نشریه حفاظت گیاهان (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۲۵، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۰، ص. ۲۹۵-۲۸۶

Journal of Plant Protection
Vol. 25, No. 3, Fall 2011, P. 286-295

سمیت تنفسی اسانس اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia* Mill) و آویشن‌شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss) بر حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات، *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae)

زهرا گلستانی کلات[۱]- غلامحسین مروج[۲*]- مجید عزیزی ارانی[۳]- سعید هاتفی[٤]

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۹/۱۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۷/۲۵

چکیده

سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات *Callosobruchus maculatus* یکی از آفات کلیدی حبوبات در انبار است که به حبوبات مختلف مانند لوبیا چشم بلبلی، نخود، عدس، ماش و باقلا خسارت وارد می‌کند. جهت کنترل جمعیت این آفت، در چند دهه اخیر حشره‌کش‌های سازگار با محیط زیست بویژه ترکیبات با منشا گیاهی بسیار مورد توجه محققین قرار گرفته است. هدف از این تحقیق، بررسی سمیت تنفسی اسانس گیاهان آویشن-شیرازی (*Zataria multiflora*) و اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia*) بر سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات است. اسانس آویشن شیرازی و اسطوخودوس توسط دستگاه کلونجر استخراج شد. آزمایشات زیست‌سنجی اسانس‌ها بر حشرات کامل ۱ تا ۲ روزه نر و ماده سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات در شرایط دمایی ۱±۲۹ $^{\circ}C$، رطوبت نسبی ۵±۶۰٪ و تاریکی در ظروف شیشه‌ای درپوش‌دار به حجم ۲۷ میلی‌لیتر انجام شد. با تعیین شاخص‌های LC_{50}، LC_{90} و معادلات پروبیت مرگ و میر-غلظت توسط نرم‌افزار POLO - PC، سمیت تنفسی اسانس‌ها مقایسه و ارزیابی شد. سمیت تنفسی اسانس‌ها با غلظت اسانس و مدت زمان اسانس‌دهی همبستگی مثبت و معنی‌دار داشت ($P_{value}< 0.05$). حشرات نر در مقایسه با افراد ماده نسبت به اسانس‌ها حساسیت بیشتری داشتند. حشرات نر و ماده به اسانس آویشن‌شیرازی در مقایسه با اسانس اسطوخودوس حدود ۱۰-۹ برابر مقاوم‌تر بودند. مقادیر LC_{50} برای اسانس آویشن‌شیرازی معادل ۳۲۹ و $\mu l.L^{-1}$ ۵۶۲ و برای اسانس اسطوخودوس معادل ۳۴ و $\mu l.L^{-1}$ ۵۴ به ترتیب علیه افراد نر و ماده محاسبه گردید. نتایج این بررسی نشان داد که اسانس دو گیاه مورد بررسی اثرات حشره‌کشی مناسبی بر سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات داشتند، لذا تحقیقات بیشتر به منظور کاربرد آنها علیه این آفت جهت حفاظت محصولات انباری توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: اسانس گیاهی، سمیت تنفسی، آویشن‌شیرازی، اسطوخودوس، آفات انباری، لوبیا چشم بلبلی

مقدمه [۱]

حبوبات و از جمله لوبیا چشم بلبلی از مهم‌ترین منابع تامین پروتئین در بسیاری از کشورهای در حال توسعه می‌باشند. اکثر مردم این کشورها بنا به دلایل اقتصادی قادر به تامین پروتئین مورد نیاز خود از منابع گران حیوانی نیستند، بنابراین آن را از حبوبات تامین می‌کنند (۱). یکی از آفات کلیدی حبوبات در انبار، سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات *Callosobruchus maculatus* (F.) است. بنا به گزارش سینگ و همکاران (۱۹۷۸) در افریقای غربی ۱۰۰٪ بذور لوبیا چشم بلبلی پس از ۳ الی ۵ ماه انبار کردن به این آفت آلوده می‌شوند (۳۵). تانزوبیل (۳۷) اظهار داشت که این حشره قادر است وزن بذور لوبیای انبار شده را به میزان ۶۰٪ کاهش دهد. در نیجریه هر ساله ۲۹۰۰ تُن لوبیا چشم بلبلی توسط این آفت از بین می‌رود (۱۰). با حمله این آفت کیفیت بذر کاهش یافته و اندوخته غذایی آن مصرف می‌گردد و متعاقباً قدرت جوانه زنی بذور کم شده و گیاهچه-های تولید شده ضعیف خواهند بود (۳۶)

به منظور حفاظت محصولات انباری از حمله آفات، ترکیبات مصنوعی شیمیایی مختلف مورد استفاده قرار گرفته است، اما بطور کلی استفاده مداوم از این ترکیبات مشکلات جدی و رو به افزایشی از قبیل ایجاد مسمومیت در پارازیتوئیدها، شکارگران، حشرات گرده افشان، ماهی‌ها و انسان و احتمالا مرگ‌ومیر آنها را به دنبال داشته است (۲۲). همچنین این ترکیبات موجب گسترش پدیده مقاومت

۱، ۲ و ۴- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد حشره‌شناسی، استادیار و مربی گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
(*- نویسنده مسئول: (Email: Moravej@ferdowsi.um.ac.ir)
۳- دانشیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

حشرات به آفت‌کش‌ها (۲۳، ۴۰ و ۴۱)، افزایش حساسیت محصولات گیاهی به آفات (۲۸) و افزایش آلودگی‌های زیست محیطی (۲۹) شده‌اند. ترکیبات با منشاء گیاهی در چند دهه اخیر مورد توجه محققین قرار گرفته است. پوشش گیاهی مناطق گرمسیری منبع مهمی از حشره‌کش‌های گیاهی می‌باشد (۶). گیاهان معطّر خصوصاً گونه‌های گیاهی متعلق به خانواده نعناعیان (Lamiaceae) منبع مهمی از اسانس‌های فعال زیستی بوده که دارای خاصیت حشره‌کشی زیادی می‌باشند (۳۲). آویشن‌شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss) یکی از گونه‌های این خانواده است که به صورت وحشی در مناطق مرکزی و جنوبی ایران می‌روید (۴). این گیاه که در طب سنتی ایران به "صَعتَر" مشهور است، به عنوان ضدعفونی کننده، ضد نفخ و مُسکّن مورد استفاده بوده است (۷ و ۲۵). اسطوخودوس (*Lavandula angustifolia* Mill) نیز گیاه دیگری از همین خانواده است که به عنوان مُسکِّن، ضد نفخ و آرام بخش در عطردرمانی[1] استفاده می‌شود (۱۱). در طب سنتی این گیاه برای ضدعفونی زخم‌های حاصل از سوختگی و یا نیش حشرات و در دامپزشکی برای از بین بردن شپش‌های دامی و سایر پارازیت‌های حیوانات مورد استفاده بوده است. همچنین خاصیت ضد جهش‌زایی[2] اسانس اسطوخودوس بر باکتری *Salmonella typhimurium* نشان داده شده است (۱۴).

