نگارش دکتر هلته‌ان و مهندس خرم طوسی

بررسی در باره مسائلی مربوط به تعیین باقیمانده حشره کشها بوسیله مگس سرکه

مقدمه

استفاده از روش **بیواسی** (Bioassay) یا **سنجش بوسیله موجود زنده** ، یا بعبارت ساده‌تر **سنجش بازنده** ، برای اندازه‌گیری حشره‌کشها بعلت سادگی و ارزانی و قابل اطمینان بودن آن میباشد .این روش حتی در بعضی مواقع به‌روشهای پیچیده وگران شیمیائی برتری دارد . بهترین مورداستعمال‌این روش برای تعیین باقیماند سموم میباشد .

اندازه‌گیری باقیماندحشره‌کشها براساس سنجش مرگ‌ومیر روی موجود زنده عبارت‌ازمقایسه‌جوابهای بدست آمده از مرگ و میر حشرات آزمایشی برای نمونه سمپاشی شده با نمونه‌های استاندارد درفواصل زمان معین و شرایط یکنواخت میباشد . بعلت تأثیر فاکتورهای زیادی توسط حشره مورد آزمایش ایجاب مینمایدکه با هرآزمایش یك ردیف استاندارد بکار رودتا نتیجه قابل قبول بدست‌آید .

استفاده از روش آزمایش روی موجود زنده در ظرف این بیست سال اخیر مرتباً روبتصاعد گذاشته و انتشارات مربوطه در نشریه‌های مختلفی (۱ و ۲ و ۴ و ۶ و ۷ و ۸ و ۹) خلاصه شده است . نتایجی که در آزمایشهای ما در تکمیل این روش بدست‌آمده بترتیب زیرگزارش میگردد :

روش‌بکاررفته سنجش با زنده

بجهت آسانی کشت و نگاهداری از مگس سرکه **Drosophila melanogaster** (۳) از نژاد اوین برای آزمایش استفاده شده است . درمدت شش سالی که این نژاد حشره پرورش داده شده در شرایط یکنواخت جمعیت یکدست و یکنواختی را تشکیل داده است .

درجه حرارت اطاقك مخصوص‌کشت ۲ ± ۲۷ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۷۰ـ۸۰ درصد و محیط کشت حاوی ۱۲۵ گرم آرد ذرت ۶۲ گرم شکر ۷ گرم مخمر آبجو (Yeast) و ۶ گرم آگارآگار در نیم

لیتر آب بوده که پس از آماده شدن در ۶ شیشه ۴۵۰ سانتیمتر مکعبی تقسیم میگردیده است . درهرشیشه ۱۲ عددمگس سرکه ماده و ۸ عدد مگس‌سرکه‌نر قرار داده و در آن را با یك قطعه ململ می‌بستیم‌برای جدانمودن نرو ماده حشره‌از یکدیگر چند لحظه آنها را باگاز انیدریدکربنیك بی‌هوش‌میکردیم برای آزمایش‌از طشتك کشت بقطر ۹ سانتیمتر و بعنوان حلال مواد سمی حتی‌الامکان از حلالهائی با نقطه جوش‌پائین (استن‌ـبنزن) استفاده گردید واز همان حلال برای‌تهیه سری‌استاندارد و نمونه بکار رفت ویك طشتك‌که فقط حاوی حلال‌بود برای شاهد درنظر گرفته شد وبوسیله فرمول Abbott تلفات هرکدام از سری استاندارد به مرگ و میر نمونه سمپاشی شده ارتباط داده‌شد . معمولا ۵ـ۶ تکرار برای هرنمونه سمپاشی شده منظورگردید . هرتکرارحاوی ۲۰ عدد مگس سرکه ۱ـ۳ روزه بود .

معمولا مرگ ومیر در فواصل مختلف زمان یادداشت میشد . میانگین ارقام‌مدت مرگ‌ومیر متوسط ✡ (LT50) تمام تکرارها برحسب ساعت‌که‌به اعشار تقسیم شده و واحد آن $\frac{۱}{۱۰۰}$ ساعت بود بیان میگردید. ارقام مدتهای (LT50) بدست آمده از استاندارد را در مقابل غلظت معین‌آنها در روی جدول دوبل‌لگاریتمی آورده و بدین ترتیب با بدست آوردن نقاط حاصله خط رگرسیون (Regression) بدست میآید .

با داشتن LT50 حاصل از نمونه سمپاشی شده مقدار غلظت مجهول آن محاسبه میگردید (۵)

ما این روش خسته‌کننده را برای پیداکردن غلظت مجهول نمونه‌سمپاشی شده به روش مستقیم‌محاسبه LT50 ترجیح میدهیم در صورتیکه محدود کردن مدت آزمایش عملی باشد پروبیت ارقام مرگ ومیرها را در مقابل لگاریتم غلظت سری استانداردها در جدول میآوریم و از روی خط مستقیم رگرسیون حاصله LT50 محاسبه میشود .

تغییرات در واکنش حشرات آزمایشی

با همه‌کوششی‌که‌برای یکنواخت‌کردن‌روش کار معمول میگرددمعذالك تغییراتی در واکنش حشرات آزمایشی مشاهده میشود .درجه تغییرات ارتباط با دقت عمل وروش آزمایش داشته ونشان میدهدکه تاچه‌اندازه روش مورد استفاده بدرستی قابل تجدیدکردن میباشد .

در آزمایشهای ما ارتباط مابین واکنش حشره و غلظت تعیین گردید بدین ترتیب که چهار درجه غلظت برحسب میلی‌لیتر برای هر طشتك کشت حشره‌کش نکسیون‌امولسیون ۴۰ درصد در ۳ تا ۹ تکرار مورد استفاده قرار گرفت . مدت مرگ ومیر متوسط (LT50) و ضرایب تغییراتی بدست آمده در جدول شماره ۱ذکرشده‌است .

✡ Lethal Time 50 = مدت زمانی‌که در آن ۵۰ درصد مرگ‌ومیر مشاهده میشود.

