فصلنامه گیاه‌پزشکی
(دانشگاه آزاد اسلامی شیراز)
۱۳۹۶ - ۸(۱) : ۲۹-۴۱

قابلیت کشندگی اسانس حاصل از گل سه رقم مرکبات روی حشرات بالغ شپشه آرد *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae)

فاطمه فاتحیان[۱]، مجید فلاح زاده[۱*]، ابوفاضل دوستی[۱]، مهدی کبیری رئیس آباد[۲]
۱- گروه حشره شناسی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران
۲- دانشگاه محقق اردبیلی، گروه گیاه‌پزشکی، اردبیل، ایران

چکیده

اسانس‌های گیاهی، ترکیباتی امن برای محیط زیست و برای سلامتی انسان هستند که به دلیل خاصیت حشره‌کشی، قابلیت دارند تا در کنترل آفات مورد استفاده قرار گیرند. این ترکیبات به صورت سموم تدخینی، حشره‌کش‌های تماسی، دورکننده و بازدارنده تغذیه و میزان تخم‌ریزی عمل کرده و رشد جمعیت حشره را تحت تأثیر قرار می‌دهند. در این تحقیق سمیت تدخینی اسانس حاصل از گل سه رقم مرکبات شامل ترنج *Citrus medica* L. گریپ فروت *C. paradisi* L. و لیموی لیسبون *C. lemon* L. روی حشرات کامل شپشه آرد *Tribolium castaneum* (Herbst) مورد ارزیابی قرار گرفت. گل‌های رقم‌های مرکبات مورد آزمایش از یک باغ سم پاشی نشده در شهرستان جهرم در اردیبهشت ماه ۱۳۹۳جمع آوری شدند. اندام های جمع آوری شده عاری از هر گونه بیماری و زردشدگی بودند و تا زمان خشک شدن در دمای ثابت نگهداری شدند. گل‌های جمع آوری شده در محیط سایه، روی یک پارچه خشک شده و سپس از آنها پودر تهیه شد. اسانس‌ها با استفاده از دستگاه کلونجر استخراج شدند. این تحقیق در قالب طرح فاکتوریل بر پایه‌ی طرح کاملاً تصادفی در دمای ۲ ±۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵ ±۶۰ درصد و تاریکی در ۵ غلظت و ۵ تکرار انجام شد. تجزیه پروبیت داده‌های زیست سنجی با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون LSD همین نرم افزار صورت گرفت. تلفات در هر تیمار پس از ۲۴، ۴۸ و۷۲ ساعت شمارش و مقادیرLC_{50} و LC_{90} محاسبه گردید. نتایج نشان داد با افزایش غلظت و زمان تیمار در مورد هر سه اسانس، میزان مرگ‌ومیر نیز افزایش یافت. بالاترین غلظت به کار برده شده (۱۲۶ میکرولیتر بر

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mfalahm@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۴/۱۴، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۲/۲۴

لیترهوا) از اسانس‌های ترنج، گریپ‌فروت و لیموی لیسبون با گذشت ۷۲ ساعت از زمان تیمار به ترتیب مرگ‌ومیر ۱۰۰، ۱۰۰ و ۷۲ درصدی را در حشرات کامل شپشه آرد ایجاد نمودند. میزان LC_{50} اسانس-های فوق در این زمان به ترتیب ۵/۲، ۹/۴ و ۱۱/۸ میکرولیتر بر لیتر هوا برآورد شد. بر این اساس بیشترین سمیت مربوط به اسانس ترنج بود. نتایج به طور کلی نشان داد اسانس‌های به کار برده شده در این تحقیق قابلیت کشندگی بالایی روی شپشه آرد داشته و با انجام تحقیقات بیشتر می‌توانند جایگزین مناسبی برای آفت‌کش‌های رایج مورد استفاده در انبارها باشند.