اسانس این گیاهان حاوی ترکیبات منوترپنوئیدی بوده که خواص حشره‌کشی و ضد تغذیه‌ای برخی از این ترکیبات علیه تعدادی از حشرات آفت مورد بررسی قرار گرفته است (۱۶، ۲۰، ۲۱ و۳۴). اثر حشره‌کشی اسانس اسطوخودوس بر برخی سخت بال پوشان بررسی شده است (۲۰ و ۲۶) اما در مورد خواص حشره‌کشی اسانس آویشن‌شیرازی هیچ مطالعه‌ای صورت نگرفته است در تحقیق حاضر سمیت تنفسی اسانس گیاهان آویشن‌شیرازی و اسطوخودوس بر حشرات کامل نر و ماده سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه اسانس

در اوایل تیر ماه تا اواخر مرداد ماه ۱۳۸۷ و همزمان با گل دهی، شاخه‌های گل‌دهنده گیاه اسطوخودوس از محل 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 شده توسط آسیاب برقی به پودر تبدیل گردید. گیاه آویشن‌شیرازی از یک بازار محلی در مشهد خریداری و به همان روش پودر گردید. تایید نام‌های علمی و خلوص گیاهان جمع‌آوری شده یا خریداری شده به ترتیب توسط پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد و بخش گیاهان دارویی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی صورت گرفت. اسانس-گیری به وسیله دستگاه کلونجر[3] انجام شد. اسانس‌های جمع‌آوری شده به کمک سولفات سدیم آب‌گیری گردید و تا زمان استفاده در ظروف شیشه‌ای تیره با در پوش آلومینیومی در یخچال در دمای $4^{\circ}C$ نگهداری شدند.

پرورش حشرات

کلنی اولیه سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات (*Callosobruchus maculatus*) از بخش تحقیقات حشره‌شناسی کشاورزی موسسه تحقیقات آفات و بیماریهای گیاهی تهران تهیه گردید. از ظروف پرورش شیشه‌ای به حجم یک لیتر برای پرورش و تکثیر حشره استفاده شد.به منظور تکثیر حشره، تعداد ۵۰ حشره نر و ماده روی ۱۰۰ گرم لوبیا چشم بلبلی منتقل شد. ۳ روز پس از انتقال، حشرات کامل حذف گردید و بذور لوبیای حاوی تخم تا زمان خروج حشرات کامل نسل جدید در ژرمیناتور در دمای $29\pm1^{\circ}C$، رطوبت نسبی ۵±۶۰ ٪ و تاریکی مطلق نگهداری شدند. حشرات ظاهر شده در طی ۲روز، برای انجام آزمایشات زیست‌سنجی مورد استفاده قرار گرفت. آزمایشات برای هر یک از جنس‌های نر و ماده به طور جداگانه انجام گرفت. تشخیص جنس حشرات در زیر استریومیکروسکوپ از روی اندازه کلی بدن، طرح رنگ بال پوش‌ها و به ویژه رنگ‌آمیزی و اندازه نیم‌حلقه پشتی انتهایی شکم (Pygidium) صورت گرفت (۹).

آزمایشات زیست‌سنجی

زیست‌سنجی بر اساس روش کیتا و همکاران (۲۰۰۱) و رحمان و اشمیت (۲۰۰۱) در ظروف شیشه‌ای درپوش‌دار به حجم ۲۷ میلی لیتر (به قطر ۲/۲ و ارتفاع ۷ سانتیمتر) انجام شد (۱۷، ۳۰). پس از انجام چند سری آزمایش‌های مقدماتی به منظور یافتن غلظت‌های مناسب اسانس‌ها جهت زیست‌سنجی، به وسیله میکروپیپت (ساخت شرکت Brand آلمان) مقادیر۴/۴، ۶/۳، ۹/۱، ۱۳/۲، ۱۹ و ۳۰ میکرولیتر اسانس آویشن‌شیرازی (به ترتیب معادل ۱۶۳، ۲۳۳، ۳۳۷، ۴۸۹، ۷۰۴ و ۱۱۱۱ میکرولیتر بر لیتر هوا) و مقادیر۰/۴، ۰/۶، ۰/۹، ۱/۳، ۱/۹ و ۳ میکرولیتر اسانس اسطوخودوس (به ترتیب معادل ۱۶، ۲۳، ۳۴، ۴۹، ۷۰ و ۱۱۱ میکرولیتر بر لیتر هوا) روی قطعات کاغذ

1- Aromatherapy
2- Antimutagenic activity
3- Clevenger (Labor Műszeripari Művek Esztergom, Made in Hungary)

صافی مربع شکل (واتمن شماره ۲)[1] به ضلع ۲ سانتیمتر درون درپوش ظروف شیشه‌ای قرار گرفت. ظروف شاهد (غلظت صفر میکرولیتر) فاقد اسانس بود. قبل از بستن درپوش، تعداد ۱۰ حشره کامل ۲-۱ روزه به درون هر ظرف شیشه‌ای منتقل گردید. به منظور جلوگیری از تماس حشرات با کاغذ صافی و حذف اثر سمیت تماسی اسانس‌ها، روی دهانه شیشه با توری پوشانده و سپس درپوش آن محکم بسته شد. برای اطمینان بیشتر از عدم انتشار ترکیبات فرار، اطراف درپوش به وسیله پارافیلم پوشیده شد. پس از گذشت ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۲۴ ساعت اسانس‌دهی، تعداد حشرات مرده در ظروف شاهد و تیمار شمارش شد. حشراتی که قادر به حرکت دادن پا و شاخک نبودند، مرده تلقی شدند. آزمایشات زیست‌سنجی برای هر مدت اسانس‌دهی در واحدهای آزمایشی جداگانه و در شرایط یکسان انجام شد. آزمایش در هر غلظت و مدت اسانس‌دهی و برای هر جنس نر یا ماده شش مرتبه تکرار گردید.