جدول شماره ۱ : اثر غلظت حشره‌کش نکسیون امولسیون ۰۴۰/. روی حشره آزمایشی مگس سرکه

غلظت	تعداد تکرار	مرگ ومیر متوسط (LT50)	ضرایب تغییراتی V.C.
$۱/۹\times۱۰^{-۶}$	۹	۲/۵۲	۱۵
$۱/۹\times۱۰^{-۵}$	۶	۰/۸۸	۱۴
$۱/۹\times۱۰^{-۴}$	۳	۰/۴۲	۴
$۱/۹\times۱۰^{-۳}$	۳	۰/۳۵	۳

LT50 = زمانی که ۰۵۰/. مرگ‌ومیر مشاهده میشود .

V.C. = Variation coefficient یاضرایب تغییراتی.

درجه پراکندگی یا ضرائب تغییراتی برای غلظت‌های زیاد $۱۰^{-۳}$ و $۱۰^{-۴}$ خیلی کم ولی‌برای غلظت‌های‌کم $۱۰^{-۶}$ کـه در اندازه‌گیری باقیمانده سموم مورد نیاز است زیاد میباشد معذالك نتیجه بدست آمده‌قابل‌قبول‌میباشد . معمولا غلظت مصرفی $۱/۹+۱۰^{-۳}$ میلی‌لیتر در طشتك کشت مطابق بـا مصرف ۳ لیتر حشره‌کش مصرفی درهکتار میباشد .

تغییرات واکنش حشره آزمایشی دریك فاصله زمانی بـا انجام آزمایشهای متعدد مورد بررسی قرار گرفت در ظرف ۲۲ روز ۹ آزمایش با نکسیون امولسیون ۰۴۰/. به نسبت $۱/۹\times۱۰^{-۶}$ میلی لیتر در طشتك کشت انجام گرفت . هرآزمایش دارای ۵ تکرار بود مرگ ومیر متوسط (LT50) تغییرات‌زیادی‌رادر اطراف ارزش میانی ۲/۵۲ ساعت نشان میداد (جدول شماره ۱) .

اگر چه مگس‌ها در شرایط یکنواختی‌پرورش داده شده‌بودند معذالك واکنش آنها از روزی به روز دیگر تغییراتی میکرد ولی از آنجائیکه مرگ و میر متوسط در هرآزمایش با سریهای مربوطه استاندارد خود مقایسه میشد این تغییرات در دقت‌آزمایش تأثیری‌نمیکرد. بطوریکه ارقام‌خیلی‌کوچك(LT50)در آزمایشهای ۸و۹ نشان میدهد ممکن است گاهی دقت آزمایش خیلی پائین بیاید . درهرحال بالابودن درجه پراکندگی یـا ضرایب تغییراتی Variation coefficient در آزمایشهای ۱ و ۲ و ۸ و ۹ در دقت آزمایشها اثر زیادی داشته است . نتایج بدست آمده دربالا مربوط‌به‌حشره‌کش نکسیون بوده و حشره‌کشهای دیگری که مشخصات شیمیائی مختلف دارند ممکن است اثرات و نتایج متفاوتی داشته باشند .

حساسیت حشره آزمایشی

حساسیت قابل قبول و جوابهای مناسب برای غلظتهای از $۱۰^{-۳}$ تا $۱۰^{-۵}$ میلی لیتر در طشتك کشت بدست آمده است . این دوحد دامنه‌غلظت‌حشره‌کش‌آزمایشی را ازغلظت سنجشی‌بالا (Macro_assay)

تا غلظت سنجشی پائین(Micro-assay) نشان میدهد . زمان مرگ و میر متوسط(LT50)قابل قبول غلظتها از $\frac{۳}{۱۰}$ ساعت تا سه ساعت میباشد . برای غلظتهای پائین‌تر از $۱۰^{-۶}$ و بالاتر از $۱۰^{-۳}$ اشتباهات زیادی پیش میآید .

ارقام زمان مرگ‌ومیر متوسط (LT50) برای تعدادی ازحشره‌کشها در غلظتهای بالاوپائین در جدول شماره ۲ ذکر شده است . بعنوان حلال‌حشره‌کش از استن استفاده گردید و غلظتهای مختلف حشره‌کش براساس میزان ماده مؤثره آن و برحسب میلی لیتر در طشتك کشت محاسبه ودر جدول‌شماره ۲ نشان داده شده‌است .

جدول شماره ۲: زمان‌مرگ‌ومیر متوسط (LT50) برای تعدادی‌حشره‌کش درغلظتهای بالاو پائین

شماره	حشره‌کش وماده‌مؤثره	دامنه غلظت به میلی‌لیتر در طشتك کشت		
		$۱۰^{-۳}$	$۱۰^{-۵}$	$۱۰^{-۶}$
۱	آنتیو امولسیون ۲۵	(۰/۹۰—۱/۳۰ ساعت برای غلظت ۴—۱۰)		
۲	د.د.ت امولسیون ۲۵	۱/۸۰ — ۲/۳۰	—	--
۳	د.د.و.پ امولسیون ۵۰		۱/۵۰ — ۲/۰۰	۴/۰۰
۴	دیازینون امولسیون ۲۰	۰/۰۶	۰/۵۰ — ۰/۸۰	۰/۸۰ — ۴/۵۰
۵	دی‌میکرون امولسیون ۲۰	۰/۹۰	۴/۰۰	
۶	دیپترکس‌پودر وتابل ۸۰	۰/۴۰	۰/۶۰ — ۱/۰۰	۱/۰۰ — ۴/۸۰
۷	اندرین امولسیون ۱۸/۵		۲/۶۰ — ۳/۰۰	
۸	فولیتیون امولسیون ۵۰	۰/۳۵ — ۰/۴۰		
۹	گوزاتیون امولسیون ام ۲۰	۱/۱۰ — ۱/۳۰	۲/۲۰ — ۳/۰۰	
۱۰	لبایسیدامولسیون ۵۰		۰/۳۰ — ۱/۰۰	
۱۱	لیندان امولسیون ۲۰	۰/۱۳ — ۰/۱۴	۱/۰۰ — ۱/۶۰	۱/۴۰ — ۵/۰۰
۱۲	مالاتیون تکنیکال ۹۵		۰/۳۷ — ۰/۴۰	۱/۸۰ — ٤/۴۰
۱۳	نکسیون امولسیون ۴۰	۰/۳۰ — ۰/۳۸	۰/۶۰ — ۱/۰۰	۱/۴۰ — ۳/۶۰
۱۴	پرفکتیون امولسیون ۴۰	۰/۳۰ برای‌غلظت $۱۰^{-٤}$	۰/۵۰ — ۰/۶۰	۱/۲۰ — ۳/۱۰
۱۵	روکسیون امولسیون ۴۰		۰/۷۰	۱/۶۰ — ۳/۵۰
۱۶	سوین‌پودر و تابل ۸۵	(بالاتراز۳ساعت برای‌غلظت$۱۰^{-۲}$)		
۱۷	سوپراسیدامولسیون ۴۰		۰/۷۰ — ۰/۸۰	۱/۰۰ — ۳/۵۰
۱۸	تیودان امولسیون ۳۵		۰/۷۰ — ۰/۹۰	۱/۴۰ — ۲/۴۰
۱۹	توکسافن امولسیون ۵۰		(۴/۵۰ برای$۱۰^{-٤}$)	

