

سمیت تنفسی اسانس زیره سیاه (*Bunium persicum* Boiss. (Umbelliferae) و هل
Elletaria cardamomum Maton. (Zingiberaceae) روی حشرات کامل شپشه آرد
Tribolium castaneum (Herbst.) (Coleoptera: Tenebrionidae)

غلامحسین مروج^{*۱} - زهره اف شهرکی^۲ - مجید عزیزی ارانی^۳ - فرنوش یغمایی^۴

تاریخ دریافت: ۸۸/۱/۱۵

تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۰/۹

چکیده

اثر سمیت تنفسی دو گونه گیاهی هل *Elletaria cardamomum* Maton. و زیره سیاه کرمانی *Bunium persicum* Boiss. روی حشرات کامل شپشه آرد *Tribolium castaneum* (Herbst.) بررسی شد. اسانس‌ها از بذور گیاهان مذکور توسط دستگاه اسانس گیر شیشه‌ای مدل Clevenger استخراج شدند. نتایج حاصل از آزمایشات نشان داد که این دو اسانس روی حشرات کامل شپشه آرد سمیت تنفسی بالایی دارند. مرگ و میر حشرات کامل ۷-۱ روزه در هر دو جنس نر و ماده با افزایش غلظت و مدت زمان اسانس‌دهی افزایش یافت. حشرات کامل جنس نر در مقایسه با جنس ماده حساسیت بیشتری به سمیت تنفسی اسانس‌ها از خود بروز دادند. سمیت تنفسی اسانس زیره سیاه روی حشرات کامل شپشه آرد بیشتر از اسانس هل بود. میزان LC₅₀ اسانس زیره پس از ۲۴ ساعت اسانس‌دهی برای حشرات کامل نر و ماده به ترتیب ۷/۵۹ و ۹/۹۰ میکرولیتر بر لیتر هوا ($\mu\text{L.L}^{-1}$) بود. میزان این شاخص در مورد اسانس هل برای افراد نر و ماده به ترتیب ۲۲/۹۱ و ۳۰/۶۳ میکرولیتر بر لیتر هوا ($\mu\text{L.L}^{-1}$) بدست آمد. نتایج این بررسی نشان داد که اسانس‌های هل و زیره سیاه منابع بیولوژیکی مؤثری هستند که می‌توانند برای حفاظت غلات انبار شده از آلودگی توسط شپشه آرد به کار برده شوند.

واژه‌های کلیدی: شپشه آرد، اسانس‌های گیاهی، هل و زیره سیاه

مقدمه

خسارت روی گیاهان زراعی ناشی از طغیان جمعیت حشرات آفت و کاهش کارایی آفت‌کش‌ها (۲۴ و ۳۶)، به جا ماندن بقایای سمی روی غلات انباری (۱۲) و بالا رفتن مخاطرات محیطی و اجتماعی (۲۴) و (۳۷) شده است. بنابراین توسعه جایگزین‌های جدید که از لحاظ اکولوژیکی فاقد اثرات باقیماندگی و جانبی روی موجودات زنده غیرهدف باشند، امری اجتناب ناپذیر است. به این منظور، سمیت تعداد زیادی از محصولات گیاهی علیه آفات انباری (۶، ۳۱ و ۴۶) بویژه به صورت اسانس‌های گیاهی (۶، ۳۳، ۴۵) مورد ارزیابی قرار گرفته است. اکثر تحقیقات انجام شده نشان داده‌اند که اسانس‌های گیاهی و یا ترکیبات موجود در آنها دارای پتانسیل بالقوه به عنوان ترکیبات جایگزین با تدخین‌کننده‌های رایج شیمیایی می‌باشند (۱۶، ۱۷، ۴۴ و ۴۷).

شپشه آرد *Tribolium castaneum* (Herbst.) یکی از مهم‌ترین آفات غلات انباری در سرتاسر دنیا محسوب می‌شود که حساسیت آن نسبت به برخی از اسانس‌های گیاهی گزارش شده است

سالانه بطور متوسط ۱۰ تا ۴۰ درصد غلات انبار شده در دنیا توسط آفات انباری از بین می‌روند و این سبب بوجود آمدن زیان اقتصادی قابل ملاحظه‌ای می‌گردد (۶ و ۲۷). افزایش مداوم جمعیت جهان باعث بروز مشکل بحرانی کمبود غذا در دنیا گشته است. در چنین شرایطی به منظور حفاظت غلات انبار شده و سایر محصولات زراعی از آلودگی توسط آفات انباری، حشره‌کش‌های شیمیایی متفاوتی بکار برده شده‌اند (۶، ۱۳ و ۵۰). کاربرد بی‌رویه و مداوم این آفت‌کش‌ها سبب بوجود آمدن مشکلات جدی نظیر سمیت مستقیم برای پارازیتوئیدها، شکارگرها، گرده‌افشان‌ها، ماهی‌ها و انسان، بروز مقاومت در آفات نسبت به آفت‌کش‌ها (۲۴، ۲۵ و ۴۹)، افزایش میزان

۱، ۲ و ۴- به ترتیب استادیار، دانشجوی کارشناسی ارشد 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

درآمدند. در هر بار اسانس گیری، ۱۰۰ گرم از مواد خشک هر گیاه به همراه ۶۰۰ میلی لیتر آب مقطر با استفاده از دستگاه اسانس گیر شیشه‌ای مدل کلونجر^۴ طی مدت زمان ۳ ساعت در دمای ۱۰۰°C اسانس گیری شد. از هر ۱۰۰ گرم ماده خشک گیاهی در حدود ۱/۵ میلی لیتر اسانس بدست آمد. اسانس‌های جمع‌آوری شده به وسیله سولفات سدیم آبگیری و تا زمان استفاده در ظروف شیشه‌ای تیره به حجم ۱۵ میلی لیتر در یخچال در دمای ۴°C نگهداری شدند.

شیشه آرد *T. castaneum* از بخش تحقیقات حشره‌شناسی کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس تهران تهیه و کلنی اولیه آن در دستگاه انکوباتور با شرایط دمای ۱۱±۳°C، رطوبت نسبی ۵±۶ درصد و دوره تاریکی ۲۴ ساعته روی محیط کشت شامل ترکیبی از ۱۰ قسمت وزنی آرد و ۱ قسمت مخمر پرورش یافت (۱۱). به منظور بدست آوردن حشرات کامل نر و ماده، جنسیت حشره در مرحله شفیرگی از روی شکل برجستگی‌های جنسی واقع در آخرین حلقه شکمی در زیر استرنومیکروسکپ مشخص گردید و شفیره‌های نر و ماده بطور جداگانه در ظروف پلاستیکی حاوی محیط کشت تا هنگام ظهور حشرات کامل نگهداری شدند.