آنالیز داده‌ها

روابط بین درصد مرگ‌ومیر حشرات و مدت زمان اسانس‌دهی در غلظت‌های مختلف توسط رگرسیون خطی با استفاده از نرم‌افزار SPSS ver. 16.0 مورد تجزیه قرار گرفت. داده‌های درصد مرگ‌ومیر پس از ۲۴ ساعت برای هر اسانس بر اساس مدل پروبیت و با استفاده از نرم‌افزار POLO-PC آنالیز شد. پارامترهایی از قبیل LC_{50}، LC_{90}، شیب و عرض از مبدا (ثابت) خط رگرسیون پروبیت مرگ‌ومیر-غلظت، نسبت آزمون t، فاکتور ناهمگنی[2] و فاکتور g با استفاده از این نرم‌افزار به دست آمد. مقایسه سمیت اسانس‌ها و نیز مقایسه حساسیت جنس نر و ماده توسط روش رابرتسون و پریسلر (۱۹۹۲) با استفاده از نسبت مقاومت، به عبارت دیگر نسبت LC_{50} یا LC_{90}ها و حدود اطمینان ۹۵٪ آنها صورت گرفت (۳۳).

نتایج

میزان مرگ‌ومیر حشرات کامل بسته به نوع اسانس، غلظت اسانس، مدت اسانس‌دهی و جنس حشرات متغیر بود. با افزایش غلظت اسانس‌ها و افزایش مدت اسانس‌دهی، میزان تلفات در حشرات هر دو جنس نر و ماده افزایش یافت. حشرات به بخار اسانس اسطوخودوس در مقایسه با آویشن‌شیرازی بسیار حساس‌تر بودند. هر دو اسانس، صرف‌نظر از میزان غلظت مورد آزمایش، در مدت ۳ ساعت اسانس‌دهی اثری بر حشرات نداشتند. در آزمایشات زیست سنجی هر دو اسانس، حشرات شاهد فاقد تلفات بودند (شکل ۱ الف-د).

نتایج تجزیه رگرسیون بین درصد مرگ‌ومیر حشرات و مدت زمان اسانس‌دهی نشان داد که بین این دو متغیر در کلیه غلظت‌های مورد آزمایش هر دو اسانس، همبستگی خطی مثبت و معنی دار وجود داشت ($P_{value}< 0.05$). شیب خطوط رگرسیون بین این دو متغیر با افزایش غلظت اسانس افزایش یافت. ضرایب همبستگی (R^2) نشان دادند که در محدوده آزمایشات انجام شده در اسانس آویشن‌شیرازی بین ۹۰ تا ۹۷ درصد و در اسانس اسطوخودوس بین ۷۷ تا ۹۷ درصد از تغییرات در مرگ‌ومیر حشرات کامل به وسیله تغییرات در مدت زمان اسانس‌دهی قابل توجیه است (جدول ۱).

ارزیابی سمیت اسانس‌ها با استفاده از آنالیز پروبیت بر درصد مرگ‌ومیر حشرات پس از ۲۴ ساعت اسانس‌دهی صورت گرفت. نتایج حاصل شامل معادلات رگرسیون پروبیت مرگ‌ومیر-غلظت و سایر پارامترهای آنالیز سمیت در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج آنالیز پروبیت نشان داد که در تمام موارد نسبت آزمون t بیش از ۱/۹۶ و فاکتور g در تمام سطوح احتمال کمتر از ۰/۵ بود. فاکتور ناهمگنی در کلیه موارد، به جز در زیست‌سنجی اسانس اسطوخودوس علیه حشرات ماده (۱/۰۹)، کمتر از ۱ بدست آمد. فاکتور ناهمگنی بزرگتر از ۱ در آنالیز پروبیت، نشان‌دهنده اعمال فاکتور g در تصحیح مقادیر LC_{50} و LC_{90} بود.

