردید و عصاره‌ی آن با استفاده از حلال‌های متانول و دی‌کلرومتان استخراج گردید. تخم، لارو و حشره‌ی کامل هر دو گونه به مدت ۷۲ ساعت در معرض عصاره‌های دیکلرومتانی و متانولی *O. vulgare* قرار گرفت و پس از محاسبه‌ی تلفات، مقدار LC_{50} و LC_{95} محاسبه گردید. مقدار LC_{50} و LC_{95} عصاره‌ی دی‌کلرومتانی به ترتیب برابر با ۲۰۸۴/۵۱ و ۴۹۹۱/۲۴ میکرولیتر بر لیتر هوا برای حشرات کامل شپشه‌ی آرد و ۲۲۸۲/۸۰ و ۶۶۸۴/۷۱ میکرولیتر بر لیتر هوا برای حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات محاسبه شد. همچنین مقدار LC_{50} و LC_{95} عصاره‌ی متانولی برای حشرات کامل شپشه‌ی آرد به ترتیب برابر با ۱۷۲۶/۵۷ و ۵۳۹۵/۶۰ میکرولیتر بر لیتر هوا و برای حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات به ترتیب برابر با ۲۰۴۰/۸۸ و ۵۶۰۷/۷۷ میکرولیتر بر لیتر هوا بود.

واژگان کلیدی: *Origanum vulgare*، اثر تدخینی، *Callosobruchus maculatus*، *Tribolium confusum*

Abstract

Origanum vulgare L. was collected from Ardebil, Guilan and Mazandaran provinces to assess the fumigant toxicity of its extract and determine LC_{50} and LC_{95} values for different developmental stages of *Callosobruchus maculatus* F. and *Tribolium confusum* J. du Val. It was extracted by solvents including methanol and dichloromethane. Eggs, larvae and adult of both species were exposed to dichloromethane and methanol extracts of *O. vulgare* for 72 hours. LC_{50} and LC_{95} values of dichloromethane extract were calculated 2084.51 and 4991.24 µl/l air for adults of *T. cofusum*, and 2282.80 and 6684.71µl/l air for adults of *C. maculatus*, respectively. Also, LC_{50} and LC_{95} values of methanol extract were 1726.57 and 5395.60 µl/l air for adults of *T. cofusum*, and 2040.88 and 5607.77 µl/l air for adults of *C. maculatus*, respectively.

دریافت: ۱۳۸۵/۳/۳۰، پذیرش: ۱۳۸۶/۴/۱۲.

Key words: *Origanum vulgar*, fumigant toxicity, *Callosobruchus maculatus*, *Tribolum confusum*

مقدمه

در حال حاضر یکی از متداول‌ترین روش‌های کنترل آفات انباری استفاده از ترکیب‌های تدخینی نظیر متیل‌بروماید و فسفین می‌باشد. در سال ۱۹۹۲ با قرار گرفتن نام متیل‌بروماید در فهرست ترکیبات مخرب لایه‌ی ازن (Taylor, 1996)، طبق توافق‌نامه‌ی مونترال یک جدول زمانی برای محدود کردن تولید و مصرف آن در کشورهای مختلف دنیا تدوین شد که طبق مفاد این جدول باید تا سال ۲۰۱۵ میلادی تولید و مصرف متیل‌بروماید درکشورهای درحال توسعه متوقف شود (van S. Graver & Bank, 1997). ایران نیز در گروه کشورهای در حال توسعه بوده و از امضا کنندگان این پروتکل می‌باشد. با محدودیت‌های ایجاد شده در مورد متیل‌بروماید، تنها ترکیب تدخینی که از لحاظ سهولت کاربرد و دامنه‌ی تأثیر مناسب بوده و سالیان درازی است که استفاده می‌شود، و اکنون نیز به عنوان یکی از جایگزین‌های متیل‌بروماید مطرح می‌باشد، گاز فسفین است. ولی مسئله‌ای جدی که در کاربرد گسترده و نامحدود گاز فسفین در سراسر دنیا وجود دارد، افزایش مقاومت گونه‌های مختلف آفات انباری نسبت به این ترکیب است. به طوری که طبق مطالعات انجام شده‌ی FAO طی سال‌های ۱۹۷۳-۱۹۷۲، از بین نمونه‌های آفات انباری جمع‌آوری شده از ۸۲ کشور جهان، نمونه‌هایی متعلق به ۳۳ کشور نسبت به گاز فسفین مقاومت نشان دادند (Bell, 2000). هم اکنون حداقل در ۱۱ گونه از آفات انباری در ٤٥ کشور جهان مقاومت به فسفین مشاهده شده و در بعضی از نقاط دنیا به ویژه آسیا و آفریقا وجود جمعیت‌هایی با سطوح بالای مقاومت به فسفین گزارش شده است (Chaudhry, 2000).