حشره‌کشهای شماره ۱ و ۳ و ۶ و۷و ۸ و ۹ و ۱۳ و ۱۴ و ۱۵ و ۱۷و۱۸ جدول شماره ۲ در غلظتهای $۱۰^{-۳}$ تا $۱۰^{-۵}$ قابل اندازه‌گیری میباشند . هرچند که هنوز ارقامی برای آنها دردست نیست . بعضی از این حشره کشهاحتی‌تا غلظت $۱۰^{-۶}$ نیز قابل اندازه‌گیری‌میباشند . بدین معنی‌که حداقل‌غلظت‌قابل‌اندازه‌گیری‌این

قبیل حشره‌کشها در اندازه‌گیری باقیمانده‌های سموم از ۰/۱ ppm نیز پائین‌تراست . حشره کشهای شماره ۲ و ۵ درغلظتهای پائین قابل اندازه‌گیری نبوده و شماره‌های ۱۶ و ۱۹ اصولا بوسیله مگس سرکه قابل سنجش نمیباشند شماره‌های ۴ و ۱۰ و ۱۱ در غلظتهای بالا سمیت خیلی زیاد دارند . بنابراین درغلظتهای پائین‌ترنیز قابل استفاده میباشند بطوریکه ملاحظه میشود مگس‌سرکه در سنجش بیولژیکی‌سموم بهترین حشره آزمایشی میباشد و ارقامی که تاکنون برای‌حساسیت‌این‌حشره در حداقل غلظت‌بدست آمده است (۹) با نتایج آزمایشهای ما تطبیق میکند .

در اندازه‌گیری باقیمانده حشره‌کشهای نکسیون و آنتیو و روگور و فولیتیون از عصاره برگ چای حساسیت مگس سرکه‌بعلت‌وجود یك اثر مخفی‌کننده(Masking) سم در سلولهای‌برگ‌چای خیلی کم‌بوده و بایستی این مقدار حشره‌کش‌را باروشی در مرحله خالص کردن از سلولهای برگ داخل عصاره خارج نمود. برای اندازه‌گیری این‌مقدار سم‌مخفی شده درداخل نبات یك‌سری آزمایشات بازدهی Recovery یااستردادی انجام گردید .بدین ترتیب‌که یك مقدار معین ازحشره‌کش تحت همان شرایط آزمایشات اصلی به مخلوط‌خرد شده برگ چای بااستون اضافه گردیده و نتایج حاصله برای نکسیون بااضافه‌نمودن‌مقدار ۵ الی۱۰۰ ppmماده سمی به‌نمونه خوردشده استونی‌درصد بازدهی‌بین ۰۲./.تا۴ تغییرکردو برای فولیتیون تحت شرایط فوق با اضافه نمودن ۱/۵ ppm مقدار درصد بازدهی ۸/۷ گردیده است .

اختلاف نر وماده از لحاظ حساسیت نسبت به حشره کشها بکرات مورد بحث و ادعا بوده است . تصورمیرود ماده‌ها نسبت‌به سموم تماسی‌مقاوم‌تراز نرها هستند . بعنوان مثال اختلاف نروماده در موردآزمایش الدرین توسط Sun (۸) و درمورد نیکوتین(۱) مطالعه گردیده است .

علت مقاومت زیاد را به اختلاف وزن نرها و ماده‌ها نسبت داده‌اند . اگر این‌چنین ادعائی‌صحیح‌باشد درصورت بکاربردن هردوجنس درآزمایشهای‌سنجشی اختلاف حساسیت نروماده دردقت نتایج آزمایشات سنجش روی موجود زنده مؤثر میباشد .

در جدول شماره ۳ارقام صحیحی از آزمایش‌های‌انجام‌شده درمورد اختلاف‌حساسیت‌مگس سرکه‌نژاد اوین در مقابل تعدادی ازسموم نوشته شده است . نروماده تحت یك شرایط درمجاورت حشره‌کش که با حلال استون رقیق شده بود قرارگرفته و برای هر آزمایش ۵ـ۶ تکرار درنظر گرفته شده بود . ارقام مدت مرگ و میر متوسط و مقادیر درجه پراکندگی آنها در جدول ۳ خلاصه شده است . این ارقام برای نر وماده از لحاظ معنی‌دار بودن یا نبودن بوسیله محاسبات‌آماری از روی جدول آزمایش مقایسه ومحاسبه شده‌اند .

از ۲۰آزمایش انجام شده در ۵ حشره‌کش (فولیتیون ـ پرفکتیون ـ ددت ـ آنتیو ـ اندرین) بین نروماده اختلاف معنی‌دار مشاهده شده است . نرها در سه حشره کش اولی حساس‌تر بودند و حال آنکه در دو حشره‌کش بعدی مقاومترند .

غلظت‌های مختلف ازیك حشره‌کش تأثیری روی جواب مسئله حساسیت نرو ماده نداشت. نکته قابل توجه اینکه مخلوط ددت لیندان سریعتر از لیندان عمل میکند و این موضوع نوع واکنش حشره‌کش مزبور را معین مینماید. برای هدفهای عملی سنجش مرگ و میر روی موجود زنده بایستی نر یا ماده را برای حشره کشهائی که اختلاف حساسیت نشان داده‌اند انتخاب نمود. بدیهی است درمورد حشره‌کشهائی که نسبت بدو جنس نرو ماده اختلاف حساسیت نشان نداده‌اند میتوان از هردو جنس بطور مخلوط برای آزمایشها استفاده نمود. تعدادی از حشره‌کشها اختلاف زیادی در درجه پراکندگی نشان میدهند در این صورت بایستی برای دقت در اجرای آزمایشات از جنسی که درجه پراکندگی کمتری را نشان میدهند استفاده نمود.