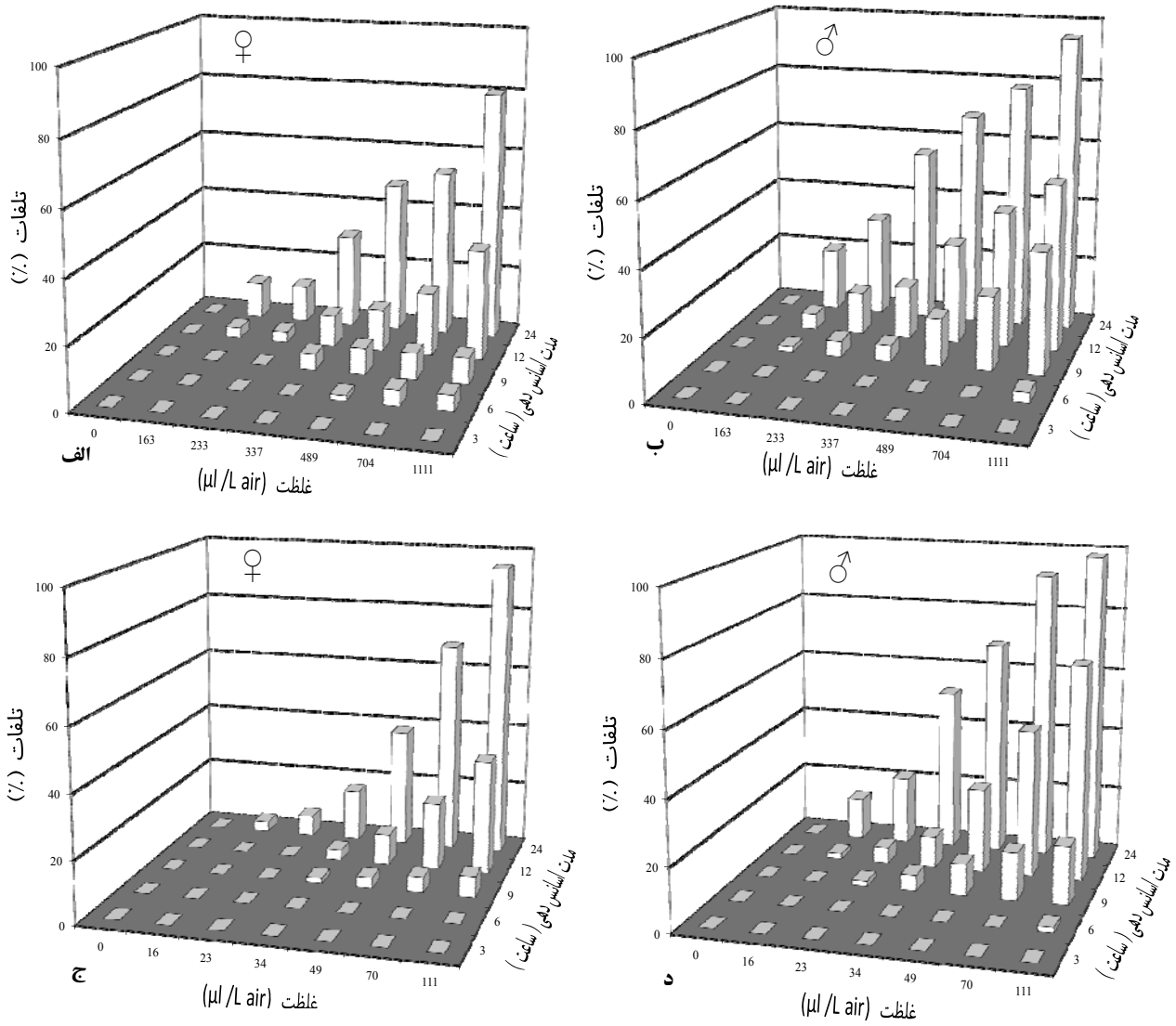
مقایسه بین سمیت اسانس‌ها و نیز مقایسه بین حساسیت حشرات نر و ماده به وسیله پذیرش و یا رد آزمون‌های تساوی و متوازی بودن خطوط پروبیت و مقایسه مقادیر LC_{50} یا LC_{90} انجام گردید. در اسانس آویشن‌شیرازی، شیب خطوط رگرسیون پروبیت مرگ‌ومیر حشرات نر و ماده به ترتیب ۲/۸۱ و ۲/۵۲ بدست آمد که بر اساس آزمون فرضیه موازی بودن، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ($X^2 = 0.509, df = 1, P_{value} = 0.475$). بنابراین شیب معادل ۲/٦٦ (±۰/۲۰) به عنوان شیب مشترک بین خطوط پروبیت مرگ و میر افراد نر و ماده برای سمیت این اسانس محاسبه گردید. همچنین در آزمایش زیست‌سنجی اسانس اسطوخودوس بین شیب خط پروبیت حشرات نر (۳/۹۰) و ماده (۴/۲۹) تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($X^2 = 0.552, df = 1$ ، $P_{value} = 0.458$) لذا شیب معادل ٤/۰۹ (±۰/۲٦) به عنوان شیب مشترک بین خطوط پروبیت عنوان شده در این اسانس تعیین گردید. مقایسه شیب خطوط پروبیت افراد ماده یا نر بین دو اسانس نشان داد که برای افراد ماده، شیب خط پروبیت در اسانس اسطوخودوس (۴/۲۹) به طور معنی‌دار بزرگتر از شیب خط پروبیت در اسانس آویشن‌شیرازی (۲/۵۲) بود ($X^2 = 14.78, df = 1, P_{value} = 0.001$). همچنین برای حشرات نر، شیب خط پروبیت در اسانس اسطوخودوس (۳/۹۰) به طور معنی‌دار بزرگتر از شیب خط پروبیت در اسانس آویشن‌شیرازی

1- Whatman No. 2
2- Heterogeneity

(۲/۸۱) بود ($X^2 = 5.82$, df = 1, $P_{value} = 0.016$).

نتایج مقایسه زوج ثابت‌های خطوط پروبیت با استفاده از آزمون فرضیه یکسانی خطوط نشان داد که ثابت معادله پروبیت مرگ‌ومیر برای افراد نر در اسانس آویشن‌شیرازی (۷/۰۷-) با اسانس اسطوخودوس (۵/۹۷-) اختلاف معنی‌دار داشت ($X^2 = 222.11$, df = 1 , $P_{value} = 0.001$). نتیجه مشابهی در مورد مقایسه بین ثابت‌های معادلات پروبیت دو اسانس برای حشرات ماده نیز بدست آمد ($X^2 = 221.91$, df = 2, $P_{value} = 0.001$).

همچنین در اسانس آویشن‌شیرازی بین ثابت پروبیت مرگ‌ومیر افراد نر و ثابت پروبیت مرگ‌ومیر افراد ماده تفاوت معنی‌دار وجود داشت ($X^2 = 35.18$, df = 2, $P_{value} = 0.001$). نتیجه مشابهی نیز در اسانس اسطوخودوس بین ثابت‌های معادلات پروبیت مرگ‌ومیر حشرات نر و ماده حاصل شد ($X^2 = 48.71$, df = 2, $P_{value} = 0.001$).



شکل ۱- میانگین درصد مرگ و میر حشرات کامل ۲-۱ روزه ماده (♀) و نر (♂) *C. maculatus* بر حسب مدت اسانس دهی در اثر غلظت‌های مختلف اسانس‌های آویشن شیرازی (الف-ب) و اسطوخودوس (ج-د).

جدول ۱- نتایج تجزیه رگرسیون خطی بین درصد تلفات حشرات کامل *C. maculatus* و مدت اسانس‌دهی بر حسب جنس حشره در غلظت های مختلف از اسانس های آویشن‌شیرازی و اسطوخودوس