واژه های کلیدی: اسانس، شپشه آرد، مرکبات، سمیت تدخینی

مقدمه

شپشه آرد *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) یکی از مهمترین آفات انباری به شمار می‌رود. فعالیت این آفت در انبارهای آرد و افزایش سریع جمعیت آن سبب می‌شود که در مدت کوتاهی محصول با مدفوع و پوسته‌های لاروی و شفیرگی مخلوط و از مرغوبیت آن کاسته شود، در نتیجه آرد آلوده معمولاً ارزش نانوایی خود را از دست می‌دهد (Campbell & Runnion, 2003). کنترل آفات انباری بیشتر با استفاده از آفت‌کش‌ها و ترکیبات شیمیایی گازی صورت می‌گیرد. حداقل ۱۶ ماده شیمیایی به عنوان تدخین کننده (Fumigants) ثبت شده‌اند که در سال‌های گذشته متیل بروماید و فسفین در سطح تجاری وسیع برای کنترل آفات انباری استفاده شده‌اند (Bond, 1984; Fields & White, 2002; Lee *et al*., 2004). از طرفی به دلیل اثرات مخرب متیل بروماید بر لایه اوزون، استفاده از این ماده شیمیایی تا سال ۲۰۰۵ به ۲۰ درصد کاهش یافته و کاربرد آن تا سال ۲۰۱۵ طبق پروتکل مونترال باید متوقف شود. همچنین مقاومت آفات انباری نسبت به سم فسفین در ۴۵ کشور دنیا گزارش شده است (Shaaya *et al*., 1997; Lee *et al*., 2001). دی اکسید کربن و سولفوریل فلوراید به عنوان ترکیبات جایگزین این دو ترکیب تدخینی پیشنهاد شده است (van Someren Graver, 2004). برای کنترل آفات انباری با دی اکسید کربن، دمای بالا و غلظت بالایی از این سم مورد نیاز است (Soderstrom *et al*., 1992). سولفوریل فلوراید نیز تاثیر کمی روی تخم آفات انباری دارد و برای از بین بردن مرحله تخم آفات مذکور لازم است که مدت زمان طولانی در معرض بخارهای این ترکیب قرار گیرد و به دوز بالایی از آن نیاز است (Baltaci *et al*., 2009). استفاده مکرر از ترکیبات شیمیایی آفت‌کش، طی دهه-های متوالی باعث از بین رفتن دشمنان طبیعی، اختلال در کنترل بیولوژیکی، اثر روی موجودات غیر هدف، آلودگی محیط زیست، در خطر قرار گرفتن سلامت انسان، طغیان آفات و ایجاد مقاومت در آن‌ها گردیده است (Lee *et al*., 2001). ترکیبات گیاهی به دلیل دارا بودن سمیت تنفسی، تماسی، خاصیت دورکنندگی، سازگاری با محیط زیست و همچنین کم‌خطر

بودن آن برای انسان و پستانداران مورد توجه قرار گرفته‌اند. به این دلایل اسانس‌های گیاهی از قوانین ثبت آفت‌کش‌ها در ایالات متحده آمریکا معاف بوده و به صورت تجاری مورد استفاده قرار گرفته‌اند (Isman, 2000). این ترکیبات به دلیل تجزیه سریع‌تر در محیط طبیعی نسبت به ترکیبات مصنوعی و همچنین اثرات کم روی سایر حشرات توجه بسیاری از محققین را به خود جلب کرده‌اند (Ogendo *et al.*, 2008). تاکنون حدود ۲۰۰۰ گونه گیاهی متعلق به خانواده‌های مختلف که دارای خاصیت حشره‌کشی هستند، شناسایی شده‌اند (Odeyemi *et al.*, 2008). عمده ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس‌ها، مونوترپن‌ها، فنول‌ها و سسکوئی‌ترپن‌ها بوده که در کنترل آفات مختلف مؤثر می‌باشند (Wilson *et al*. 2006). مطالعات بسیاری فعالیت‌های لاروکشی، ضد تغذیه‌ای (Inyang & Emosairue, 2005)، توانایی به تأخیر انداختن رشد و نمو و ظهور حشرات بالغ، مرگ‌ومیر تخم (Tunc *et al.*, 2000)، اثر بازدارندگی تخم‌گذاری (Naumann & Isman, 1995) و فعالیت دورکنندگی (Wang *et al*., 2006) اسانس‌ها را شرح داده‌اند. اسانس‌های گیاهی علاوه بر خاصیت حشره کشی، ممکن است خاصت ضد قارچی (Dharmendra *et al.*, 2001; Reichling *et al*., 2009)، ضد تومور و عامل ضد میکروبی (Reichling *et al*., 2009) را نیز داشته باشند.