آزمایش‌های زیست سنجی سمیت تنفسی بر اساس روش رحمان و اشमित (۳۹) و کیتا و همکاران (۱۴) در ظروف شیشه‌ای به حجم ۲۷ میلی لیتر به قطر ۲/۳ و ارتفاع ۸/۱ سانتی متر انجام شد. تعداد ۱۰ حشره کامل نر و ماده ۷-۱ روزه بطور مجزا به داخل ظرف شیشه‌ای منتقل گردید. ۶ غلظت در مقادیر بین ۱-۰/۱ میکرولیتر از اسانس زیره سیاه معادل ۳۷-۳/۷ میکرولیتر بر لیتر هوا و ۹ غلظت در مقادیر بین ۳۱-۳/۱ میکرولیتر از اسانس هل معادل ۱۲۲/۶-۳/۷ میکرولیتر بر لیتر هوا، بدون استفاده از حلال مورد آزمایش قرار گرفت. قطعات مربع شکل از کاغذ صافی (واتمن شماره ۲) در ابعاد ۲×۲ سانتی متری تهیه شد و هر قطعه کاغذ صافی داخل درپوش یک ظرف آزمایش قرار داده شد. مقدار لازم اسانس مربوط به هر یک از غلظت‌های فوق‌الذکر به وسیله میکروسمپلر ساخت شرکت برند آلمان روی کاغذ صافی داخل درپوش ریخته شد و بلافاصله دهانه ظرف آزمایش توسط درپوش مسدود گردید. در ظروف شاهد از اسانس استفاده نشد. جهت جلوگیری از نفوذ بخار اسانس به بیرون، اطراف درپوش با نوار میکروفیلیم محکم بسته شد. تعداد حشرات مرده در ظروف تیمار و شاهد پس از ۳، ۹، ۱۲ و ۲۴ ساعت اسانس‌دهی شمارش و ثبت گردید. آزمایشات برای هر مدت اسانس‌دهی در واحدهای آزمایشی جداگانه و در شرایط مشابه پرورش حشرات انجام شد. حشراتی که فاقد حرکت در پاهای، دو حلقه انتهایی شکم یا شاخک‌ها بودند، مرده تلقی شدند. درصد مرگ و میر حشرات کامل و

هل^۱ با نام عمومی کارداموم^۲ یکی از ادویه‌های بومی نواحی مرطوب آسیا محسوب می‌شود و گیاهی پایا است که به خانواده زنجبیلیان Zingiberaceae تعلق دارد (۲۳ و ۲۸). بذور هل بطور وسیع به عنوان طعم‌دهنده غذا به ویژه در سوئد، نروژ، انگلستان و آسیا استفاده می‌شوند. اسانس هل متشکل از ترکیبات منوترین نظیر -1,8 cineole، α -terpinyl acetate، α -linalool، α -terpineol و α -terpin-4-ol می‌باشد (۲۳). به نظر می‌رسد اسانس هل دارای خواص ضد باکتریایی، ضد عفونی‌کنندگی، ضد انقباض و تشنج باشد (۱ و ۲۳). بعلاوه اثرات حشره‌کشی آن روی برخی آفات انباری از جمله شیشه آرد (۱۱) و سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات (*Callosobruchus maculatus* (F.)) گزارش شده است. زیره سیاه *Bunium persicum* Boiss. با نام عمومی بلک کومین^۳ متعلق به خانواده چتریان Umbelliferae، گیاهی پایا با گل‌های سفید یا صورتی و بذور کوچک مایل به قهوه‌ای است که در نواحی گرم ایران می‌روید (۹ و ۴۲). بعلاوه این گیاه در آسیای مرکزی، پاکستان، افغانستان، کشمیر و پامیر نیز پراکنده شده است (۴۲ و ۴۸). بذور زیره سیاه بطور وسیع به عنوان ادویه مورد استفاده قرار می‌گیرند و حاوی مقادیر قابل توجهی اسانس غنی از انواع منوترین نظیر α -cymene، γ -terpinene، limonene و cuminaldehyde می‌باشند (۳۸). این گیاه دارای برخی اثرات درمانی روی اختلالات گوارشی و مثانه می‌باشد و به عنوان یک داروی ضد تشنج، دافع کرم روده، ضد آسم و ضد اختلالات تنفسی در میان ایرانیان شناخته شده است (۳). اثرات قارچ‌کشی بالای ترکیبات فرار از اسانس زیره سیاه توسط سکین و همکاران گزارش شده است (۴۳). گزارشی از اثر حشره‌کشی اسانس این گونه در منابع علمی یافت نشد اما خاصیت حشره‌کشی اسانس تعدادی گونه مشابه آن از خانواده چتریان علیه شیشه آرد گزارش شده است (۶). در بررسی حاضر، اثرات حشره‌کشی اسانس‌های بذور دو گونه گیاهی هل و زیره سیاه علیه حشرات کامل شیشه آرد مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

بذور خشک هل *E. cardamomum* در اواسط آبان ماه ۱۳۸۶ از بازار محلی مشهد خریداری شد. بذور زیره سیاه *B. persicum* در اوایل مهر ماه ۱۳۸۶ از مزرعه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد جمع‌آوری و در شرایط آزمایشگاه (دمای ۳±۲۵°C) به مدت یک هفته خشک گردید. جهت تهیه اسانس، بذور خشک به شکل پودر

4 - Clevenger
5 - Whatman No. 2
6 - Brand

1 - *Elletaria cardamomum* Maton
2 - Cardamom
3 - Black cumin

در هر دو اسانس مورد مطالعه با افزایش غلظت اسانس، شیب خطوط رگرسیون بین دو متغیر فوق الذکر افزایش یافت (جدول ۱).

آنالیز پروبیت روی داده‌های مرگ و میر حاصل پس از ۲۴ ساعت اسانس دهی، جهت مقایسه سمیت اسانس‌ها مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۲). مقادیر شیب خطوط پروبیت مرگ و میر برای افراد نر و ماده در اسانس‌ها بین ۲/۳۵ تا ۲/۸۲ متغیر بود. ولی مقایسه شیب خطوط بر اساس آزمون فرضیه موازی بودن خطوط نشان داد که شیب خطوط پروبیت در بین افراد نر و ماده در دو اسانس مورد مطالعه اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشتند ($X^2=2.768$, $df=3$, $P=0.429$). بنابراین شیب معادل (± 0.11) ۲/۵۸ به عنوان شیب مشترک بین خطوط پروبیت مرگ و میر افراد نر و ماده برای اسانس‌های هل و زیره سیاه محاسبه گردید. با توجه به موازی بودن خطوط پروبیت، نتایج آزمون فرضیه یکسان بودن خطوط نشان داد که ثابت‌های رگرسیون پروبیت مرگ و میر افراد نر و ماده در اثر اسانس‌ها با هم اختلاف معنی دار داشتند ($X^2=268.24$, $df=6$, $P<0.001$).