منبع اسانس	غلظت اسانس ($\mu l.L^{-1}$)	جنس حشره	شیب رگرسیون (خطای معیار ±)	ضریب همبستگی	$F(1,3)$	P_{value}
آویشن‌شیرازی *Zataria multiflora*	۱۶۳	ماده	۰/۶۰۱(±/۰۹۶)	۰/۹۰۶	۳۹/۴۰	۰/۰۰۸
	۲۳۳		۰/۶۰۱(±۰/۰۹۶)	۰/۹۰۶	۳۹/۴۰	۰/۰۰۸
	۳۳۷		۱/۵۱۸(±۰/۱۳۴)	۰/۹۶۹	۱۲۷/۸۷	۰/۰۰۱
	۴۸۹		۲/۴۱۲(±۰/۲۵۶)	۰/۹۵۶	۸۸/۹۴	۰/۰۰۳
	۷۰۴		۲/۶۳۳(±۰/۲۴۳)	۰/۹۶۷	۱۱۷/۰۹	۰/۰۰۲
	۱۱۱۱		۴/۰۳۰(±۰/۴۴۸)	۰/۹۵۲	۸۰/۹۳	۰/۰۰۳
	۱۶۳	نر	۱/۰۱۶(±۰/۱۳۵)	۰/۹۳۳	۵۷	۰/۰۰۵
	۲۳۳		۱/۶۱۷(±۰/۱۵۲)	۰/۹۶۶	۱۱۳/۰۷	۰/۰۰۲
	۳۳۷		۲/۸۰۴(±۰/۳۲۹)	۰/۹۴۷	۷۲/۶۴	۰/۰۰۳
	۴۸۹		۳/۴۷۴(±۰/۳۱۹)	۰/۹۶۷	۱۱۸/۳۷	۰/۰۰۲
	۷۰۴		۳/۹۷۲(±۰/۵۱۱)	۰/۹۳۷	۶۰/۴۳	۰/۰۰۴
	۱۱۱۱		۴/۶۹۲(±۰/۶۶۲)	۰/۹۲۵	۵۰/۳۱	۰/۰۰۶
اسطوخودوس *Lavandula angustifolia*	۱۶	ماده	/۱۶۷(±۰/۰۴۴)	–	–	–
	۲۳		۰/۳۳۵(±۰/۸۸۰)	۰/۷۷۲	۱۴/۵۲	۰/۰۳۲
	۳۴		۰/۸۴۱(±۰/۱۲۳)	۰/۹۲۰	۴۶/۷۰	۰/۰۰۶
	۴۹		۱/۹۴۸(±۰/۲۵۰)	۰/۹۳۷	۶۰/۸۵	۰/۰۰۴
	۷۰		۳/۴۹۷(±۰/۴۲۹)	۰/۹۴۲	۶۶/۴۱	۰/۰۰۴
	۱۱۱		۴/۸۹۳(±۰/۶۱۰)	۰/۹۴۱	۶۴/۳۰	۰/۰۰۴
	۱۶	نر	۰/۶۶۷(±۰/۱۳۸)	۰/۸۵۳	۲۴/۱۵	۰/۰۱۶
	۲۳		۱/۱۰۰(±۰/۱۵۵)	۰/۹۲۵	۳۲/۷۶	۰/۰۰۶
	۳۴		۲/۶۰۷(±۰/۳۹۰)	۰/۹۱۶	۴۴/۶۱	۰/۰۰۷
	۴۹		۳/۴۸۵(±۰/۳۲۴)	۰/۹۶۶	۱۱۵/۶۷	۰/۰۰۲
	۷۰		۴/۷۱۵(±۰/۵۷۷)	۰/۹۴۳	۶۶/۸۹	۰/۰۰۴
	۱۱۱		۵/۰۹۵(±۱/۰۶۰)	۰/۸۴۶	۲۳/۰۹	۰/۰۱۷

¥ قطعات کاغذ صافی مربع شکل (واتمن شماره ۲) به ضلع ۲ سانتیمترآغشته به اسانس داخل درپوش ظروف آزمایش قرار داده شد.

– به دلیل عدم مشاهده تلفات، رگرسیون غیر قابل محاسبه بود.

مقادیر شاخص‌های LC_{50} و LC_{90} نشان داد که اسانس اسطوخودوس در مقایسه با اسانس آویشن‌شیرازی دارای سمیت تنفسی بالاتری علیه حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات بود. کمترین میزان سمیت مربوط به اسانس آویشن‌شیرازی علیه حشرات ماده با LC_{50} معادل ۵۶۲ $\mu l.L^{-1}$ و بیشترین میزان سمیت مربوط به اسانس اسطوخودوس علیه حشرات نر با LC_{50} معادل ۳۴ $\mu l.L^{-1}$ بود (جدول ۲). مقایسه زوج سمیت اسانس‌ها با استفاده از نسبت LC_{50} و حدود اطمینان ۹۵٪ آن نشان داد که در اسانس آویشن‌شیرازی میزان LC_{50} علیه حشرات ماده بطور معنی‌داری بیشتر از میزان این شاخص علیه حشرات نر بود (۱/۷ برابر). نتیجه مشابه در مورد مقایسه LC_{50} اسانس اسطوخودوس علیه حشرات ماده و نر نیز حاصل گردید (۱/۶ برابر). مقایسه زوج سمیت اسانس‌ها با استفاده از نسبت LC_{50} و حدود اطمینان ۹۵٪ آن نشان داد که برای حشرات ماده، LC_{50} اسانس آویشن‌شیرازی بطور معنی‌داری بزرگتر از LC_{50} اسانس اسطوخودوس بود (۹/۷ برابر).

جدول ۲- آنالیز پروبیت روابط مرگ و میر-غلظت پس از ۲٤ ساعت ناشی از سمیت تنفسی اسانس‌های آویشن شیرازی و اسطوخودوس روی *C. maculatus* برحسب جنس حشرات کامل

منبع اسانس	جنس حشره	n	پروبیت مرگ ومیر-غلظت		نسبت *t*	ناهمگنی	فاکتور *g* (۰/۹۵)	غلظت کشنده ($\mu l.L^{-1}$) (حدود اطمینان ۹۵٪)	
			(±SE) ثابت	(±SE) شیب				LC_{50}	LC_{90}
آویشن شیرازی *Z. multiflora*	ماده	۴۲۰	-۶/۹۳(±۰/۷۵)	۲/۵۲(±۰/۲۸)	۸/۹۶	۰/۸۸	۰/۰۴۸	۵۶۲ (۵۰۲-۶۳۸)	۱۸۱۴ (۱۴۳۰-۲۵۳۵)
	نر	۴۲۰	-۷/۰۷(±۰/۷۶)	۲/۸۱(±۰/۲۹)	۹/۵۴	۰/۳۷	۰/۰۴۲	۳۲۹ (۲۸۹-۳۷۱)	۹۴۱ (۷۷۷-۱۲۳۷)
اسطوخودوس *L. angustifolia*	ماده	۴۲۰	-۷/۴۲(±۰/۶۵)	۴/۲۹(±۰/۳۸)	۱۱/۲۲	۱/۱۰	۰/۰۶۷	۵۴ (۴۷-۶۲)	۱۰۷ (۸۷-۱۴۶)
	نر	۴۲۰	-۵/۹۷(±۰/۵۵)	۳/۹۰(±۰/۳۵)	۱۱/۰۸	۰/۶۲	۰/۰۳۱	۳۴ (۳۱-۳۷)	۷۲ (۶۳-۸۷)

n تعداد حشرات مورد آزمایش؛ SE خطای معیار

نتیجه مشابه در مورد مقایسه LC_{50} دو اسانس علیه حشرات نر نیز بدست آمد (۱۰/۵ برابر) (جدول ۳). همچنین بر اساس شاخص LC_{90}، حساسیت حشرات نر نسبت به هر دو اسانس به طور معنی‌داری بیشتر از حساسیت حشرات ماده بود. مقایسه زوج سمیت اسانس‌ها بر اساس شاخص LC_{90} نشان داد حشرات ماده و نر به ترتیب ۱۷ و ۱۳ برابر به اسانس آویشن‌شیرازی در مقایسه با اسطوخودوس مقاوم‌تر بودند (جدول ۴). نتیجه اینکه بر اساس این بررسی سمیت اسانس اسطوخودوس بر هر دو جنس نر و ماده سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات نسبت به اسانس آویشن‌شیرازی بیشتر بود. همچنین افراد ماده نسبت به افراد نر مقاومت بیشتری به اسانس-ها داشتند.