اسانس گرفته شده از قسمت های مختلف مرکبات قابلیت کشندگی و دور کنندگی مناسبی روی بسیاری از حشرات دارد (Kabiri Raeis Abad *et al.*, 2014; Soonwera, 2015 ;Mahmoudvand *et al*., 2011) لذا در این تحقیق سمیت تدخینی اسانس گرفته شده از گل سه رقم مرکبات شامل ترنج، گریپ فروت و لیموی لیسبون روی حشرات کامل شپشه آرد در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه اسانس

گل های سه رقم مرکبات شامل ترنج *Citrus medica* L.، گریپ فروت رقم تامسون *C. paradise* L و لیموترش رقم لیسبون *C. lemon* در اردیبهشت ماه ۱۳۹۳ از باغ‌های سم پاشی نشده مرکبات شهرستان جهرم تهیه گردیدند. گل‌های چیده شده در محیط سایه در دمای معمولی اتاق روی یک پارچه خشک شدند. پس از خشک شدن به وسیله آسیاب برقی کاملاً پودر شدند. از دستگاه کلونجر شیشه‌ای برای اسانس‌گیری استفاده شد. در هر مرتبه اسانس‌گیری ۱۰۰ گرم پودر گل‌ها با ۶۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شده و در بالن دستگاه قرار گرفت. اسانس‌گیری در دمای ۱۰۰ درجه و به مدت ۲ ساعت و ۳۰ دقیقه انجام گرفت. اسانس‌های جمع آوری شده به وسیله سولفات سدیم آب گیری و تا زمان استفاده در ظروف

شیشه‌ای تیره در زیر روکش آلومینیومی در یخچال و در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

پرورش حشرات

کلنی اولیه شپشه آرد *T. castaneum* از بخش حشرات زیان آور مؤسسه تحقیقات گیاه پزشکی کشور تهیه شد. حشرات مذکور روی منبع غذایی مخلوط آرد گندم و مخمر در دستگاه ژرمیناتور با شرایط دمایی ۲±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و دوره تاریکی ۲۴ ساعته پرورش و تکثیر یافتند.

آزمایش‌های زیست سنجی

آزمایش سمیت تدخینی مشابه روش Tapondjou *et al.*(2005) انجام شد. کاغذ صافی واتمن شماره یک در کف پتری دیش به قطر دهانه ۸ و ارتفاع ۲سانتی متر قرار داده شد. ابتدا یک سری آزمایش مقدماتی انجام و سپس بر اساس نتایج این آزمایش ها پنج غلظت ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴ و ۱۲۶ میکرولیتر برلیتر هوا در نظر گرفته شد. اسانس‌ها با استفاده از میکروپیپت برداشته و در یک میلی لیتر استون حل گردید و سپس روی کاغذ صافی درون پتری دیش ریخته شد. در ظروف شاهد فقط از استون استفاده گردید. پس از گذشت بیست دقیقه و خشک شدن کاغذ صافی، با استفاده از قلم موی شماره چهار تعداد ۱۰ عدد حشره کامل نر و ماده ۲-۱روزه به داخل ظروف پتری دیش منتقل شده و درب پتری دیش روی آن قرار داده شد. جهت جلوگیری از نفوذ بخار اسانس به بیرون، اطراف درپوش با نوار پارافیلم محکم شد. ظروف به ژرمیناتور با شرایط دمایی ۲ ± ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵ ± ۶۵ درصد و تاریکی منتقل شدند. این تحقیق در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در پنج تکرار انجام شد. تعداد حشرات مرده (حشراتی که قادر به حرکت دادن پا، شاخک و یا دو حلقه انتهایی شکم نبودند) با گذشت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت از زمان تیمار شمارش و ثبت گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه پروبیت داده‌های ثبت شده در آزمایش‌های زیست سنجی با استفاده از نرم افزار SPSS 16.0 انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون LSD همین نرم افزار و در سطح ۵ درصد انجام گرفت. نمودارها به کمک نرم افزار Excel رسم شدند.