نتایج آنالیز پروبیت نشان داد که در همه‌ی موارد فاکتور g کمتر از ۰/۵ و مقدار آزمون t بیشتر از ۱/۹۶ بود. فاکتور هتروژنیته^۲ در اسانس هل برای افراد ماده و در اسانس زیره برای افراد نر کمتر از ۱ بدست آمد. فاکتور هتروژنیته بزرگتر از ۱ برای افراد نر در اسانس هل (۱/۲۶) و برای افراد ماده در اسانس زیره سیاه (۱/۱۸) در نتایج آنالیز پروبیت، نشان‌دهنده اعمال فاکتور g (۰/۹۵) در تصحیح مقادیر LC_{50} بود. شاخص‌های LC_{90} و LC_{50} نشان دادند که اسانس زیره سیاه در مقایسه با اسانس هل دارای سمیت تنفسی بالاتری علیه حشرات کامل شیشه آرد بود. کمترین میزان سمیت مربوط به اسانس هل علیه حشرات کامل ماده با LC_{50} معادل ۳۰/۶۳ میکرولیتر بر لیتر هوا و بیشترین میزان سمیت مربوط به اسانس زیره سیاه علیه حشرات نر با LC_{50} معادل ۷/۵۹ میکرولیتر بر لیتر هوا بود (جدول ۲).

مقایسه حساسیت حشرات نر و ماده نسبت به هر یک از اسانس‌ها با استفاده از نسبت LC_{50} و حدود اطمینان ۹۵٪ آن نشان داد که میزان LC_{50} اسانس هل علیه حشرات ماده بطور معنی داری بیشتر از میزان این شاخص علیه حشرات نر بود. نتیجه مشابه در مورد مقایسه LC_{50} اسانس زیره سیاه علیه حشرات ماده و نر نیز حاصل گردید. مقایسه سمیت اسانس‌ها با استفاده از نسبت LC_{50} و حدود اطمینان ۹۵٪ آن نشان داد که برای حشرات ماده، LC_{50} اسانس هل بطور معنی داری بزرگتر از LC_{50} اسانس زیره سیاه بود. نتیجه مشابه در مورد مقایسه LC_{50} دو اسانس علیه حشرات نر بدست آمد (جدول ۳).

به روش مشابه، مقایسه شاخص‌های LC_{90} اسانس‌ها نشان داد که میزان LC_{90} اسانس هل علیه حشرات ماده تفاوت معنی داری با

رگرسیون بین درصد مرگ و میر و مدت اسانس‌دهی در غلظت‌های مختلف با استفاده از نرم افزار رایانه‌ای Minitab Version 13 محاسبه شد. سمیت اسانس‌ها توسط مدل پروبیت با استفاده از نرم افزار Polo-Pc آنالیز گردید و پارامترهای مختلف آن بین اسانس‌ها مقایسه شد. مقادیر LC_{50} و LC_{90} برای حشرات نر و ماده در هر دو اسانس پس از ۲۴ ساعت اسانس دهی ارزیابی و توسط روش روبرتسون و پریسلر^۱ مورد مقایسه قرار گرفت (۴۱).

نتایج

سمیت تنفسی اسانس‌های هل و زیره سیاه روی حشرات کامل ۷-۱ روزه شیشه آرد بسته به غلظت اسانس و مدت اسانس‌دهی متغیر بود (شکل ۱). در ۳ و ۶ ساعت اولیه از شروع آزمایش در اسانس هل و در ۳ ساعت اولیه در اسانس زیره سیاه در تمام غلظت‌های مورد استعمال هیچ مرگ و میری مشاهده نشد. پس از ۹ ساعت اسانس‌دهی، بالاترین میزان مرگ و میر در افراد ماده (۳۶/۶٪) و نر (۴۰٪) در اثر اسانس هل با غلظت ۱۲۳ میکرولیتر بر لیتر هوا حاصل گردید. در حالیکه در همین مدت زمان در اثر اسانس زیره سیاه، بالاترین میزان تلفات در افراد ماده (۴۳/۳٪) و نر (۵۸/۳٪) با غلظت ۳۷ میکرولیتر بر لیتر هوا بدست آمد. در مدت ۱۲ ساعت، غلظت ۹ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس هل تلفاتی در حشرات ماده ایجاد نکرد و در حشرات نر فقط ۳/۳٪ تلفات حاصل گردید. در حالیکه در مدت و غلظت مشابه، اسانس زیره سیاه در حشرات ماده و نر به ترتیب ۳۰ و ۳۸/۳٪ تلفات ایجاد نمود. همچنین در مدت ۲۴ ساعت، غلظت ۴ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس هل روی حشرات ماده اثری نداشت و روی حشرات نر فقط ۲/۳٪ تلفات ایجاد کرد. در حالیکه در مدت و غلظت مشابه، اسانس زیره سیاه در حشرات ماده و نر به ترتیب ۱۰ و ۱۸/۳٪ تلفات ایجاد نمود. در مدت ۲۴ ساعت غلظت ۱۲۳ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس هل تلفات حدود ۹۶٪ روی حشرات ماده ایجاد کرد ولی همین میزان تلفات روی حشرات نر با غلظت ۷۹ میکرولیتر بر لیتر هوا بوجود آمد. در مورد اسانس زیره سیاه در مدت ۲۴ ساعت، تلفات حدود ۹۶٪ روی حشرات ماده یا نر در اثر غلظت ۳۷ میکرولیتر بر لیتر هوا حاصل شد. در کلیه آزمایش‌های زیست‌سنجی این بررسی، هیچ مرگ و میری در ظروف شاهد مشاهده نشد.

نتایج آنالیز رگرسیون خطی بین میزان مرگ و میر و مدت اسانس‌دهی در غلظت‌های متفاوت اسانس نشان داد که در تمام غلظت‌های مورد مطالعه هر دو اسانس، روابط مثبت و معنی دار بین این دو متغیر وجود داشت. ضرایب همبستگی (R^2) این روابط نشان داد که بین ۷۵ تا ۹۵ درصد از تغییرات در میزان تلفات حشرات کامل ناشی از تغییر در مدت زمان قرار گرفتن در معرض اسانس بوده است.