به منظور یافتن روش‌ها و ترکیب‌های جایگزین در کنترل آفات انباری از سالیان دور تفکر استفاده از فرآورده‌های گیاهی در کنترل حشرات وجود داشته و منابع متعدد در این زمینه گواه بر این امر است. برای مثال، Marcus Portius Cato (۲۳٤-۱٤۹ قبل از میلاد) توصیه کرده است که از آمورکا[۱] (عصاره‌ی حاصل از مواد باقی مانده از روغن‌گیری زیتون) برای ضدعفونی انبارهای خالی علیه *Sitophilus granarius* L. استفاده شود و یا Plinus (۷۹-۲۳ قبل از میلاد)

۱- Amorca

روش استفاده از خاکستر و برگ له شده‌ی درخت سرو، *Cupressus* spp.، را در کنترل حشرات شرح داده است (Adler *et al*., 2000). در چند سال اخیر نیز با توجه به اهمیت مسایل زیست محیطی و درک جایگاه واقعی این مسئله، رویکردی دوباره به استفاده از ترکیب‌های گیاهی در بین محققان کشورهای مختلف دنیا ایجاد شده است، به طوری که تعدادی از محققان استفاده از ترکیب‌های گیاهی را به عنوان یکی از روش‌های جایگزین برای متیل‌بروماید و فسفین مطرح می‌کنند (Annis & Waterford, 1996; Shaaya, 1997) و تا کنون نیز مطالعات بسیاری در ارتباط با خواص حشره‌کشی فرآورده‌های گیاهی انجام شده است.

گونه‌ی *Origanum vulgare* L. یکی از گیاهانی است که در منابع به خواص حشره‌کشی عصاره‌ی آن اشاره شده است که در پی خواهد آمد. این گیاه متعلق به خانواده‌ی نعناعیان بوده و گیاهی است پایا، سبز و علفی که اغلب در اردیبهشت و خرداد ظاهر می‌شود. مناطق انتشار این گونه در ایران استان‌های گیلان و مازندران و منطقه‌ی آذربایجان است. این گونه دارای اسانس بوده که به اسانس آن Origan گفته می‌شود. این اسانس به وسیله‌ی تقطیر با بخار آب به دست می‌آید. ترپن‌های غیرحلقوی و Carvacrol از ترکیب‌های اصلی این اسانس می‌باشند (Zargari, 1997).

در یک آزمایش مقدماتی، Regnault-Roger & Hamraoui (1993) ترکیب‌های فرار چند گیاه از جمله *O. vulgare*، *Thymus vulgaris* L. و *Eucalyptus globules* Labill را برای کنترل سوسک لوبیا، *Acanthoscelides obtectus* (Say)، مورد آزمایش قرار دادند و نتیجه گرفتند که *O. vulgare* بیشترین تلفات را روی این حشره ایجاد می‌کند. Regnault-Roger & Hamraoui (1994) در یک آزمایش دیگر به این نتیجه رسیدند که عصاره آبی (حاوی ترکیب‌های معطر) *O. vulgare* و *Cymbopogon nardus* (L.) به خوبی سوسک لوبیا را کنترل می‌کنند ولی بیشترین تأثیر مربوط به *O. vulgare* است. همچنین عصاره‌ی *O. vulgare* با دز ۱۵۰ میکرولیتر برای ۵۵ گرم دانه‌ی لوبیا داخل پتری دیش، به صورت تدخینی توانسته است موجب تلفات قابل توجه تخم و حشرات کامل *A. obtectus* شود (Baricevic *et al*., 2001).