جدول شماره ۳ ـ اختلاف حساسیت نرو ماده مگس سرکه نسبت به حشره‌کشهای مختلف

حشره‌کش و درصد ماده مؤثره	غلظت برحسب میلی لیتر درطشتك کشت	LT50 ماده	درجه پراکندگی	LT50 نر	درجه پراکندگی	تفاوت
نکسیون امولسیون ۴۰	$۱/۹\times۱۰^{-۴}$	۴۰	۴/۸	۳۹	۲/۶	ن
نکسیون امولسیون ۴۰	$۱/۹\times۱۰^{-۴}$	۳۷	۱۵/۱	۳۹	۳۰/۷	ن
« « «	$۱/۹\times۱۰^{-۵}$	۱۰۰	۱۰/۱	۱۰۱	۶/۴	ن
« « «	$۱/۹\times۱۰^{-۵}$	۵۹	۱۷/۰	۶۱	۱۳/۰	ن
« « «	$۱/۹\times۱۰^{-۶}$	۳۶۱	۱۷/۳	۳۳۵	۲۴/۰	ن
« « «	$۱/۹\times۱۰^{-۶}$	۳۲۵	۴/۱	۳۵۷	۶/۲	ن
« « «	$۱/۹\times۱۰^{-۶}$	۳۹۰	۱۹/۴	۳۹۰	۱۵/۴	ن
گوزاتیون ام امولسیون ۲۰	$۱/۹\times۱۰^{-۳}$	۱۱۵	۲۶/۶	۱۳۲	۱۱/۹	ن
« « «	$۱/۹\times۱۰^{-۳}$	۱۲۹	۲۳/۳	۱۲۲	۱۳/۷	ن
روکسیون امولسیون ۴۰	$۱/۹\times۱۰^{-۵}$	۷۰	۱۱/۹	۷۲	۶/۱	ن
فولیتیون امولسیون ۵۰	$۱/۹\times۱۰^{-۳}$	۴۱	۸/۸	۳۷	۱/۶	د
دیازینون امولسیون ۲۰	$۱/۹\times۱۰^{-۳}$	۶	۲۱/۲	۶	۴/۷	ن
« « «	$۱/۹\times۱۰^{-۵}$	۸۲	۴۵/۶	۴۸	۳۷/۵	ن
لبایسید امولسیون ۵۰	$۱/۹\times۱۰^{-۴}$	۲۳	۴/۳	۲۴	۹/۹	ن
پرفکتیون امولسیون ۴۰	$۱/۹\times۱۰^{-۴}$	۳۴	۶/۱	۲۹	۷/۰	د
مالاتیون تکنیکال ۹۵	$۱/۹\times۱۰^{-۵}$	۳۷	۵/۴	۴۱	۱۵/۲	ن
ددوپ امولسیون ۵۰	$۱/۹\times۱۰^{-۵}$	۱۹۷	۴۲/۱	۱۵۶	۳۱/۰	ن
« « «	$۱/۹\times۱۰^{-۵}$	۲۳۸	۶/۶	۲۱۸	۶۹/۲	ن
سوپراسید امولسیون ۴۰	$۱/۹\times۱۰^{-۵}$	۷۲	۳۲/۹	۸۲	۳۵/۶	ن

بقیه جدول ۳

حشره‌کش و درصد ماده مؤثره	غلظت برحسب میلی لیتردر طشتك کشت	LT 50 ماده	درجه پراکندگی	LT 50 نر	درجه پراکندگی	تفاوت
آنتیواموسیون ۴۰	$۱/۹\times۱۰^{-۴}$	۹۶	۹/۵	۱۲۷	۸/۲	د
دیمیکرون امولسیون ۲۰	$۱/۹\times۱۰^{-۳}$	۸۷	۸/۹	۹۱	۱۱/۰	ن
دیپترکس SP ۸۰	$۱/۹\times۱۰^{-۳}$	۴۲	۳۹/۶	۴۶	۲۷/۹	ن
متاسیستوکس ار	$۱/۹\times۱۰^{-۴}$	۱۱۲	۱۱/۹	۱۰۲	۱۷/۱	ن
د د ت امولسیون ۲۵	$۱/۹\times۱۰^{-۳}$	۲۳۲	۱۶/۵	۱۷۶	۲۱/۳	ن
لیندان امولسیون ۲۰	$۱/۹\times۱۰^{-۳}$	۱۳	۱۴/۶	۱۴	۱۳/۶	د
» » »	$۱/۹\times۱۰^{-۵}$	۱۰۱	۹/۳	۹۳	۱۲/۱	ن
» » »	$۱/۹\times۱۰^{-۵}$	۱۶۰	۲۹/۳	۱۲۱	۳۵/۵	ن
د د ت + لیندان ۹-۳۰	$۱/۹\times۱۰^{-۳}$	۳۰	۱۷/۶	۲۶	۱۲/۱	ن
تیودان امولسیون ۳۵	$۱/۹\times۱۰^{-۴}$	۷۵	۷/۰	۷۰	۱۰/۳	ن
اندرین امولسیون ۱۹/۵	$۱/۹\times۱۰^{-۵}$	۲۶۶	۲/۷	۳۰۳	۸/۸	د
توکسافن	$۱/۹\times۱۰^{-۴}$	۴۴۶	۲/۹	۴۱۶	۴/۸	ن

ن = ازلحاظ آماری درسطح ۵ درصد معنی‌دار نیست.

د = » » » » است.

پخش حشره‌کش درطشتك کشت

درباره اهمیت پخش یکنواخت حشره‌کش درظرف موردآزمایش زیاد بحث گردیده‌است(۱۱).