میزان این شاخص علیه حشرات نر نداشت. همین نتیجه در مورد مقایسه LC₉₀ اسانس زیره سیاه علیه حشرات ماده و نر نیز بدست آمد. مقایسه سمیت اسانس ها بر اساس شاخص LC₉₀ برای هر یک از

(جدول ۱) - نتایج تجزیه رگرسیون خطی بین میانگین درصد تلفات حشرات کامل شپشه آرد *T. castaneum* و مدت اسانس دهی بر حسب جنس حشره در غلظت های مختلف از اسانس های هل و زیره سیاه^۳

P	F(1,3)	ضریب همبستگی (R ²)	شیب رگرسیون (خطای معیار ±)	غلظت اسانس (μL.L ⁻¹)	اسانس زنده
—	—	—	—	۳/۷	هل <i>E. cardamomum</i>
—	—	—	—	۵/۶	
—	—	—	—	۸/۹	
—	—	—	—	۱۳/۷	
—	—	—	—	۲۱/۱	
۰/۰۱۳	۲۸/۹۶	۰/۸۷۵	۲/۴۶۶±۰/۴۵۸	۳۳/۰	
۰/۰۰۸	۴۰/۷۹	۰/۹۰۹	۳/۵۳۵±۰/۵۵۳	۵۱/۱۱	
۰/۰۰۳	۸۱/۰۳	۰/۹۵۲	۴/۶۹۶±۰/۵۲۲	۷۹/۳	
۰/۰۲۳	۱۸/۶۴	۰/۸۱۵	۴/۹۳۲±۱/۱۴۲	۱۲۲/۶	
—	—	—	—	۳/۷	
—	—	—	—	۵/۶	
۰/۰۱۵	۲۵/۸۹	۰/۸۶۲	۱/۱۸۷±۰/۲۳۳	۸/۹	
۰/۰۱۲	۳۰/۵۶	۰/۸۸۱	۱/۳۶۲±۰/۲۴۶	۱۳/۷	
۰/۰۰۸	۳۹/۷۵	۰/۹۰۶	۲/۰۷۸±۰/۳۲۹	۲۱/۱	
۰/۰۰۸	۴۰/۵۷	۰/۹۰۸	۳/۰۱۴±۰/۴۷۳	۳۳/۰	
۰/۰۰۹	۳۸/۱۱	۰/۹۰۳	۴/۰۵۶±۰/۶۵۷	۵۱/۱۱	
۰/۰۱۵	۲۴/۹۴	۰/۸۵۷	۴/۸۹۰±۰/۹۷۹	۷۹/۳	
۰/۰۲۳	۱۸/۸۰	۰/۸۱۷	۵/۰۸۴±۱/۱۷۲	۱۲۲/۶	
۰/۰۱۰	۳۳/۱۵	۰/۸۸۹	۰/۴۴۹±۰/۰۷۸	۳/۷	زیره سیاه <i>B. persicum</i>
۰/۰۰۹	۳۵/۷۰	۰/۸۹۷	۱/۶۰۲±۰/۲۶۸	۵/۹	
۰/۰۰۳	۷۵/۰۶	۰/۹۴۹	۲/۵۳۰±۰/۲۹۲	۹/۳	
۰/۰۰۴	۶۴/۴۱	۰/۹۴۱	۳/۱۲۰±۰/۳۸۹	۱۵/۰	
۰/۰۰۳	۷۵/۷۳	۰/۹۴۹	۳/۶۸۷±۰/۴۲۴	۲۳/۳	
۰/۰۰۶	۴۷/۰۸	۰/۹۲۰	۴/۴۷۵±۰/۶۵۲	۳۷/۰	
۰/۰۱۲	۳۰/۶۴	۰/۸۸۱	۰/۹۵۱±۰/۱۷۲	۳/۷	
۰/۰۰۳	۸۰/۸۷	۰/۹۵۲	۲/۱۷۳±۰/۲۴۲	۵/۹	
۰/۰۰۴	۶۰/۷۲	۰/۹۳۷	۲/۹۴۵±۰/۳۷۸	۹/۳	
۰/۰۰۵	۵۷/۴۵	۰/۹۳۴	۳/۵۰۱±۰/۴۶۲	۱۵/۰	
۰/۰۰۴	۶۶/۱۴	۰/۹۴۲	۴/۰۰۳±۰/۴۹۲	۲۳/۳	
۰/۰۳۶	۱۳/۲۳	۰/۷۵۳	۴/۱۸۹±۱/۱۵۲	۳۷/۰	

^۳ قطعات کاغذ صافی با قطر ۲ سانتی متر آغشته به اسانس داخل درب ظروف مکاری قرار داده شد. — به دلیل عدم وجود تلفات حشرات کامل در اکثر مدت زمان های مورد مطالعه، رگرسیون غیر قابل محاسبه بود.

(جدول ۲) - آنالیز پروبیت روابط مرگ و میر - غلظت پس از ۲۴ ساعت ناشی از سمیت تنفسی اسانس های هل و زیره سیاه روی حشرات کامل شپشه آرد *T. castaneum* به تفکیک جنس حشرات

غلظت های کشنده ($\mu\text{L.L}^{-1}$) (حدود اطمینان ۹۵٪)	فاکتور g (۰/۹۵)	هتروژنیته	نسبت t	پروبیوت مرگ و میر - غلظت		تعداد انگ	نسبت شپشه	جنس اسانس
				ثابت (\pm SE)	شیب (\pm SE)			
LC ₉₀	LC ₅₀							
۸۷/۲۶ (۷۳/۰۴-۱۰۹/۴۱)	۳۰/۶۳ (۲۷/۲۷-۳۴/۴۹)	۰/۰۲۱	۰/۷۵	۱۳/۳۸	۲/۸۲ (\pm ۰/۲۱)	-۴/۱۹ (\pm ۰/۳۲)	۵۴۰	زیره سیاه <i>E. cardamomum</i>
۸۰/۲۵ (۵۹/۴۰-۱۲۴/۵۹)	۲۲/۹۱ (۱۹/۰۷-۳۷/۹۳)	۰/۰۴۸	۱/۲۶	۱۲/۵۹	۲/۳۵ (\pm ۰/۱۹)	-۳/۲۰ (\pm ۰/۲۵)	۵۴۰	
۳۰/۸۴ (۲۲/۹۰-۵۰/۴۷)	۹/۹۰ (۷/۹۳-۱۲/۱۴)	۰/۰۸۶	۱/۱۸	۱۰/۲۹	۲/۶۰ (\pm ۰/۲۵)	-۲/۵۸ (\pm ۰/۲۷)	۴۲۰	زیره سیاه <i>B. persicum</i>
۲۳/۴۳ (۱۹/۳۲-۳۰/۵۶)	۷/۵۹ (۶/۵۱-۸/۶۸)	۰/۰۳۹	۰/۶۱	۹/۹۴	۲/۶۲ (\pm ۰/۲۶)	-۲/۳۰ (\pm ۰/۲۷)	۴۲۰	