در یک بررسی، Shaaya *et al*. (1991) نقش تدخینی چند عصاره‌ی گیاهی را علیه *Sitophilus oryzae* (L.)، *Rhyzopertha dominica* (F.)، *Oryzaephilus surinamensis* (L.) و

Tribolium castaneum (Hbst.) مورد مطالعه قرار داده و اعلام کردند که عصاره‌ی گیاهانی نظیر گونه‌هایی از جنس‌های *Origanum*، *Ocimum* و *Thymus* که حاوی ترکیب‌های Linalool، Alpha-terpineol و Carvacrol می‌باشند، در کنترل *O. surinamensis* مؤثر هستند. در همین ارتباط، Bernath (1997) به نقش و اهمیت *O. vulgare* و سایر گونه‌های جنس *Origanum* در حشره‌کشی، نماتدکشی و قارچ‌کشی اشاره می‌کند. Papachristos & Stamopoulus (2002) اشاره می‌کنند که عصاره‌های چند نوع گیاه از جمله *Mentha microphylla* C. Kock، *Mentha viridis* L.، *Rosmarinus officinalis* L. و *O. vulgare* اثر سمیت شدیدی روی *A. obtectus* نشان داده‌اند که در این میان حشرات نر حساس‌تر بوده و روغن *M. microphylla* و *M. viridis* مؤثرترین ترکیب‌ها می باشند.

مواد و روش‌ها

این تحقیق درچهار مرحله انجام شد: (۱) نمونه‌برداری، جمع‌آوری و شناسایی گیاه، (۲) عصاره‌گیری، (۳) پرورش حشرات و (۴) بررسی اثر تدخینی عصاره‌های مختلف *O. vulgare* روی مراحل رشدی آفات.

- نمونه‌برداری، جمع‌آوری و شناسایی گیاه

نمونه برداری از استان‌های گیلان و مازندران و اردبیل (شامل شهرستان‌های لنگرود، کلاردشت و کیلومتر ۱۰ جاده اردبیل به آستارا) در مرداد ماه زمانی که گیاه در مرحله‌ی گل‌دهی بود انجام شد و بخش‌های ساقه و برگ گیاه برای نمونه‌برداری انتخاب گردید. شناسایی گیاه در بخش تحقیقات رستنی‌های موسسه‌ی تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور انجام گرفت. نمونه‌های جمع‌آوری شده کاملاً با آب شستشو داده شده و روی یک لایه‌ی نازک کاغذ خشک‌کن در سایه قرار گرفتند تا خشک شدند. پس از خشک شدن نمونه‌ها، تا زمان عصاره‌گیری، در کیسه‌های پلاستیکی در بسته داخل یخچال در دمای ٦-٥ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند.

- عصاره‌گیری

برای عصاره‌گیری، مقدار ۵۰ گرم از پودر خشک برگ و ساقه‌ی گیاه با حجم معینی (۲۵۰ میلی‌لیتر) از هر یک از حلال‌های متانول و دی‌کلرومتان به طور جداگانه مخلوط و توسط دستگاه هموژنایزر، یکنواخت شد. محلول رویی حاصل، پس از عبور از صافی در یک بالن نگهداری گردید. این کار برای هر یک از حلال‌ها با همان حجم، جداگانه سه بارتکرار شد و در هر مرحله محلول صاف شده به محلول قبلی اضافه گردید. سپس حلال هر یک از عصاره‌های تهیه شده توسط دستگاه تقطیر در خلاء گردشی[۱] تبخیر گردید و عصاره‌ی حاصل به صورت ماده‌ی تغلیظ شده به دست آمد، به نحوی که هر میلی‌لیتر از عصاره‌ی به دست آمده حاوی ۳ گرم از پودر گیاه بود.

- پرورش حشرات

دو گونه آفت انباری مهم شامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات (*C. maculatus*) و شپشه‌ی آرد (*T. confusum*) برای آزمایش‌ها در نظر گرفته شد. سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات از بندرعباس جمع‌آوری گردید و شپشه‌ی آرد نیز از محیط پرورش انبوه این حشره که مدت سه سال در آزمایشگاه تحقیقات آفات انباری بخش تحقیقات حشره‌شناسی کشاورزی موسسه وجود داشت و مبدا آن کارخانه‌ی آرد البرز شهرستان کرج بود به دست آمد. برای پرورش سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات، از لوبیا چشم‌بلبلی به عنوان ماده‌ی غذایی استفاده شد و ظروف پرورش در انکوباتور بدون روشنایی با دمای ۱ ± ۲۹ درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵ ± ٦۰ درصد قرار گرفتند. برای تهیه‌ی جمعیت هم سن از آفت به منظور انجام آزمایش‌ها، تعداد ۱۰۰ عدد حشره‌ی مخلوط نر و ماده روی محیط غذایی لوبیا چشم بلبلی رهاسازی شد و بعد از گذشت ۲٤ ساعت، حشرات کامل از روی محیط غذایی جمع‌آوری گردید و ظرف محتوی دانه‌های تخم‌گذاری شده در انکوباتور با شرایط دمایی و رطوبتی مذکور قرار گرفت. برای ادامه‌ی آزمایش‌ها از همین روش برای تهیه‌ی جمعیت هم سن استفاده شد. شپشه‌های آرد روی محیط غذایی شامل ۱۲ قسمت آرد کامل گندم به همراه یک قسمت سبوس گندم در