نتایج و بحث

نتایج مرگ‌ومیر حشرات کامل شپشه آرد تیمار شده با غلظت‌های مختلف اسانس گل نارنج در جدول ۱ نشان داده شده است. بر اساس نتایج ۲۴ ساعت پس از تیمار پایین‌ترین غلظت اسانس (۸ میکرولیتر بر لیتر هوا) ۱۶ درصد مرگ‌ومیر و بالاترین غلظت (۱۲۶ میکرولیتر بر

لیتر هوا) ۴۰ درصد مرگ‌ومیر ایجاد نمودند. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد اختلاف مرگ-ومیر ایجاد شده بین این دو غلظت از لحاظ آماری نیز معنی‌دار بود (df= 4,20; F= 8.64; P= 0.0003). با افزایش زمان تیمار میزان مرگ‌ومیر در تمامی تیمارها افزایش یافت. پس از ۷۲ ساعت از تیمار، میزان مرگ‌ومیر ناشی از دو غلظت ۶۴ و ۱۲۶ میکرولیتر بر لیترهوا به ۱۰۰ درصد رسید در حالیکه میزان تلفات حاصل از سه غلظت دیگر نیز بالاتر از ۵۰ درصد بود. در تمامی غلظت‌ها، مرگ‌ومیر ایجاد شده در این زمان از لحاظ آماری نیز دارای اختلاف معنی‌دار بود (df= 4,20; F= 63.75; P= 0.0001).

جدول ۱- درصد مرگ‌ومیر (±خطای استاندارد) حشرات کامل شپشه آرد تیمار شده با غلظت‌های مختلف اسانس گل ترنج

Table 1. Mortality% (±SE) of *T. castaneum* treated with different concentrations of essential oil from the flower of *Citrus medica*

Concentration (µl/L air)	Time after treatment (hour)		
	24	48	72
8	16±4 ^{c*}	30±3.16 ^{d}	68±2 ^{c*}
16	20±3.16 ^{c}	42±2 ^{c}	76±2.44 ^{c}
32	28±3.74 ^{abc}	46±2.44 ^{ab}	86±2.44 ^{abc}
64	34±2.44 ^{ab}	54±2.44 ^{b}	100±00 ^{ab}
126	40±3.16 ^{a}	66±2.44 ^{a}	100±00 ^{a}