SE : خطای معیار

بحث

گزارش کردند (۲۴). با استناد به حجم ظروف آزمایش در تحقیق فوق این میزان معادل ۲۷/۶۵ میکرولیتر بر لیتر هوا برآورد گردید که با نتایج تحقیق حاضر روی شپشه آرد تقریباً تطابق دارد. هوانگ و همکاران نشان دادند که مقدار LC₅₀ تنفسی اسانس هل پس از ۲۴ ساعت اسانس دهی علیه حشرات کامل (سن ۲-۴ هفتگی) شپشه آرد و شپشه ذرت *Sitophilus zeamais Motsch.* به ترتیب ۱/۵۹ و ۰/۷۲ میلی گرم بر سانتی متر مربع بود (۱۱). موندال و خالق الزمان میزان LC₅₀ تنفسی اسانس هل پس از ۲۴ ساعت اسانس دهی را برای حشرات کامل ۱-۳ روزه شپشه آرد ۰/۲۲۳ میلی گرم بر سانتی متر مربع گزارش کردند (۲۹). با استناد به حجم ظروف مورد استفاده در آزمایشات زیست سنجی، میزان LC₅₀ اسانس هل علیه شپشه آرد که توسط هوانگ و همکاران و موندال و خالق الزمان گزارش گردیده بود، به ترتیب معادل ۲۰۰ و ۱۳ میکرولیتر بر لیتر هوا تخمین زده شد که با یکدیگر و همچنین با مقادیر LC₅₀ در تحقیق حاضر (۲۲/۹۱ و ۳۰/۶۳ میکرولیتر بر لیتر هوا به ترتیب برای جنس نر و ماده) تفاوت قابل ملاحظه ای دارند. نتایج تحقیقات ذکر شده به دلایل مختلف از جمله تفاوت در روش استخراج اسانس یا منبع تهیه آن، استفاده از حلال جهت رقیق کردن اسانس، تفاوت در روش کاربرد اسانس و حجم ظروف آزمایش، شرایط پرورش حشرات و سن، اندازه یا وزن حشرات کامل و نامشخص بودن جنسیت حشرات مورد آزمایش مستقیماً با نتایج بررسی حاضر قابل مقایسه نمی باشد. به عنوان مثال هوانگ و همکاران از حلال n-هگزان برای استخراج اسانس و همچنین رقیق کردن آن استفاده کردند و پس از ۲۴ ساعت اسانس دهی، حشرات را به مدت یک هفته در ظروف فاقد اسانس و روی محیط غذایی تازه نگهداری نمودند و سپس میزان تلفات را ثبت کردند. در حالیکه در تحقیقات موندال و خالق الزمان، بدون ذکر روش

نتایج این تحقیق نشان داد که بر اساس شاخص LC₅₀، حشرات ماده نسبت به سمیت تنفسی بخار هر دو اسانس در مقایسه با حشرات نر حدود ۱/۳ برابر مقاوم تر بودند (جدول ۳). هر چند بر اساس شاخص LC₉₀ این تفاوت حساسیت بین حشرات ماده و نر نسبت به اسانس ها معنی دار نبود (جدول ۴). حساسیت بیشتر افراد نر شپشه آرد در مقایسه با افراد ماده نسبت به ترکیبات خالص برخی از عصاره های گیاهی در نتایج تحقیقات خاتون و همکاران و پروین و همکاران نیز گزارش شده است (۱۵، ۳۴). میزان تلفات حشرات کامل ۱-۷ روزه با افزایش غلظت اسانس و مدت اسانس دهی از ۳ تا ۲۴ ساعت افزایش یافت (شکل ۱). وجود روابط مثبت بین درصد تلفات و مدت اسانس دهی توسط آنالیز رگرسیون خطی (جدول ۱) و بین درصد تلفات و غلظت اسانس ها به وسیله آنالیز پروبیت (جدول ۲) نیز تایید گردید. نظیر این قبیل روابط در نتایج آزمایشات زیست سنجی در مورد سمیت سایر اسانس های گیاهی روی آفات انباری اشاره شده است (۳۰، ۳۲).

نتایج بررسی حاضر نشان داد که اسانس زیره سیاه بسیار مؤثرتر از اسانس هل برای هر دو جنس ماده و نر شپشه آرد بود؛ میزان LC₅₀ اسانس هل بیش از سه برابر میزان این شاخص در اسانس زیره سیاه بود (جدول ۳). در بررسی حاضر مقدار LC₅₀ تنفسی اسانس هل پس از ۲۴ ساعت روی حشرات کامل نر و ماده شپشه آرد به ترتیب معادل ۲۲/۹۱ و ۳۰/۶۳ میکرولیتر بر لیتر هوا برآورد گردید (جدول ۲). سمیت اسانس هل روی برخی آفات انباری از جمله شپشه آرد در منابع علمی بررسی شده است. محفوظ و خالق الزمان میزان LC₅₀ تنفسی اسانس هل در مدت ۲۴ ساعت علیه سوسک چهار نقطه ای حبوبات *C. maculatus* را برابر ۳۰۴/۱۲ میکروگرم بر سانتی متر مربع

Oryzaephilus surinamensis (L.) و تعدادی آفات بهداشتی مانند مگس خانگی *Musca domestica* L. و سوسری آلمانی *Blattella germanica* (L.) توسط لی و همکاران بررسی گردید (۱۸، ۱۹ و ۲۱). بر اساس گزارش لی و همکاران ترکیب limonene در مدت ۱۴ ساعت باعث ۶۰٪ تلفات در حشرات کامل شپشه آرد و ۱۰۰٪ تلفات در سایر حشرات فوق‌الذکر گردید. در تحقیقات متعدد سمیت تماسی و تنفسی limonene که از اجزای عمده اسانس زیره سیاه می‌باشد علیه کک‌های مقاوم به سم مالاتیون و برخی پارازیت‌های دام نظیر کک گربه (*Ctenocephalides felis* (Bouché)) گزارش گردید (۷ و ۱۰). بنابراین منوترین‌ها و سایر متابولیت‌های ثانویه ممکن است اثر سمیت تنفسی اسانس‌های زیره سیاه و هل روی شپشه آرد در بررسی حاضر را توجیه کند.

در بررسی حاضر مقادیر LC_{50} تنفسی اسانس زیره سیاه در مدت ۲۴ ساعت علیه حشرات کامل نر و ماده شپشه آرد به ترتیب معادل ۷/۵۹ و ۹/۹۰ میکرولیتر بر لیتر هوا بدست آمد که خیلی کمتر از میزان LC_{50} تنفسی اسانس گونه‌های مشابه از خانواده چتریان نظیر (*Trachyspermum ammi* (L.) ($LC_{50}=13/48$))،

Anethum graveolens L. ($LC_{50}=16/66$)، زیره سبز *Cuminum*

cyminum L. ($LC_{50}=16/26$) و *Foeniculum vulgare* Mill.

($LC_{50}=18/55$) بود و نشان‌دهنده سمیت بیشتر اسانس زیره سیاه در

مقایسه با گونه‌های خویشاوند می‌باشد (۵ و ۶). علاوه بر خاصیت

حشره‌کشی، اسانس زیره سیاه علیه قارچ‌های بیماری‌زای گیاهی نیز

موثر است. سکین و همکاران (۲۰۰۷) اثر قارچ‌کشی زیادتر ترکیبات

فرار اسانس زیره سیاه را در مقایسه با زیره سبز و هل گزارش کردند (۴۳). علیرغم وجود مستندات علمی متعدد که سمیت تماسی و تنفسی

اسانس‌های گیاهی و اجزای متشکله آنها را تایید می‌کند، مکانیسم عمل این ترکیبات هنوز بخوبی شناخته نشده است (۲۱).