۱- Rotary evaporator

انکوباتور بدون روشنایی با شرایط دمایی و رطوبت نسبی فوق پرورش داده می‌شدند. برای یکسان‌سازی سن شپشه‌های آرد، از رهاسازی حشرات کامل به مدت ٢٤ ساعت روی محیط غذایی آرد و سپس حذف حشرات کامل استفاده شد.

- بررسی اثر تدخینی عصاره‌های مختلف *O. vulgare* روی مراحل رشدی آفات

برای به دست آوردن LC_{50} و LC_{95} هر یک از عصاره‌ها روی مراحل مختلف رشدی دو آفت مذکور، ابتدا آزمایش‌های مقدماتی برای تعیین دزهای حداکثر و حداقل انجام شد. از بین عصاره‌های ذکر شده در بالا، دزهای ٥٠٠ تا ٦٠٠٠ میکرولیتر بر لیتر هوا از عصاره‌های دی‌کلرومتانی و متانولی ***Origanum*** برای حشرات کامل شپشه‌ی‌آرد و سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات و نیز لاروهای شپشه‌ی آرد، و دزهای ١٠٠٠ تا ٨٠٠٠ میکرولیتر بر لیتر هوا از همان عصاره‌ها برای لاروهای سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات و تخم‌های هر دو گونه آفت به عنوان دزهای حداقل و حداکثر برای آزمایش‌های نهایی انتخاب شدند. برای هر یک از مراحل رشدی آفات و هر یک از عصاره‌ها، بین دز حداقل و حداکثر، ٨ دز با فواصل لگاریتمی به شرح زیر انتخاب شد: دزهای ٥٠٠، ٧٥٩، ١٠١٧، ١٥١٤، ٢١٣٨، ٣٠٢٠، ٤٢٦٦ و ٦٠٠٠ میکرولیتر بر لیتر هوا برای حشرات کامل شپشه‌ی آرد و سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات و نیز لاروهای شپشه‌ی آرد، و دزهای ١٠٠٠، ١٣١٨، ١٧٧٨، ٢٣٩٩، ٣٢٣٦، ٤٣٦٥، ٥٨٨٨ و ٨٠٠٠ میکرولیتر بر لیتر هوا برای لاروهای سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات و تخم‌های هر دو گونه آفت انباری.

برای بررسی اثر تدخینی عصاره‌ها از روش پیشنهادی Huang (2000) استفاده شد؛ بدین ترتیب که ظروف استوانه‌ای شیشه‌ای در دار به قطر ٦/٥ و ارتفاع ٥ سانتی‌متر انتخاب گردید. داخل در هر یک از شیشه‌ها یک قطعه کاغذ صافی (واتمن شماره ٤٠) به مساحت ٣ سانتی‌مترمربع چسبانده شد و درها مدتی در هوای آزاد قرار گرفتند تا بوی چسب کاملاً برطرف شود. سپس با استفاده از میکروپیپت، دزهای مورد نظر از عصاره‌ها به کاغذ صافی اضافه شدو برای تیمار شاهد حلال خالی مورد استفاده قرار گرفت.

سن حشرات کامل مورد آزمایش ١ تا ٢ روز، لاروها ٨ تا ١٠ روز و تخم‌ها ١ تا ٢ روز بود. برای آزمایش عصاره‌های دی‌کلرومتانی و متانولی، به ترتیب تعداد ٣٠ و ٤٠ عدد از هر