بعضی‌ها عقیده دارندکه بایستی پخش بطوریکنواخت در سطح داخل ظرف انجام‌گیرد و برخی دیگر معتقدندکه یادآوری یا عنوان‌کردن این‌مسئله لزومی ندارد چه حشرات فعال همان مقدار مساوی حشره‌کش را ضمن حرکت وتماس برخواهند داشت ولواینکه سم بطوریکنواخت‌پخش نشده باشد. برای درك این موضوع آزمایشاتی با محلول نکسیون امولسیون ۴۰./۰که با استون رقیق‌شده بود بدوطریق درطشتك‌کشت انجام‌گرفت. درآزمایش الف تمام حشره‌کش درکف طشتك‌کشت ریخته شد و در آزمایش سری‌ب نصف حشره‌کش درکف و نصف دیگر درسقف طشتك‌کشت ریخته شد و ارقام LT50 دوآزمایش درسه غلظت مختلف در تحت یك شرایط استاندارد مقایسه‌گردید.

جدول شماره ۴- تأثیر پخش حشره‌کش در طشتک کشت از نقطه نظر ایجاد مسمومیت

شماره	تعداد تکرار	میلی‌لیتر در طشتک کشت	V.C. و LT50 آزمایش الف	V.C. و LT50 آزمایش ب
۱	۵	$۱/۹ \times ۱۰^{-۶}$	۲/۴۱ ± ۲۱۰/۰	۲/۰۹ ± ۳۳۰/۰
۲	۶	$۱/۹ \times ۱۰^{-۵}$	۰/۶۶ ± ۱۸۰/۰	۰/۷۰ ± ۱۳۰/۰
۳	۶	$۱/۹ \times ۱۰^{-۴}$	۰/۳۲ ± ۶۰/۰	۳/۵ ± ۶۰/۰

دراینجا تفاوت معنی‌داری ازلحاظ آمار(جدول t) مابین دو نوع پخش در سه غلظت مختلف حشره‌کش مزبور وجود ندارد.

تبخیر حلال ماده حشره‌کش درطشتک کشت

دوره تبخیر که عبارتست از فاصله زمانی بین تبخیر کامل حلال و اضافه کردن حشره آزمایشی به طشتک کشت بایستی بطور دقیق بخصوص برای حشره‌کشهای سریع‌التبخیر(۱۱) حتی حشره‌کشهای متوسط التبخیر تحت نظارت قرارگیرد. برای بررسی در اینمورد با نکسیون در دوغلظت $۱۰^{-۴}$ و $۱۰^{-۵}$ با دو دوره تبخیر که اولی یکساعت و دومی ۴۸ ساعت بودآزمایشاتی انجام‌گردید وملاحظه شدکه قدرت حشره‌کشی برای گروه‌طشتکهائی که دوره‌تبخیر دوروز داشتندبا درنظرگرفتنLT50 آنها و امتحان‌آماری از روی جدول t بمقدارقابل‌ملاحظه‌ای کاهش یافته است.

قابلیت تبخیر حشره‌کشها درهنگام تبخیر

فقدان ماده سمی درطول عمل تبخیراساساً بستگی تامی به تبخیر دارد.

تبخیر و تصعید متقابل همچنین ممکن است سبب‌آلودگی طشتکهای غیرآلوده‌ایکه برای خشک‌شدن در هوا قرار داده شده است‌بشود. موقع‌کارکردن با امولسیون د.د.و.پ. (D.D.V.P) ۵۰ درصدکه در هنگزان رقیق شده بود نتایج غلطی بدست‌ما داد. بدین ترتیب‌که یك سری ازطشتکهائی‌راکه حاوی ۵×۱۰^{-۲} میلی لیتر از د.د.و.پ امولسیون ۵۰ درصدبود در طول یك سری طشتك بدون سم قرار دادیم. بعداز ۳۰دقیقه‌تبخیر تمام طشتکها با مگس سرکه مورد سنجش قرارگرفت . ارقام LT 50 طشتکهای حاوی سم پائین تراز ۰/۰۵ ساعت وحال‌آنکه درطشتکهای بدون سم مقدار LT 50 بین ۰/۰۹ تا ۰/۲۷ ساعت تغییرکرد . نتیجتاً طشتکها درطول عمل تبخیر بطور جداگانه در یك قفسه‌ای قرار گرفت‌که هر یك از قفسه ها منتهی بیك دالان باد بود. بطوریکه هوا بطورجداگانه از روی طشتکها عبورمیکرد و بدین ترتیب از آلودگی طشتکهای مجاور ممانعت بعمل آمد .

بعضی اوقات که تعداد آزمایشات زیاد باشد اجرای عملیات سنجش با موجود زنده برای تمام نمونه‌ها درهمان روز امکان پذیر نیست درچنین مواردی طشتکهای بسته برای مدت یکروز انبارشده‌است.

طشتکهای انبار شده برای مدت۱ـ۳ـ۶ روزبا مگس سرکه درمقابل همان حشره‌کش مصرفی نکسیون $۱/۹ \times ۱۰^{-۶}$ میلی‌لیتر درهرطشتك بود و حشره‌کش در قسمت‌کف ریخته‌شده‌و تعداد تکرار برای هرآزمایش ۵ بار بود.

جدول شماره ۵ ـ اثرانبارکردن در شدت مسمومیت

شماره	LT 50 انبار نشده	انبار شده در LT 50
۱	۲/۴۲	یکروز ۱/۶۹
۲	۷/۷۲	یکروز ۲/۲۶
۳	۲/۰۶	سه روز ۲/۳۸
۴	۲/۴۰	شش روز ۴/۱۱

بعداز یکروز انبارکردن‌طشتکهامختصراًسمیت بیشتری نسبت به‌آنهائیکه درهنگام‌عمل‌سنجش بامگس سرکه تهیه شده بود نشان دادندوقتیکه طشتکها برای مدت سه روز انبار شدند سمیت‌آنهاکاهش یافته بود.

اختلاف فوق ازلحاظ‌آماری‌معنی‌دار نبود(امتحان‌آماری‌جدول t) و اختلاف‌سمیت درموردطشتکهائی که ۶ روز انبارشده بودند معنی داربود (جدول شماره ۵) ، هنگام تبخیرحشره‌کش برای طشتکهای انبار شده مقداری ازحشره‌کش ضمن تصعید روی مجموع سطح داخلی طشتك می‌نشیند و بدین‌ترتیب قدرت سمیت دیواره داخلی افزایش میابد.