استخراج، اسانس هل با درجه خلوص ۹۰ درصد از بازار تهیه شده بود و از استون جهت رقیق کردن آن استفاده گردید؛ پژوهشگران اخیر، مشابه تحقیق حاضر، مرگ و میر حشرات را بلافاصله پس از ۲۴ ساعت اسانس‌دهی ثبت کردند. معذالک در هر دو تحقیق مذکور، بر خلاف تحقیق حاضر، جنسیت حشرات مورد آزمایش نامشخص بود، ضمن اینکه سن حشرات و حجم ظروف آزمایش نیز متفاوت بود. در تحقیق حاضر، اسانس‌ها بدون رقیق کردن مورد استفاده قرار گرفتند. فاکتورهای فوق‌الذکر به ویژه عوامل مربوط به منبع اسانس یا روش استخراج آن (۲، ۲۶ و ۴۰) و شرایط پرورش حشرات در نتایج حاصل از یک آزمایش زیست‌سنجی تاثیر به سزایی دارند (۴ و ۳۵). علاوه بر این، در آزمایشات زیست‌سنجی ترکیبات گازی یا تدخینی عمدتاً مقدار وزنی یا حجمی ترکیب سمی در واحد حجم هوا به عنوان واحد غلظت سم توصیه شده است ولی بیان وزن یا حجم سم در واحد سطح مورد سمپاشی به منظور بررسی اثر تماسی ماده سمی به کار می‌رود (۴).

سمیت تنفسی ترکیبات خالص منوترین و نیز اسانس‌های گیاهی حاوی این ترکیبات روی آفات مختلف در منابع علمی تاکنون گزارش گردیده است (۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۰، ۲۱، ۲۴، ۲۹ و ۳۰). بر اساس تحقیقات لی و همکاران اسانس گونه‌های گیاهی Maiden & *Eucalyptus nicholii* Blakely و *Melaleuca fulgens* R.Br. (خانواده Myrtaceae) غنی از 1,8-cineole می‌باشد (۱۷). نامبردگان LC_{50} اسانس گونه‌های فوق‌الذکر علیه شپشه آرد را به ترتیب ۱۳/۷ و ۱۴/۱ میکرولیتر بر لیتر هوا گزارش کردند و نشان دادند که سمیت آنها با ترکیب خالص 1,8-cineole ($LC_{50}=15/3$) میکرولیتر بر لیتر) مشابه بود. حدود ۳۵ تا ۵۲ درصد از اسانس هل حاوی 1,8-cineole می‌باشد (۲۳). سمیت تنفسی ترکیبات خالص linalool، terpineol، cineole، limonene، cymene و terpinene که از اجزای اسانس‌های زیره سیاه و هل نیز محسوب می‌شوند، روی حشراتی نظیر شپشه آرد، سرخرطومی برنج (*S. oryzae* (L.)) شپشه دندانه‌دار غلات

(جدول ۳) - نسبت های LC_{50} و حدود اطمینان ۹۵٪ آنها جهت مقایسه‌ی سمیت تنفسی اسانس‌های هل و زیره سیاه علیه حشرات کامل شپشه

آرد *T. castaneum*

متغیر	LC_{50} نسبت	حدود اطمینان ۹۵٪
نوع اسانس	(LC_{50} نر : LC_{50} ماده)	مقایسه بین حساسیت حشرات ماده و نر نسبت به هر اسانس
هل	۱/۳۳۷	* ۱/۱۱۶-۱/۶۰۱
زیره سیاه	۱/۳۰۵	* ۱/۰۷۱-۱/۵۸۹
جنس حشره	(LC_{50} زیره سیاه : LC_{50} هل)	مقایسه بین سمیت اسانس‌ها روی هر جنس حشره
ماده	۳/۰۹۶	* ۲/۵۸۶-۳/۷۰۵
نر	۳/۰۲۱	* ۲/۴۷۹-۳/۶۸۲

۳ - حدود اطمینان ۹۵٪ بر اساس روش روبرتسون و پریسلر (۱۹۹۲) محاسبه شد.

* - اختلاف معنی دار بین LC_{50} های مقایسه شده در سطح ۵٪ وجود دارد.

(جدول ۴) - نسبت های LC₉₀ و حدود اطمینان ۹۵٪ آنها جهت مقایسه ی سمیت تنفسی اسانس های هل و زیره سیاه علیه حشرات کامل شپشه

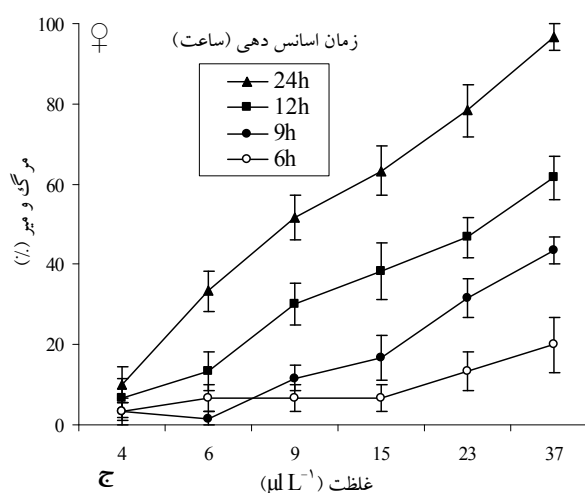
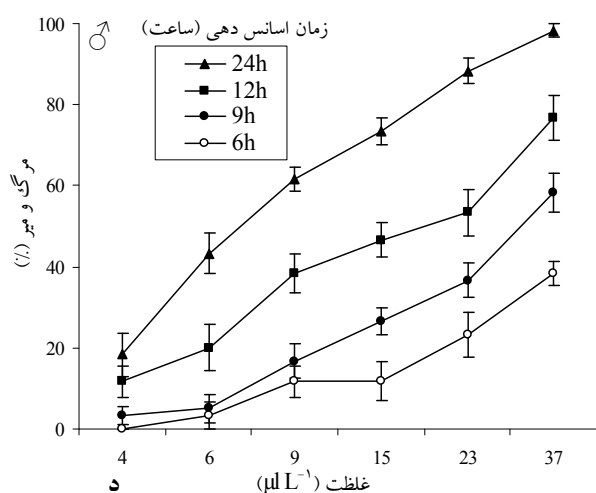
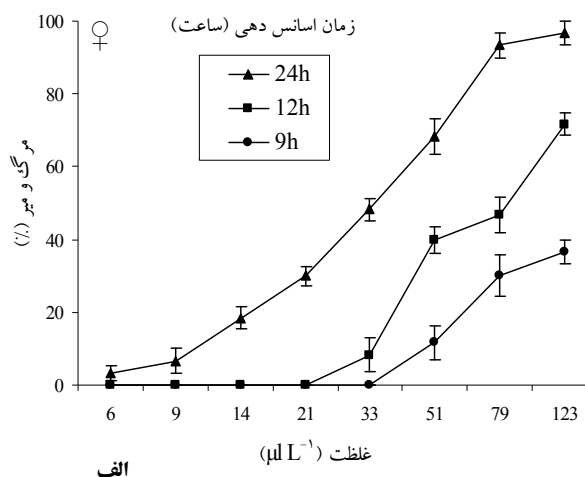
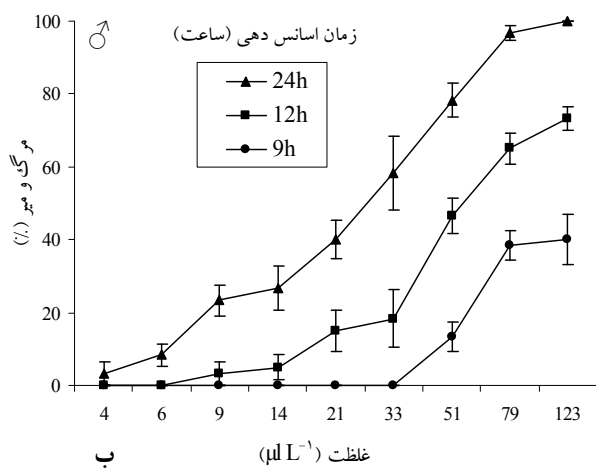
آرد *T. castaneum*