یک از مراحل مختلف رشدی دو گونه آفت مذکور داخل شیشه‌های استوانه‌ای به عنوان واحدهای آزمایشی ریخته و سپس درِ آنها که دارای کاغذ صافی آغشته به عصاره بود، بسته شد. برای جلوگیری از خروج احتمالی بخار عصاره‌ها، دور درها با نوار پارافیلم مسدود گردید. واحدهای آزمایشی (ظروف شیشه‌ای) داخل انکوباتور با دمای ۱ ± ۲۹ درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۱۰ ± ٦۰ درصد و بدون روشنایی قرارگرفتند. مدت زمان فومیگاسیون ۷۲ ساعت در نظر گرفته شد. بعد از گذشت این زمان، درِ ظرف‌ها باز شد و تعداد تلفات حشرات کامل شمارش گردید. به منظور اطمینان از مرگ حشرات کامل، هر یک از آنها سه مرتبه با نوک سوزن داغ تحریک و در صورت عدم بروز عکس العمل مرده محسوب می‌شدند. برای مرحله‌ی لاروی شپشه‌ی آرد نیز به همین ترتیب عمل شد، ولی برای مرحله‌ی لاروی سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات، دانه‌های محتوی لارو با استفاده از اسکالپل یک به یک باز شدند و زنده یا مرده بودن لارو ثبت گردید. همچنین، تیمارهای مربوط به تخم‌های شپشه‌ی آرد و سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات پس از باز کردن درِ ظرف‌ها و خارج کردن از ظروف شیشه‌ای، در انکوباتور با شرایط دمایی و رطوبتی فوق قرار داده شدند. بعد از گذشت ۱۰ روز نسبت به شمارش لارو حاصل از این تخم‌ها اقدام و میزان تلفات بر مبنای درصد تفریخ تخم‌ها محاسبه گردید. در مواردی که تلفات شاهد ۵٪ و یا بیش از آن بود، رابطه‌ی Abbott (1925) برای تعیین درصد تلفات اصلاح شده مورد استفاده قرار گرفت. آزمایش‌ها در سه تکرار انجام و محاسبه‌ی پروبیت درصد تلفات و معادله‌ی خط رگرسیون برای تعیین LC_{50} و LC_{95} با استفاده از نرم افزار StatsDirect (2005) انجام شد.

همچنین به منظور مقایسه‌ی کارایی عصاره‌ها در ایجاد تلفات روی مراحل مختلف رشدی شپشه‌ی آرد و سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات، میانگین تلفات مراحل مختلف رشدی هر دو آفت در اثر عصاره‌ی دیکلرومتانی و متانولی به صورت دو به دو با یکدیگر مقایسه شد. دز انتخابی برای مقایسه‌ی میانگین درصد تلفات، نزدیکترین دز به LC_{50} محاسبه شده برای هر مرحله‌ی رشدی در نظر گرفته شد (با استفاده از جدول‌های ۱ تا ٤). برای مثال، در مرحله‌ی رشدی حشره‌ی کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات، دز ۲۱۳۸ میکرولیتر بر لیتر هوا از هر دو عصاره برای مقایسه‌ی میانگین درصد تلفات در نظر گرفته شد.

نتایج

مقادیر LC_{50} حاصل از تأثیر هشت دز عصاره‌ی دی‌کلرومتانی *O. vulgare* روی مراحل مختلف رشدی شپشه‌ی آرد نشان داد که حساس‌ترین مرحله‌ی رشدی این حشره، مرحله‌ی حشره‌ی کامل و سپس لارو و تخم می‌باشد، به طوری که مقدار LC_{50} عصاره برای این مراحل به ترتیب برابر با ۲۰۸٤/۵۱، ۲٤٤٦/۳۷ و ۳۳۲۷/۰٤ میکرولیتر بر لیتر هوا محاسبه گردید (جدول ۱). مقادیر LC_{50} این عصاره برای سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات مشخص کرد که حساس‌ترین مرحله‌ی رشدی، مرحله‌ی حشره‌ی کامل و سپس تخم و لارو می‌باشد (جدول ۲).

جدول ۱. سمیت تنفسی عصاره‌ی دی‌کلرومتانی *O. vulgare* روی مراحل مختلف رشدی شپشه‌ی آرد.

Table 1. Fumigant toxicity of the dichloromethane extract of *O. vulgare* on different developmental stages of confused flour beetle, *T. confusum*.

	Egg	**Larva**	**Adult**
LC_{50} (µl/l air)	3327.04	2446.37	2084.51
95% Confidence interval	3096-3562	2266-2634	1963-2237
LC_{95} (µl/l air)	7700.29	6063.70	4991.24
95% Confidence interval	6850-8952	5326-7166	4433-5798
Slope ± SE	4.57±0.52	3.99±0.28	4.36±0.42
X^2 (df)	29.30 (22)	31.81 (22)	23.67 (22)
P-value	0.136	0.081	0.364

جدول ۲. سمیت تنفسی عصاره‌ی دی‌کلرومتانی *O. vulgare* روی مراحل مختلف رشدی سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات.