بواسطه عمل تبخیر و تصعید متقابل قسمتی از ماده اصلی حشره‌کش‌که درکف طشتك قرار داده شده است درقسمت سقف طشتك می‌نشیند وبعلاوه مقداری‌از ذرات‌گازی شکل حشره‌کش درطول مدت جریان‌تبخیر از طشتك فرارمیکند . درخلال این مدت هیچ طشتك‌کشتی نمیتواند بطورکافی ازآن‌جلوگیری‌نماید. ارقام‌کمی برای دواثر فوق‌الذکر تبخیرسم در روش سنجش با زنده تعیین شده‌اند.

الف ـ اثرغلظت ماده اصلی حشره‌کش و دوره تبخیر روی حشره‌کش نکسیون آزمایش‌گردید و سپس طرز عمل تبخیر تعداد زیادی ازحشره‌کشها مورد بررسی قرارگرفت. حشره‌کش‌که با حلال استون رقیق شده بود درکف طشتك پاشیده شد. غلظت محلول پاشیده شده به میلی لیتربرای هرطشتك‌کشت وبرحسب ماده مؤثره خالص حشره‌کش محاسبه‌گردید. بعد از اتمام این دوره‌کف طشتکهای غیرآلوده پوشانده شد و بر عکس سقف طشتکهای‌آلوده روی طشتکهای غیرآلوده (تمیز) قرارگرفت. با ۵ تکرارعمل سنجش مرگ‌ومیر موجود زنده درمجاورت یك سری استانداردکه درموقع‌آزمایش درست شده بود انجام‌گردید. قدرت سمی‌کف (ته نشست یا

ذخیره ابتدائی حشره‌کش) وسقف طشتك (سرنشست یا ذخیره‌ثانوی حشره‌کش یا ابره) باین‌ترتیب بطور جداگانه معین و معلوم‌گردید. نسبت این دو ذخیره بایك شاخص تصعید به درصد مشخص شد. اختلاف مـابین مجموع مقدار دو ذخیره ابتدائی وثانوی (باقیمانده یا ته نشست اولیه وسرنشست یا ابره) ومیزان اصلی‌سم میزان‌سمی راکه از دست رفته است نشان میدهد.

مقدار درصد از دست رفته حین مراحل بالا در جدول یادداشت شده است . آزمایشات زیر بمنظور تأثیرمدت زمان عمل تبخیر یك ساعت و دوساعت و۱۶تا۱۹ساعت درغلظتهای متفاوت‌انجام‌گردیده است.

جدول شماره۶ـ تأثیر مدت زمانهای مختلف تبخیر روی سمیت حشره‌کش

شماره آزمایش	مقدار ماده مؤثره‌خالص‌حشره‌کش برحسب میلی لیتر در طشتك کشت	مقدار درصدبازدهی		درصدشاخص تصعید	مقدار درصد از دست رفته
		ذخیره‌اولیه	ذخیره‌ثانویه		
	سری‌اول : مدت زمان تبخیر یکساعت				
۱	$۵/۷ \times ۱۰^{-۳}$	۶۳	۷	۱۲/۱	۳۰
۲	$۱/۹ \times ۱۰^{-۳}$	۵۵	۳	۴/۵	۴۲
۳	$۱/۹ \times ۱۰^{-۴}$	۱۷۰	۱۸	۱۰/۵	—
۴	$۱/۹ \times ۱۰^{-۵}$	۱۴۰	۵	۳/۶	—
	سری‌دوم : مدت زمان تبخیر دو ساعت				
۱	$۵/۷ \times ۱۰^{-۳}$	۹۰	۱	۰/۸	۹
۲	$۵/۷ \times ۱۰^{-۴}$	۷۰	۶	۸/۶	۲۴
۳	$۱/۹ \times ۱۰^{-۵}$	۵۰	۱۴	۲۸	۳۶
	سری‌سوم: مدت‌زمان‌تبخیر۱۶-۱۹ساعت				
۱	$۵/۷ \times ۱۰^{-۳}$	۶۷	۱	۱	۳۲
۲	$۵/۷ \times ۱۰^{-۴}$	۵۷	۶	۱۰/۵	۳۷
۳	$۱/۹ \times ۱۰^{-۵}$	۴۵	۱۴	۱۳/۱	۴۱

مدت زمان تبخیریکساعته نتایج مشکوکی را بیارآورد. برای ارقام بازدهی بزرك و قابل‌ملاحظه در غلظتهای‌کم نمیتوان توجیهی را ارائه‌کرد. این مدت (یکساعت) تبخیر برای استفاده در استاندارد مناسب‌نیست. بهرحال دو دوره تبخیرنتایج مرتبط وقابل توجیهی را داده است.

بعدازا۱۶ـ۱۹ ساعت یك مقدارکمی بیشتری ماده سمی نسبت به دو ساعتی‌ها ازطشتکها فرار میکنند. برای غلظتهای‌کم حشره‌کش مقدار فرار حشره‌کش نسبتاً زیاد و ذخیره ثانوی بالا بود.

تعداد زیادی از حشره‌کشها با دوره تبخیر ۱۶ـ۱۹ ساعت آزمایش گردیدند زیرا مقادیر بازدهی بعداز اینمدت نسبت به دوشکل مدت تبخیر نسبتاً یك‌جور بودند. دراین آزمایشات تأثیر حرارت در ۲۰و۴۵درجه سانتیگراد مورد بررسی قرارگرفته است. حشره‌کشها برحسب میلی‌لیترازماده مؤثره خالص برای هرطشتك‌کشت مصرف شده‌اند.