متغیر	LC ₉₀ نسبت	حدود اطمینان ۹۵٪
نوع اسانس	(LC ₉₀ نر : LC ₉₀ ماده)	مقایسه بین حساسیت حشرات ماده و نر نسبت به هر اسانس
هل	۱/۰۸۸	۰/۷۸۳-۱/۵۱۰ NS
زیره سیاه	۱/۳۱۶	۰/۹۴۴-۱/۸۳۴ NS
جنس حشره	(LC ₉₀ زیره سیاه : LC ₉₀ هل)	مقایسه بین سمیت اسانس ها روی هر جنس حشره
ماده	۲/۸۳۰	۲/۰۶۳-۳/۸۸۳ *
نر	۳/۴۲۴	۲/۴۲۹-۴/۸۲۸ *

NS - حدود اطمینان ۹۵٪ بر اساس روش روبرتسون و پریسلر (۱۹۹۲) محاسبه شد.

* - اختلاف معنی دار بین LC₉₀ های مقایسه شده در سطح ۵٪ وجود ندارد.

* - اختلاف معنی دار بین LC₉₀ های مقایسه شده در سطح ۵٪ وجود دارد.



(شکل ۱) - میانگین (±خطای معیار) درصد مرگ و میر حشرات کامل ۱-۷ روزه ماده (♀) و نر (♂) شپشه آرد *T. castaneum* بر حسب مدت اسانس دهی در اثر غلظت های مختلف اسانس های هل (*E. cardamomum*) (الف و ب) و زیره سیاه (*B. persicum*) (ج و د)

نتیجه گیری

مختلف با اثرات حشره کشی در سرتاسر دنیا وجود دارند. بنابراین به منظور دستیابی به آفت کش های ارزان تر با کمترین آلودگی زیست محیطی، نیاز به انجام تحقیقات بیشتر وجود دارد.

سپاسگزاری

پژوهش حاضر بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده دوم می باشد. از معاونت محترم پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به خاطر پشتیبانی مالی صمیمانه تشکر می کنیم. همچنین از سرکار خانم مهندس منفرد کارشناس آزمایشگاه گروه گیاه پزشکی آن دانشگاه به خاطر همکاری در پرورش حشرات در طی انجام آزمایشات زیست سنجی نهایت تشکر را داریم.

نتایج این بررسی نشان داد که اسانس های زیره سیاه و هل سمیت تنفسی بالایی علیه حشرات کامل شپشه آرد *T. castaneum* دارند و پتانسیل کاربرد به عنوان محافظت کننده غلات علیه آفات انباری را دارند. معذالک به منظور جداسازی و شناسایی ترکیبات فعال، حذف عطر یا بوی آنها، بررسی میزان جذب آنها به مواد انباری و دستیابی به فرمولاسیون مناسب جهت کاربرد آنها به عنوان محافظت کننده های مواد انباری، انجام تحقیقات بیشتر ضروری است. در حال حاضر، بی خطر بودن یک آفت کش برای محیط زیست از اهمیت بیشتری برخوردار است. تحقیقاتی که در این زمینه تاکنون روی اسانس های گیاهی انجام گرفته امید بخش است. گونه های گیاهی