Table 2. Fumigant toxicity of the dichloromethane extract of *O. vulgare* on different developmental stages of cowpea weevil, *C. maculatus*.

	Egg	**Larva**	**Adult**
LC_{50} (µl/l air)	3220.38	4000.58	2282.80
95% Confidence interval	2977-3427	3733-4278	2098-2478
LC_{95} (µl/l air)	7333.22	8844.31	6684.71
95% Confidence interval	6545-8484	7842-10367	5757-8095
Slope ± SE	4.53±0.32	4.57±0.36	3.43±0.24
X^2 (df)	17.35 (22)	24.33 (22)	27.24 (22)
P-value	0.743	0.385	0.202

جدول‌های ۳ و ٤ مقادیر LC_{50} عصاره‌ی متانولی *O. vulgare* را برای مراحل مختلف رشدی شپشه‌ی آرد و سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات نشان می‌دهد. با توجه به این مقادیر، میزان حساسیت مراحل مختلف رشدی شپشه‌ی آرد به این عصاره به ترتیب شامل مرحله‌ی حشره‌ی کامل، لارو و تخم و میزان حساسیت مراحل مختلف رشدی سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات به ترتیب شامل حشره‌ی کامل، تخم و لارو می‌باشد.

جدول ۳. سمیت تنفسی عصاره‌ی متانولی *O. vulgare* روی مراحل مختلف رشدی شپشه‌ی آرد.

Table 3. Fumigant toxicity of the methanolic extract of *O. vulgare* on different developmental stages of confused flour beetle, *T. confusum*.

	Egg	**Larva**	**Adult**
LC_{50} (µl/l air)	4439.15	2578.07	1726.57
95% Confidence interval	4191-4702	2399-2763	1606-1852
LC_{95} (µl/l air)	9648.95	6959.37	5395.60
95% Confidence interval	7933-13284	5548-9876	4756-6285
Slope ± SE	4.93±0.54	3.75±0.37	3.32±0.18
X^2 (df)	27.21 (22)	29.28 (22)	27.22 (22)
P-value	0.203	0.137	0.203

جدول ٤. سمیت تنفسی عصاره‌ی متانولی *O. vulgare* روی مراحل مختلف رشدی سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات.

Table 4. Fumigant toxicity of the methanolic extract of *O. vulgare* on different developmental stages of cowpea weevil, *C. maculatus*.

	Egg	**Larva**	**Adult**
LC_{50} (µl/l air)	3451.83	4416.13	2040.88
95% Confidence interval	3233-3680	4144-4700	1900-2185
LC_{95} (µl/l air)	9124.73	9986.65	5607.77
95% Confidence interval	7420-12415	8852-11713	4971-6503
Slope ± SE	3.94±0.35	4.70±0.37	3.72±0.22
X^2 (df)	19.63 (22)	22.56 (22)	22.73 (22)
P-value	0.606	0.427	0.417

نتایج مقایسه‌ی میانگین درصد تلفات عصاره‌های دی‌کلرومتانی و متانولی روی مراحل مختلف رشدی دو گونه آفت نشان می‌دهد که این دو عصاره اختلاف معنی‌داری در ایجاد تلفات روی مرحله‌ی رشدی حشره‌ی کامل و لارو سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات و شپشه‌ی

آرد ندارند. همچنین اختلاف معنی‌داری بین اثر آنها در ایجاد تلفات روی مرحله‌ی تخم سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات مشاهده نشد. اما در مرحله‌ی رشدی تخم شپشه‌ی آرد، عصاره‌ی دی‌کلرومتانی به طور معنی‌داری تلفات بیشتری روی تخم شپشه‌ی آرد ایجاد کرد (جدول ۵).

جدول ۵. مقایسه‌ی میانگین درصد تلفات ایجاد شده به وسیله‌ی دو عصاره دی‌کلرومتانی و متانولی روی مراحل مختلف رشدی شپشه‌ی آرد و سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات.

Table 5. Comparison of mean percentage mortality of developmental stages of confused flour beetle, *T. confusum*, and cowpea weevil, *C. maculatus*, caused by dichloromethane and methanolic extracts of *O. vulgare*.