جدول ۳- نسبت های LC_{50} و حدود اطمینان ۹۵٪[¥] آنها جهت مقایسه‌ی سمیت تنفسی اسانس‌های آویشن شیرازی (*Zm*) و اسطوخودوس (*La*) روی حشرات کامل *C. maculatus*

متغیر	نسبت LC_{50}	حدود اطمینان ۹۵٪
نوع اسانس	(LC_{50} نر : LC_{50} ماده)	مقایسه حساسیت حشرات ماده و نر
آویشن شیرازی	۱/۷۰۸	*(۱/۴۱۳-۲/۰۶۳)
اسطوخودوس	۱/۵۸۰	*(۱/۳۸۳-۱/۸۰۴)
جنس حشره	(*Zm* LC_{50} : *La* LC_{50})	مقایسه سمیت اسانس ها
ماده	۹/۷۰۳	*(۸/۲۲۰-۱۱/۴۵۳)
نر	۱۰/۴۸۹	*(۸/۸۴۹-۱۲/۴۳۲)

[¥] محاسبه حدود اطمینان ۹۵٪ نسبت LC_{50} بر اساس روش روبرتسون و پریسلر (۱۹۹۲).

* نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین LC_{50} های مقایسه شده در سطح ۵٪

جدول ٤- نسبت های LC_{90} و حدود اطمینان ۹۵٪[¥] آنها جهت مقایسه‌ی سمیت تنفسی اسانس‌های آویشن شیرازی (*Zm*) و اسطوخودوس (*La*) روی حشرات کامل *C. maculatus*

متغیر	نسبت LC_{90}	حدود اطمینان ۹۵٪
نوع اسانس	(LC_{90} نر : LC_{90} ماده)	مقایسه حساسیت حشرات ماده و نر
آویشن شیرازی	۱/۹۲۷	*(۱/۲۸۲-۲/۸۹۶)
اسطوخودوس	۱/۴۷۶	*(۱/۱۷۲-۱/۸۵۹)
جنس حشره	(*Zm* LC_{90} : *La* LC_{90})	مقایسه سمیت اسانس ها
ماده	۱۷/۰۰۹	*(۱۱/۶۷۴-۲۴/۷۸۲)
نر	۱۳/۰۲۹	*(۱۰/۱۷۶-۱۶/۶۸۳)

[¥] محاسبه حدود اطمینان ۹۵٪ نسبت LC_{50} بر اساس روش روبرتسون و پریسلر (۱۹۹۲).

* نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین LC_{50} های مقایسه شده در سطح ۵٪

بحث

بررسی حاضر نشان داد که میزان سمیت تنفسی اسانس گیاهان اسطوخودوس و آویشن‌شیرازی با غلظت اسانس و مدت اسانس‌دهی همبستگی مثبت و معنی‌دار داشت. پاپاچریستس و استمپولوس (۲۰۰۲) سمیت تنفسی و خاصیت دورکنندگی اسانس‌های ۱۳ گونه گیاهی متعلق به هفت خانواده را روی حشرات کامل سوسک لوبیا (*Acanthoscelides obtectus*) بررسی کردند و نشان دادند که بین میزان تلفات حشرات و غلظت اسانس رابطه مستقیم و مثبت وجود داشت. همچنین نتایج مطالعه این محققان نشان داد که حساسیت حشرات نر نسبت به کلیه اسانس‌های مورد مطالعه بیشتر از حشرات ماده بود (۲۶). تفاوت حساسیت جنس نر و ماده به اسانس ممکن است ناشی از تفاوت حشرات نر و ماده از نظر اندازه یا وزن، میزان چربی بدن و نیز تفاوت ذاتی در مکانیسم عمل اسانس‌ها بر آنها باشد (۳۸ و ۳۹).

لی و همکاران (۲۰) بدون مشخص کردن نام علمی گونه‌های گیاهی، سمیت تنفسی ۱۸ اسانس گیاهی از جمله سه اسانس متعلق به گیاهانی از خانواده نعناعیان شامل رزماری[1]، اسطوخودوس[2] و آزربه[3] را روی شپشه برنج (*Sitophilus oryzae*) بررسی کردند. نامبردگان مقادیر LC_{50} تنفسی سه اسانس اخیر را پس از ۲۴ ساعت به ترتیب ۳۰/۵، ۵۴/۰ و ۶۳/۹ $\mu l.L^{-1}$ برآورد کردند. نتایج این تحقیقات در مورد سمیت اسطوخودوس بر شپشه برنج تقریبا مشابه با مقدار LC_{50} بدست آمده برای این اسانس روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات در بررسی حاضر می‌باشد. در تحقیقات پاپاچریستس و استمپولوس (۲۶) روی سمیت تنفسی و اثرات بیولوژیکی تعدادی از اسانس‌های گیاهی روی سوسک لوبیا با استفاده از آزمایش‌های انتخابی و غیرانتخابی، نشان داده شد که اکثر ترکیبات خاصیت دورکنندگی داشته و باعث کاهش میزان تولیدمثل، کاهش تفریخ تخم، افزایش مرگ و میر لاروهای نئونات و کاهش میزان خروج حشرات کامل نسل اول گردیدند. در بررسی‌های این محققان، سمی‌ترین ترکیبات علیه حشرات نر، اسانس‌های *Mentha microphylla* و *M. viridis* و سمی‌ترین ترکیبات علیه حشرات ماده، اسانس‌های *Lavandula hybrida* و *Rosmarinus officinalis* بودند. در تحقیقات ذکر شده، میزان LC_{50} برای اسانس گونه *L. hybrida* از خانواده نعناعیان که مشابه گونه اسطوخودوس می باشد، معادل ۱/۶ و ۲/۳ $\mu l.L^{-1}$ به ترتیب روی افراد نر و ماده سوسک لوبیا گزارش گردید (۲۶) که بسیار کمتر از مقادیر LC_{50} محاسبه شده روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات در تحقیق حاضر برای اسانس‌های اسطوخودوس و آویشن‌شیرازی می‌باشد. علت این تفاوت می‌تواند ناشی از تفاوت در گونه گیاه و نیز گونه حشره مورد بررسی باشد. حتی اسانس‌های استخراج شده از جمعیت‌های یک گونه گیاهی مشخص در محل‌های رویش یا فصول مختلف ممکن است در اجزای متشکله از نظر کمی و کیفی با یکدیگر اختلاف داشته باشند که در نتیجه اثرات بیولوژیکی مختلفی روی حشرات خواهند داشت. رنالت–روگر و همکاران (۳۲) نشان دادند که الگوی فیزیولوژیکی گیاهان با توجه به فصل متغیر می‌باشد. محققین دیگر نشان دادند که کیفیت فراورده استخراج شده از گیاهان و ترکیب آن بسته به شرایط اقلیمی، ترکیب خاک، اندام گیاهی مورد استفاده در اسانس‌گیری و مرحله رویشی متفاوت است (۵ و ۲۴).