منابع

- 1- Al-Zuhair H., El-Sayeh B., Ameen H.A. and Al-Shoora H. 1996. Pharmacological studies of cardamom oil in animals. *Pharmacological Research*, 34(1-2): 79-82.
- 2- 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.
- 3- Boskabady M.H. and Moghaddas A. 2004. Antihistaminic effect of *Bunium persicum* on Guinea pig tracheal chains. *Iranian Biomedical Journal*, 8(3):149-155.
- 4- Busvine J.R. 1971. A Critical Review of the Techniques for Testing Insecticides. Commonwealth Agricultural Bureaux, London. pp. 345.
- 5- Chaubey M.K. 2006. Toxicity of essential oils from *Cuminum cyminum* (Umbelliferae), *Piper nigrum* (Piperaceae) and *Foeniculum vulgare* (Umbelliferae) against stored-product beetle *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 34:1719-1727.
- 6- Chaubey M.K. 2007. Insecticidal activity of *Trachyspermum ammi* (Umbelliferae), *Anethum graveolens* (Umbelliferae) and *Nigella sativa* (Ranunculaceae) essential oils against stored-product beetle *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). *African Journal of Agricultural Research*, 2(11):596-600.
- 7- Collart M.G. and Hink W.F. 1986. Development of resistance to malathion in cat flea (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Economic Entomology*, 79(6):1570-1572.
- 8- Emara T. and M. Ryan 1997. Effect of two crude botanical extracts on the red flour beetle, *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of the Egyptian German Society of Zoology*, 23:125-140.
- 9- Ghahraman, A. 1993. Plant Systematics. Cormophytes of Iran. Nasher Daneshgahi Publisher, Tehran. pp. 671.
- 10- Hink W.F. and Fee B.J. 1986. Toxicity of D-limonene, the major component of citrus peel oil, to all life stages of cat flea, *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). *Journal of Medical Entomology*, 23: 400-404.
- 11- 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(2):107-117.
- 12- Jbilou R., Ennabili A. and Sayah F. 2006. Insecticidal activity of four medicinal plant extracts against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *African Journal of Biotechnology*, 5(10): 936-940.
- 13- Jembere B., Obeng-Ofori D., Hassanali A. and Nyamasyo G. 1995. Products derived from the leaves of *Ocimum kilimandscharium* (Labiatae) as post-harvest grain protectants against the infestation of three major stored product insect pests. *Bulletin of Entomological Research*, 85:361-367.
- 14- 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(4): 339-349.
- 15- Khatune N.A., Islam M.E., Rahman M.A.A., Baki M.A., Sadik G. and Haque M.E. 2002. Pesticidal activity of a novel coumestan derivative isolated from *Psoralea corylifolia* Linn. against *Tribolium castaneum* Herbst. Adults and larvae (Coleoptera: Tenebrionidae). Pakistan Journal of Agronomy, 1(4):112-115.
 - 16- Klocke J.A. 1989. Plant compounds as source and models of insect control agents. Economic and Medicinal Plant Research. (ed. K. Hostettmann), pp. 103-144. Academic Press, London.
 - 17- Lee B.H., Annis P.C., Tumaalii F. and Choi W.S. 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(5):553-564.
 - 18- 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(4):317-320.
 - 19- Lee B.H., Lee S.E., Annis P.C., Pratt S.J., Part B.S. and Tumaalii F. 2002. Fumigant toxicity of essential oils and monoterpenes against the red flour beetle, *Tribolium castaneum* Herbst. Journal of Asia-Pacific Entomology, 5(2):237-240.
 - 20- Lee S.E., Lee B.H., Choi W.S., Park B.S., Kim J.G. and Campbell B.C. 2001. Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). Pest Management Science, 57: 548-553.
 - 21- Lee S.E., Peterson C.J. and Coats J.R. 2003. Fumigation toxicity of monoterpenoids to several stored product insects. Journal of Stored Products Research, 39(1):77-85.
 - 22- Liu Z.L. and Ho S.H. 1999. Bioactivity of essential oils extracted from *Evodia rutaecarpa* Hook f. et Thomas against the grain storage insects, *Sitophilus zeamais* Motsch. and *Tribolium castaneum* (Herbst). Journal of Stored Products Research, 35(4):317-328.
 - 23- Lucchesi M.E., Smadja J., Bradshaw S., Louw W. and Chemat F. 2007. Solvent free microwave extraction of *Elletaria cardamomum* L.: A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. Journal of Food Engineering, 79(3):1079-1086.
 - 24- Mahfuz I. and Khalequzzaman M. 2007. Contact and fumigant toxicity of essential oils against *Callosobruchus maculatus*. Journal of Zoology Rajshahi University, 26: 63-66.
 - 25- 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(1):11-18.
 - 26- 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.
 - 27- Matthews G.A. 1993. Insecticide application in stores. Application Technology for Crop Protection. (eds. G.A. Matthews and E.C. Hislop), pp. 305-315. CAB International, Wallingford, UK.
 - 28- Mehra K. 2001. Indian system of innovation in biotechnology - A case study of cardamom. Technovation, 21: 15-23.
 - 29- Mondal M. and Khalequzzaman M. 2006. Toxicity of essential oils against red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). Journal of Biotechnology Sciences, 14: 43-48.
 - 30- Moravvej G. and Abbar S. 2008. Fumigant toxicity of citrus oils against cowpea seed beetle *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). Pakistan Journal of Biological Sciences, 11(1): 48-54.
 - 31- Mukherjee S.N. and Joseph M. 2000. Medicinal plant extracts influencing insect growth and reproduction. Journal of Medicinal and Aromatic Plant Sciences, 22: 38-47.
 - 32- Negahban M., Moharrampour S. and Sefidkon F. 2007. Fumigant toxicity of essential oil from *Artemisia sieberi* Besser against three stored-product insects. Journal of Stored Products Research, 43(2): 123-128.
 - 33- Ngamo T.L.S., Goudoum A., Ngassoum M.B., Mapongmetsem P.M., Lognay G., Malaisse F. and Hance T. 2007. Chronic toxicity of essential oils of 3 local aromatic plants towards *Sitophilus zeamais* Motsch (Coleoptera: Curculionidae). African Journal of Agricultural Research, 2: 164-167.
 - 34- Parvin M.S., Islam M.E., Rahman M.M. and Haque M.E. 2003. Pesticidal activity of pure compound Annotemoyin-1 isolated from chloroform extract of the plant *Annona squamosa* Linn. against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). Pakistan Journal of Biological Sciences, 6(12): 1088-1091.
 - 35- Perry A.S., Yamamoto I., Ishaaya I. and Perry R.Y. 1998. Insecticides in Agriculture and Environment: Retrospects

- and Prospects. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York. pp. 261.
- 36- Pimentel D. 1977. Ecological basis of insect pest, pathogen and weed problems. Origin of Pest, Parasites Disease and Weed Problems. (eds. S.M. Cherrett and G.R. Sagar), pp. 3-6. Blackwell's Scientific Publications, Oxford, UK.
- 37- 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(2):125-140.
- 38- Pourmortazavi S.M., Ghadiri M. and Hajimirsadeghi S.S. 2005. Supercritical fluid extraction of volatile components from *Bunium persicum* Boiss. (black cumin) and *Mespilus germanica* L. (medlar) seeds. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(5):439-446.
- 39- 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(3):285-295.
- 40- Regnault-Roger C. and Hamraoui A. 1993. Efficiency of plants from the south of France used as traditional protectants of *Phaseolus vulgaris* L. against its bruchid *Acanthoscelides obtectus* (Say). *Journal of Stored Products Research*, 29(3):259-264.
- 41- Robertson J.L. and Preisler H.K. 1992. Pesticide Bioassays with Arthropods. CRC Press, Florida. pp. 127.
- 42- Salehi P., Mohammadi F. and Asghari B. 2008. Seed essential oil analysis of *Bunium persicum* by Hydrodistillation-Headspace solvent microextraction. *Chemistry of Natural Compounds*, 44(1):111-113.
- 43- Sekine T., Sugano M., Majid A. and Fujii Y. 2007. Antifungal effects of volatile compounds from black zira (*Bunium persicum*) and other spices and herbs. *Journal of Chemical Ecology*, 33(11):2123-2132.
- 44- 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.
- 45- Shaaya E., Ravid U., Paster N., Juven B., Zisman U. and Pissarev V. 1991. Fumigant toxicity of essential oils against four major stored-product insects. *Journal of Chemical Ecology*, 17(3):499-504.
- 46- Su H. 1990. Biological activities of hexane extract of *Piper cubeba* against rice weevils and cowpea weevils (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Entomological Science*, 25:16-20.
- 47- Tewary D.K., Bhardwaj A. and Shanker A. 2005. Pesticidal activities in five medicinal plants collected from mid hills of western Himalayas. *Industrial Crops and Products*, 22(3):241-247.
- 48- Zargari A. 1996. Medicinal Plants. Tehran University Press, Tehran.
- 49- 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(3):763-767.
- 50- 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(5):1677-1681.