Developmental stages	Dose (µl/l air)	Mean of %mortality		t	P
		Dichloromethane extract	Methanolic extract		
T. confusum (Adult)	2138	61.10	64.16	0.375	0.7267
T. confusum (Larva)	2138	40.03	30.38	0.964	0.3894
T. confusum (Egg)	3236	41.23	18.86	10.29	0.0005
C. maculatus (Adult)	2138	46.70	47.50	0.115	0.9136
C. maculatus (Larva)	4365	48.13	45.93	0.556	0.6074
C. maculatus (Egg)	3236	41.33	41.20	0.036	0.9724

بحث

به طوری که ملاحظه می‌شود دزهای مورد آزمایش و مقادیر LC_{50} و LC_{95} به دست آمده برای عصاره‌های دی‌کلرومتانی و متانولی گیاه *O. vulgare* بسیار بالا بوده و با آنچه که Regnault-Roger & Hamraoui (1993) و Baricevic *et al*. (2001) مبنی بر توانایی عصاره‌ی این گیاه در کنترل سوسک لوبیا بیان می‌کنند مطابقت ندارد. این محققین اثر حشره‌کشی عصاره را بعد از گذشت ۷ روز بررسی کردند. همچنین، Shayya *et al*. (1997) اثر عصاره‌ی این گیاه را در یک دوره‌ی ۱ تا ۷ روزه با دز ۳ تا ۵۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر بررسی کرده و گزارش کردند که این عصاره در کنترل شپشه‌ی دندانه‌دار تأثیر خوبی دارد. نتایج تحقیق حاضر با گزارش مذکور هم‌خوانی ندارد. در همین ارتباط، Aslan *et al*. (2005) گزارش کردند که عصاره‌ی سه گیاه *Micromeria fruticosa* (L.)، *Nepata racemosa* (L.) و *O. vulgare* در کنترل سه گونه آفت انباری شامل بید آرد، سوسک توتون و شپشه‌ی گندم مؤثر هستند، و به ویژه عصاره‌ی *O. vulgare* در

کنترل بید آرد کاملاً مؤثر عمل می‌کند. همانطور که در مقدمه ذکر شد، در عصاره‌ی گیاه *O. vulgare* ترکیب‌هایی نظیر کارواکرول، تیمول و ترپن‌های غیر حلقوی وجود دارد (Zargari, 1997) که این ترکیب‌ها نقش حشره‌کشی و یا قارچ‌کشی دارند. به نظر می‌رسد عامل اصلی تفاوت در نتایج حاصل از تحقیقات مربوط به خواص حشره‌کشی این گیاه در نقاط مختلف دنیا مربوط به تفاوت در مقادیر این ترکیب‌ها در عصاره‌های استخراج شده باشد، زیرا محل رویش گیاه در میزان ترکیب‌های موجود در عصاره مؤثر می‌باشد و این احتمال وجود دارد که مقادیر کارواکرول و تیمول در گونه‌ی *O. vulgare* ایران ناچیز باشد که این موضوع نیاز به بررسی دارد. علاوه بر این همان‌طور که در جدول‌های ۱ تا ٤ مشاهده می‌شود، بیشترین میزان LC_{50} در هر دو عصاره برای شپشه‌ی آرد در مرحله‌ی تخم و سپس لارو و حشره‌ی کامل بوده است که به علت بالا بودن شدت تنفس در حشرات کامل نسبت به سایر مراحل رشدی آفت می‌باشد. در مورد سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات بیشترین میزان LC_{50} در هر دو عصاره مربوط به مرحله‌ی رشدی لارو و سپس تخم و حشره‌ی کامل می‌باشد. این نتیجه نشان می‌دهد که عصاره‌ی این گیاه از فشار بخار مناسب به عنوان یکی از شاخص‌های انتخاب ترکیب‌های تدخینی برای نفوذ به داخل دانه که محل فعالیت لاروها می‌باشد برخوردار نیست. با در نظر گرفتن نتایج این آزمایش مقدماتی می‌توان نتیجه گرفت که عصاره‌ی *O. vulgare* مناطق گیلان، مازندران و اردبیل با روش عصاره گیری انجام شده در این تحقیق، جهت کاربرد به صورت ترکیب تدخینی حشره‌کش مناسب نمی‌باشد. پیشنهاد می‌شود در ادامه‌ی تحقیقات مربوط به تأثیر عصاره‌های گیاهی در کنترل حشرات، سایر روش‌های عصاره‌گیری و شناسایی و استخراج ترکیب‌های مؤثر موجود در هر عصاره و خالص‌سازی آنها برای مطالعات تکمیلی مد نظر قرار گیرد.