سمیت تنفسی بسیاری از اسانس‌های گیاهی روی آفات محصولات انباری ناشی از ترکیبات متشکله آنها –عمدتا مونوترپن‌ها– است. این ترکیبات بسیار فرار بوده و برای کنترل این نوع آفات به روش تدخینی[4] مناسب می باشند (۱۳، ۱۵، ۱۸ و ۲۱). اجزای اصلی اسانس آویشن‌شیرازی، تیمول[5]، کارواکرول[6] و ρ–سیمن[7] و اجزای اصلی اسانس اسطوخودوس، لینالول[8]، لاواندولول[9]، ۱، ۸–سینئول[10]، کامفور[11] و لیمونن[12] و مشتقات استات آنها است که اثرات بیولوژیکی متنوع آنها از جمله سمیت تنفسی آنها روی حشرات توسط بسیاری از محققان مورد بررسی و تایید قرار گرفته است (۳، ۱۲، ۱۹، ۲۰، ۳۱ و ۳۴).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که اسانس اسطوخودوس سمیت تنفسی بالایی روی سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات داشت اما اسانس آویشن‌شیرازی علیرغم داشتن ترکیباتی چون لینالول، ۱، ۸–سینئول و ρ–سیمن با خواص حشره‌کشی بالا و اثبات شده، سمیت تنفسی کمتری روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات داشت که این موضوع ممکن است ناشی از برهم‌کنش بین اجزای اسانس و یا تجزیه سریع ترکیبات مؤثر اسانس قبل از رسیدن به محل هدف باشد (۸). همچنین باید توجه داشت که در دو اسانس مذکور خالص‌سازی انجام نشده است و علاوه بر این اجزای مؤثر، ترکیبات دیگری نیز حضور

1- Rosemary
2- Lavender
3- Thyme

4- Fumigation
5- Thymol
6- Carvacrol
7- ρ-Cymene
8- Linalool
9- Lavandulol
10- 1,8-Cineole
11- Camphor
12- Limonene

دارند که بر خواص بیولوژیکی اسانس از جمله اثر حشره کشی تأثیر خواهند گذاشت. تأثیر ناخالصی و اجزای غیر موثر اسانس‌ها روی اجزای فعال آنها در بررسی انجام شده توسط شهسواری و همکاران (۲) در مورد فعالیت آنتی اکسیدانی اسانس آویشن‌شیرازی بیان گردیده است. بنابراین در صورت خالص‌سازی اسانس‌ها، امکان تأثیر در غلظت‌های کمتر وجود داشت.

با توجه به این که مقدار اسانس‌ها در گیاهان معطر بسیار کم می‌باشد، باید تلاش‌هایی در زمینه رفع موانع موجود بر سر راه تجاری شدن و تولید انبوه این ترکیبات در مقیاس وسیع و تجاری انجام گیرد. از آنجا که در تحقیقات انجام شده روی یک ترکیب، امکان بررسی تمامی اثرات بیولوژیکی آن ترکیب وجود ندارد و احتمال وجود اثرات ناخواسته در آن نیز می‌رود و با توجه به اینکه در مورد اسانس گونه دیگری از اسطوخودوس (*L. hybrida*)، گزارشاتی وجود دارد که بیان می‌کند این ترکیب پس از چندین نسل در سوسک لوبیا مقاومت ایجاد کرده است (۲۷)، پیشنهاد می‌گردد که مطالعات بیشتری در زمینه مکانیسم و محل اثر این دو اسانس در آفات انباری، خطرات احتمالی آنها بر روی سایر موجودات غیر هدف و نیزبررسی ترکیباتی که قادرند با ایجاد نقش سینرژیسم احتمال ایجاد مقاومت در حشرات به این ترکیبات را کاهش دهند، انجام پذیرد.

سپاسگزاری

تحقیق حاضر بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول می باشد که بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه به خاطر حمایت مالی سپاسگزاری می‌نماییم. از کارشناس محترم آزمایشگاه حشره شناسی به خاطر همکاری در تهیه لوازم مورد نیاز و نیز مساعدت در انجام آزمایشات کمال تشکر را داریم.

منابع

۱- پارسا م. و باقری ع. ۱۳۸۷. حبوبات. انتشارات جهاد دانشگاهی، دانشگاه فردوسی مشهد. ۵۲۸ صفحه.

۲- شهسواری ن.، برزگر م.، سحری م.ع. و نقدی بادی ح.ع. ۱۳۸۷. بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی اسانس گیاه آویشن‌شیرازی (*Zataria multiflora* Bioss.) در روغن سویا. فصل‌نامه گیاهان دارویی ۲۸: ۶۸-۵۶.

3- Ahn Y.J., Lee S.B., Lee H.S. and Kim G.H. 1998. Insecticidal and acaricidal activity of carvacrol and β-thujaplicine derived from *Thujopsis dolabrata* var. *Hondai* sawdust. Journal of Chemical Ecology, 24:1-90.

4- Amin G.H. 1991. Popular Medicinal Plants of Iran. Deputy Minister of Research Publication, Ministry of Health, Treatment and Medical Education. Tehran.

5- Angioni A., Barra A., Coroneo V., Dessi S. and Cabras P. 2006 Chemical composition, seasonal variability and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. stoechas essential oils from stem/leaves and flowers. Journal of Agricultural Food Chemistry, 54:4364-4370.