جدول شماره ۷ـ تأثیر شرایط عمل تبخیر روی سمیت‌حشره‌کش‌محتوی درطشتکهای‌کشت

حشره کش ها درصد ماده اولیه	مقدارماده مؤثره خالص‌حشره‌کش بر حسب میلی‌لیتر در طشتك‌کشت	درجه حرارت برحسب سانتیگراد	مقدار بازدهی		شاخص تصعید	مقدار درصد ازدست‌رفته
			ذخیره اولیه	ذخیره‌ثانویه		
۱ـ تیودان امولسیون ۳۵	$۱/۹ \times ۱۰^{۴}$	۴۵	۶۱	۱۴	۲۳	۲۵
		۲۰	۸۴	۱۶	۱۹	۰
۲ـپرفکتیون‌امولسیون ۴۰	$۱/۹ \times ۱۰^{۴}$	۴۵	۴۰	۹	۳۵/۵	۵۱
		۲۰	۴۵	۱۶	۲۲/۵	۳۹
۳ـ دیپترکس‌پودر و تابل ۸۰	$۱/۹ \times ۱۰^{۴}$	۴۵	۴۶	۱۳	۲۸/۳	۴۱
		۲۰	۶۰	۹	۱۵	۳۱
۴ـ دیازینون‌امولسیون ۲۰	$۱/۹ \times ۱۰^{۴}$	۴۵	۶	۴	۵۸/۳	۹۰
		۲۰	۵۰	۱۲	۲۴	۳۸
۵ـ نکسیون‌امولسیون ۴۰	$۱/۹ \times ۱۰^{۴}$	۴۵	۳۳	۵	۱۵/۱	۶۲
		۲۰	۴۳	۴	۱۰	۵۳
۶ـلبایسید امولسیون ۵۰	$۱/۹ \times ۱۰^{۳}$	۴۵	۶۵	۲	۲۹/۱	۳۳
		۲۰	۷۵	۱	۱۶	۲۴
۷ـ مالاتیون‌تکنیکال ۹۵	$۱/۹ \times ۱۰^{۵}$	۴۵	۷۰	۱۴	۲۰	۱۶
		۲۰	۷۶	۱۵	۱۹/۷	۹
۸ـد.د.و.پ‌امولسیون ۵۰	$۹/۱ \times ۱۰^{۳}$	۴۵	۰/۳	۰/۰۵	—	۹۹
		۲۰	۵۰	۱	۲/۴	۴۹

معمولا میبایستی دزهای مختلف چندین حشره‌کش آزمایش شود. درخلال این مدت جمع ارقام آزمایشات بازدهی اختلاف زیادی روی حدود تغییرات غلظت از 10^{-3} تا 10^{-5} نکرد. ارقام موجود در جدول شماره ۷ میتوانند برای حشره‌کشهای مورد آزمایش دریك درجه حرارت قابل مقایسه باشند. بهرحال دزهای سموم روی شاخص تصعید مؤثراست. طبق طرح تنظیم‌شده میبایستی تمام حشره‌کشها درسطح 10^{-4} آزمایش گردد. اما بچند دلیل مختلف دزمصرفی تغییر پیداکرد. د.د.و.پ خیلی فراراست بنحویکه نمیتوانست در ذخیره ثانویه بازدهی نشان دهد. لیندن امولسیون ۲۰ درحرارت ۴۵ درجه هیچ بازدهی نشان نداد و درحرارت ۲۰درجه سانتیگراد درصد شاخص تصعید ۳۷/۵ بود و ازطرف دیگر د.د.ت امولسیون ۲۵ با غلظت اصلی $9/5 \times 10^{-3}$ میلی لیتر برای هرطشتك کشت هیچگونه ذخیره ثانویه ببارنیآورد.

تأثیرحرارت روی عمل تبخیر چندین حشره‌کش بوسیله ارقام مقدار بازدهی تعیین‌شده است. د.د.و.پ دیازینون ـ پرفکتیون و دیپترکس درحرارت ۲۵ درجه‌سانتیگراد بیشتر ازآنهائی که‌در حرارت ۲۰ درجه‌رفته سانتیگراد بودند فرارکردند (تفاوت ایندوسری‌ازلحاظ آماری‌وامتحان جدول t معنی‌دار بود)مقدارسم‌ازدست‌سایر حشره‌کشها در حرارت۴۵ درجه سانتیگرادمعنی‌دار نبودند (امتحان جدول t) رجوع شود به‌جدول‌شماره۷ .

مالاتیون ـ تیودان‌پایدارتر ازلبایسید و دیپترکس‌بوده و راهی راکه حشره‌کشهای پرفکتیون ـ نکسیون و دیازینون طی‌کرده بودند پیروی‌کردند و د.د.و.پ بمراتب ازتمام‌آنها پایداری‌کمتری داشت.

ازطرف دیگر دیازینون وپرفکتیون ظرفیت تصعید خیلی‌بهتری نسبت به دیپترکس‌وتیودان ونکسیون داشتند . در آزمایشات سنجش بوسیله موجود زنده بایستی مسئله فرار بودن حشره‌کش بوسیله سری استاندارد بطور جدی مورد توجه وبررسی ومقایسه قرارگیرد. ضمناً مسائل پیدا شده روی عمل تبخیر وتصعید در فوق را میتوان به چگونگی طرز عمل حشره‌کش در مزرعه تعمیم داد.

تأثیرسطح حاوی سم درمقدار سمیت

اهمیت نوع سطوح حاوی حشره‌کش و اثرحرارت روی مقدار سمیت طی‌آزمایشاتی پیدا شده است . برای اینکار با نکسیون امولسیون ۴۰ روی دو نوع صفحه پلاستیکی و شیشه‌ای در حرارت ۲۰ و ۴۵ درجه سانتیگرادآزمایش‌گردید. پخش سم روی صفحات مزبور بمعیار۲ لیترحشره‌کش خالص درهکتار بود.

حشره‌کش پاشیده شده روی صفحه شیشه‌ای خیلی سریعتر ازصفحات پلاستیکی‌کم شد و بعد ازسه روز سطح شیشه‌ای تقریباً هیچگونه سمیتی درحرارت ۴۵ درجه نشان نداد و فقط ۰/۱۸ از ماده اصلی‌حشره کش پاشیده شده روی شیشه درحرارت ۲۰ درجه پیدا شد. سمیت مقدار حشره‌کش پاشیده شده روی صفحه پلاستیك طی شش روز اول زیاد تغییری نکرده بود. درهشتمین روز سمیت حدود۰/۵۰ کاهش یافت وازآن ببعد بتدریج سمیت‌کمترشد و حتی تا ۰/۲۰ هم درحرارت ۲۰ درجه و ۵ درصد در حرارت ۴۵ درجه سانتیگراد نسبت به کل ماده خالص حشره‌کش پاشیده شده تنزل پیداکرد.