سپاسگزاری

نگارندگان از همکاری و راهنمایی‌های ارزنده‌ی آقای دکتر عزیز شیخی گرجان و حمایت مالی موسسه‌ی تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، در انجام این تحقیق قدردانی می‌نمایند.

منابع

Abbott, W. S. (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18, 265-267.

Alder, C., Ojimelukwe, P. & Tapondjou, A. L. (2000) Utilisation of phytochemicals against stored product insects. *Integrated Protection of Stored Products*, *IOBC Bulletin* 23 (10), 169-175.

Annis, P. C. & Waterford, C. J. (1996) Alternatives - chemicals. pp. 275-321 in Bell, C. H., Price, N. & Chakrabrat, B. (Eds) *The methyl bromide issue.* 307 pp. John Wiley & Sons.

Aslan, I., Calmasur, O., Sahin, F. & Caglar, O. (2005) Insecticidal effect of essential plant oils against *Ephestia kuehniella* (Zell.), *Lasioderma serricorne* (F.) and *Sitophilus granarius* (L.). *Journal of Plant Diseases and Protection* 112(3), 257-267.

Baricevic, D., Milevoj, L. & Borstink, J. (2001) Insecticidal effect of Oregano (*Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum letswaart*) on bean weevil (*Acanthoscelides obtectus* Say). *International Journal of Horticultural Science* 7(2), 84-88.

Bell, C. H. (2000) Fumigation in the 21st century. *Crop Protection* 19, 563-569.

Bernath, J. (1997) Some scientific and practical aspects of production and utilization of oregano in central Europe. pp. 76-93 in Padulosi, S. (Ed.) *Proceeding of the IPGRI International Workshop on Oregano, CIHEAM, Valenzano, Bari, Italy*.

Chaudhry, N. Q. (2000) Phosphine resistance. *Pesticide Outlook*, 88-91.

Huang, Y., Lam, S. L. & Ho, S. H. (2000) Bioactivities of essential oil from *Elletaria cardomomum* (L.) Maton. to *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst.). *Journal of Stored Products Research* 36, 107-117.

Padin, S., Ringuelet, J. A., Bello, D., Cerime, E. L. & Re, M. S. (2000). Toxicology and repellent activity of essential oils on *Sitophilus oryzea* L. and *Tribolium castaneum* Herbst. *Journal of Herbs Spice and Medicinal Plants* 7(4), 67-73.

Papachristos, D. P., 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.

Regnault-Roger, C. & Hamraoui, A. (1993) Influence of aromatic essential oils on *Acanthoscelides obtectus* Say. pest of beans (*Phaseolus vulgaris* L.). *Acta Botanica Gallica* 140(2), 217-222.

Regnault-Roger, C. & Hamraoui, A. (1994) Comparison of the insecticidal effects of water extract and intact aromatic plants on *Acanthoscelides obtectus*, a bruchid beetle pest of kidney beans. *Chemoecology* 5/6(1), 1-5.

Shaaya, E., Kostjukovski, M., Eilberg, J. & Sukprakam, C. (1997) Plant oils as fumigants and contact insecticide for the control of stored-product insects. *Journal of Stored Products Research* 33(1), 7-15.

Shaaya, E., Ravid, U., Paster, N., Juven, B., Zisman, U. & Pissarev, V. (1991) Fumigant toxicity of essential oils against four major stored-products insects. *Journal of Chemical Ecology* 17(3), 499-504.

StatsDirect (2005) StatsDirect statistical software. Available on: *http://www.statsdirect.com* (accessed 17 June 2005).

Taylor, R. W. (1996) Commodity fumigation, beyond the year 2000. *Pesticide Outlook* 7(4), 31.

van S. Graver, J. & Bank, H. J. (1997) Grain post-harvest without methyl bromide in developing countries. *GASGA Executive Seminar 9, Grain Quality ... from the Inside Out, ACIAR, Australia*, 29-42.

Zargari, A. (1997) *Plant medicine of Iran*. Vol. 4, 6th ed. Tehran University Press, 29-56. [In Persian].