6- Arnason J.T., Philogene B.J.R. and Morand P. 1989. Insecticides of plant origin. ACS Symp, 387:1-213.

7- Avicenna.1985. Al-Qanun fi al Tibb, (The Canon of Medicine). 1st ed. Persian Edition, ed. Sharaf-Kandi A.R. Vol. 2 Soroush Press. Tehran.

8- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. and Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oils - A review. Food and Chemical Toxicology, 46:446-475.

9- Brown L. and Downhower J.F. 1988. Analyses in Behavioral Ecology: A Manual of Lab and Field. Sinauer Associates.

10- Caswell G.H. 1973. The impact of infestation on commodities. Tropical Stored Product Infestation, 25:19-25.

11- Cavanagh H.M. and Wilkinson J.M. 2002. Biological activities of lavender essential oil. Phytotherapy Research, 16:301-308.

12- Coats J.R., Karr L.L. and Drewes C.D. 1991. Toxicity and neurotoxic effects of monoterpenoids in insects and earthworms. p. 305-316. In: Naturally Occurring Pest Bioregulators. Hedin P.A. (ed) American Chemical Society. Washington DC.

13- Don-Pedro K.N. 1996. Fumigant toxicity is the major route of insecticidal activity of citrus peel essential oils. Pesticide Science, 46:71–78.

14- Evandr M.G., Battinelli L., Daniele C., Mastrangelo S., Bolle P. and Mazzanti G. 2005. The antimutagenic activity of *Lavandula angustifolia* (lavender) essential oil in the bacterial reverse mutation assay. Food and Chemical Toxicology, 43:1381-1387.

15- Ezeonu F.C., Chidume G.I. and Udedi S.C. 2001. Insecticidal properties of volatile extracts of orange peels. Bioresource Technology, 76:273-274.

16- Gonzalez-Coloma A., Martin-Benito D., Mohamed N., Garcia-Vallejo M.C. and Sori A.C. 2006. Antifeedant effects and chemical composition of essential oils from different populations of *Lavandula luisieri* L. Biochemical Systematic and Ecology, 34:609-616.

17- Kéita S.M., Vincent C., Schmit J.P., Arnason J.T. 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, 37:339-349.

18- Kim S.I., Park C., Ohh M.H., Cho H.C. and Ahn Y.J. 2003. Contact and fumigant activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae). Journal of Stored Products Research, 39:11–19.

19- Konstantopoulou L.L., Vassilopoulou L., Mavragani-Tsipidou P. and Scouras Z.G. 1992. Insecticidal effects of essential oils. A study of the effects of essential oils extracted from eleven Greek aromatic plants on *Drosophila auraria*. Experientia, 48:616-619.

20- 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.

21- Lee S., Peterson C.J. and Coats J.R. 2003. Fumigation toxicity of monoterpenoids to several stored product insects. Journal of Stored Products Research, 39:77-85.

22- Mahfuz I. and Khalequzzaman M. 2007. Contact and fumigant toxicity of essential oils against *Callosobruchus maculatus*. University Journal of Zoology, Rajshahi University, 26:63-66.

23- Mahmud M.K., Khan M.M.H., Husain M., Alam M.I. and Afrad M.S.I. 2002. Toxic effects of different plant oils on pulse beetle *Callosobruchus chinensis* Linn. (Coleoptera: Bruchidae). Journal of the Asiatic Society of Bangladesh Science, 28:11-18.

24- Masotti V., Juteau F. and Viano J.M. 2003. Seasonal and phenological variations of the essential oils from the narrow endemic species *Artemisia molinieri* and its biological activities. Journal of Agricultural Food Chemistry, 51:7115-7121.

25- Mozzaffarian V.A. 1998. A Dictionary of Iranian Plant Names. 2 ed. Farhang Moaser Publication. Tehran.

26- 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.

27- Papachristos D.P. and Stamopoulos D.C. 2003. Selection of *Acanthoscelides obtectus* (Say) for resistance to lavender essential oil vapour. Journal of Stored Products Research, 39:433-441.

28- Pimentel D. 1977. Ecological basis of insect pest, pathogen and weed problems. P. 3. In: Origin of Pest, Parasites, Disease and Weed Problems. Cherrett S.M., and Sagar G.R. (eds.) Blackwell's Scientific Publications, Oxford, UK.

29- 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.

30- Rahman M.M. and Schmidt G.H. 1999. Effects of *Acorus calamus* (L.) (Aceraceae) essential oil vapours from various origins on *Callosobruchus phaseoli* (Gyllenhal) (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Stored Products Research, 35:285-295.

31- 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.

32- Regnault-Roger C., Hamraoui A., Holeman M., Theron E. and Pinel R. 1993. Insecticidal effect of essential oils from Mediterranean plants upon *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) a pest of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal of Chemical Ecology, 19:1231-1242.

33- Robertson J.L. and Preisler H.K. 1992. Pesticide Bioassays with Arthropods. CRC Press, Florida.

34- Rozman V., Kalinovic I. and Korunic Z. 2007. Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. Journal of Stored Products Research, 43:349-355.

35- Singh S.R., Luse R.A., Leuschner K. and Nangju D. 1978. Groundnut oil treatment for the control of *Callosobruchus maculatus* (F.) during cowpea storage. Journal of Stored Products Research, 14:77-80.

36- Sousa A.H., Maracaja P.B., Silva R.M.A., Moura A.M.N. and Andrade W.G. 2005. Bioactive of vegetal powders against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) in caupi bean and seed physiological analysis. Revista de Biologia e Ciencias da Terra, 5(2).

37- Tanzubil P.B. 1991. Control of some insect pests of cowpea (*Vigna unguiculata*) with neem (*Azadirachta indica* A. Juss) in Northern Ghana. Tropical Pest Management, 37:216-217.

38- Weaver K.D., Dunkel V.F., Ntezurubanza L., Jackson L.L. and Stock T. 1991. The efficacy of linalool, a major component of freshly-milled *Ocimum canum* Sims (Lamiaceae), for protection against postharvest damage by certain stored product Coleoptera. Journal of Stored Products Research, 27:213-220.

39- Weaver K.D., Wells D.C., Dunkel V.F., Bertsch W., Sing E.S. and Sriharan S. 1994. Insecticidal activity of floral, foliar and root extracts of *Tagetes minuta* (Asterales: Asteraceae) against adult Mexican bean weevils (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Economic Entomology, 87:1718-1725.

40- 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.

41- 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.