درخاتمه لازم به یادآوری است که آقایان مهندس مرتضویها و مهندس نیکخو در تمام مراحل آزمایشات فوق الذکر کاملا همکاری نموده‌اند.

خلاصه مطالب

در آزمایش سنجش بوسیله موجود زنده با روش استفاده از قشر نازك خشك سم (Dry film method) برای تعیین باقیمانده سموم با عوامل زیادی مواجه خواهیم شدکه روی واکنش حشره آزمایشی و باقیمانده سم اثر میگذارد . بخاطر دقت و ازبین بردن عوامل فوق و درست کردن شرایط مساوی هر آزمایش یك سری استاندارد دارد.

شرایط کشت حشره آزمایشی برای اخذ جمعیت بحداعلی یکنواخت بایستی تحت کنترل قرار گیرد. علیرغم تمام کوششها جواب نمونه همیشه تا حدی تغییرخواهدکرد. غلظت زیاد ماده حشره‌کش وکم آن اختلافات زیادی روی جواب میگذارد . تغییرات زیاد واکنش حشره آزمایشی از روزی به روز دیگر لزوم یك سری استاندارد از غلظت معین حشره‌کش مصرفی را برای هر آزمایش تأکید میکند . در طول آزمایشات حساسیت غلظت کم حشره‌کش گاهی اوقات پائین تراز دقت موردنیاز است.

عوامل دیگریکه بایستی در آزمایشات سنجش بوسیله موجود زنده مورد مطالعه قرارگیرد در ذیل ذکر میگردد :

انتخاب جنس حساسترحشره موردآزمایش نسبت به حشره‌کش مصرفی. کم کردن تلفات ماده حشره‌کش درهنگام عمل تبخیر. اضافه‌کردن روغن به ماده سمی مصرفی. یك مرحله خالص کردن Clean-up در پایان عمل عصاره‌کشی ماده نمونه درتجزیه باقیمانده سموم برای توجیح عامل Masking یا عامل پنهان کننده حشره‌کش بوسیله سلولهای گیاه درماده عصاره .

مگس سرکه درآزمایشات سنجشی تعداد زیادی ازحشره‌کشها خیلی مؤثر و ازچند نظر برتری دارد. درآزمایشات انجام شده برای ۱۵ حشره‌کش بین نرها وماده‌ها تفاوتی دیده نشده و درسه مورد نرها بسیار حساس و درمورد دوحشره‌کش دیگر ماده‌ها نسبت به نرها حساسیت کمتری داشتند.

بمحض اینکه حشره‌کش درطشتکهای کشت ریخته میشود تعداد زیادی پدیده‌های فیزیکی و شیمیائی شروع میشود. درابتدا حلال حشره‌کش تبخیرمیشود وبا خود یك مقدارجزئی از ماده سمی را همراه میبرد. فرار بودن ترکیب حشره‌کش عامل مهمی دربیرون رفتن ازطشتك کشت است و فرار بودن شدید ماده سمی طشتکهای مجاور را درهنگام عمل خشك کردن آلوده میکند .

مگسها در داخل طشتکها درتماس ماده سمی و همچنین گاز حشره کش تبخیر شده قرار میگیرند. آنها حین حرکت ذرات خشك شده ماده سمی در داخل طشتکها را بوسیله پاهایشان برمیدارند و در همان زمان مقداری ماده حشره‌کش ذخیره ثانویه را درسقف طشتك کشت بوسیله بدنشان دریافت میکنندو بعلت تبخیر

ماده سمی تصعید میشود و سمیت گازی برای مگسها پدید میآید. ذخیره ثانویه ماده حشره‌کش در سطح داخلی طشتکها عامل سمیتری برای مگسها تولید میکند. بدین ترتیب فرق نمیکند که حشره‌کش در تمام قسمتهای طشتك قرارداده شود یا فقط درقسمتی‌ازآن.

عامل مهمتر درآزمایشات سنجش مرگ‌ومیر بوسیله موجود زنده فرارکردن قسمتی ازماده حشره‌کش از طشتك است. معذالك میتوان طشتکها را برای مدتی‌انبارکرد بدون اینکه مقدار قابل توجهی ازحشره‌کش‌تلف شود. اگر دراین مرحله‌آسیبی به حساسیت متد واردشود زمان عمل تبخیر بایستی بحداقل برسد.

مدت زمان عمل‌خشك‌کردن حلال ماده سمی در داخل طشتکها بایستی بحداقل ممکن برسدو بایستی برای دوسری نمونه واستانداردها یکسان باشد. اجرای شرایط مذکور برای مرحله تبخیرقابل اجرااست وهر چه‌ممکن است باید این دوره کوتاه‌گردد زیرابدینوسیله از اتلاف ماده سمی‌جلوگیری میشود. ازمشخصات‌دیگر حشره کشهای سریع التبخیر میتوان دراین مورد استفاده‌کرد. مثلا خاصیت جذب سطحی در جدا کردن بوسیله کروموتوگرافی Chromotographie بوسیله‌کاغذصافی (۱۰).

درجه حرارت نیز در وضع وچگونگی سمیت حشره‌کش موجود درطشتك مؤثراست و سطوح حاوی حشره‌کش‌دریك‌سری‌آزمایش بایکدیگر تبادلاتی ندارند وچنین امری‌برای بعضی ازآزمایشات‌مفیدبنظرمیرسد.

اجرای عملیات انجام شده برای بدست آوردن یك استاندارد صحیح جهت اجرای روش آزمایشات سنجش با موجود زنده درتجزیه باقیمانده‌سموم نتایج مفیدی ببارآورده است. چنانکه ارقام آزمایشات بازدهی (Recovery) مؤید این مطلب میباشد . تعیین باقیمانده سه سم مالاتیون و نکسیون و د.د.و.پ روی خیار و طالبی اجراگردیده است و دراین بررسی فاصله مناسب مابین سمپاشی و برداشت‌محصول مورد مطالعه‌قرارگرفته است. این فاصله برای محصولات‌غذائی‌آلوده سمپاشی شده مشخص‌شده است زیرا زارعین بلافاصله‌بعد ازسمپاشی محصولات را برداشت میکنند.