*حروف غیر مشابه در هر ستون اختلاف معنی‌دار را نشان می‌دهند

میزان مرگ‌میر ناشی از پنج غلظت ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴ و ۱۲۶ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس گل گریپ فروت ۲۴ ساعت پس از تیمار به‌ترتیب ۱۲، ۱۶، ۲۴، ۳۰ و ۳۴ درصد برآورد شد (جدول ۲). بر اساس نتایج، میزان مرگ‌ومیر ناشی از دو غلظت ۶۴ و ۱۲۶ میکرولیتر بر لیتر هوا به طور معنی‌داری بالاتر از دو غلضت ۸ و۱۶ میکرولیتر بر لیتر هوا بود (df= 4,20; F= 8.19; P= 0.0004). بعد از ۴۸ ساعت از تیمار میزان مرگ‌ومیر غلظت‌های ذکر شده به ترتیب به ۳۲، ۴۲، ۵۰، ۵۲ و ۶۲ درصد رسید. ۷۲ ساعت پس از تیمار و در نقطه پایان آزمایش تمامی غلظت‌ها مرگ‌ومیر بالای ۵۰ درصد را ایجاد نمودند. دو غلظت ۶۴ و ۱۲۶ میکرولیتر بر لیتر هوا مرگ-ومیر قاطع بالای ۹۰ درصد (به ترتیب ۹۶ و ۱۰۰ درصد) را ایجاد نمودند که این میزان مرگ-ومیر به طور معنی‌داری بالاتر از مرگ‌ومیر ایجاد شده توسط سایر غظت‌ها بود (df= 4,20; F= 41.78; P= 0.0001).

میزان مرگ‌ومیر حشرات کامل شپشه آرد تمیار شده با غلظت‌های مختلف اسانس حاصل از گل لیموی لیسبون در جدول ۳ ذکر شده است. کمترین و بیشترین میزان مرگ‌ومیر ۲۴ ساعت پس از تیمار به ترتیب مربوط به دو غلظت ۸ و ۱۲۶ میکرولیتر بر لیترهوا بود (۱۰ و ۳۴ درصد). با افزایش زمان تیمار میزان مرگ‌ومیر حشرات کامل شپشه آرد تیمار شده با تمامی

غلظت‌ها افزایش یافت چنانچه ۴۸ ساعت پس از تیمار میزان مرگ‌ومیر دو غلظت ذکر شده به ترتیب به ۲۰ و ۵۰ درصد رسید. ۷۲ ساعت پس از تیمار و در نقطه پایان آزمایش میزان مرگ-ومیر ناشی از پنج غلظت ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴ و ۱۲۶ میکرولیتر برلیتر هوا به ترتیب ۵۸، ۶۲، ۶۴، ۶۸ و ۷۲ درصد برآورد شد. گرچه این میزان تلفات از لحاظ عددی با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند اما از لحاظ آماری با یکدیگر دارای اختلاف معنی‌داری نبودند (df= 4,20; F= 2.35; P= 0.088).

جدول ۲- درصد مرگ‌ومیر (±خطای استاندارد) حشرات کامل شپشه آرد تیمار شده با غلظت‌های مختلف اسانس گل گریپ فروت

Table 2. Mortality% (±SE) of *T. castaneum* treated with different concentrations of essential oil from the flower of *Citrus paradisi*

Concentration (µl/L air)	Time after treatment (hour)		
	24	48	72
8	12±2 ^{b*}	32±3.74 ^{c}	52±3.74 ^{c}
16	16±2.44 ^{b}	42±3.74 ^{bc}	60±4.47 ^{c}
32	24±2.44 ^{ab}	50±3.16 ^{ab}	78±3.74 ^{b}
64	30±3.16 ^{a}	52±3.74 ^{ab}	96±2.44 ^{a}
126	34±5.09 ^{a}	62±3.74 ^{a}	100±00 ^{a}

*حروف غیر مشابه در هر ستون اختلاف معنی‌دار را نشان می‌دهند.

جدول ۳- درصد مرگ‌ومیر (±خطای استاندارد) حشرات کامل شپشه آرد تیمار شده با غلظت‌های مختلف اسانس گل لیموی لیسبون

Table 3. Mortality% (±SE) of *T. castaneum* treated with different concentrations of essential oil from the flowers of *Citrus lemon*

Concentration (µl/L air)	Time after treatment (hour)		
	24	48	72
8	10±0 ^{c*}	20±3.16 ^{c}	58±3.74 ^{a}
16	22±2 ^{b}	32±3.74 ^{bc}	62±3.74 ^{a}
32	26±2.44 ^{ab}	40±3.16 ^{ab}	64±2.44 ^{a}
64	30±3.16 ^{ab}	46±2.44 ^{a}	68±3.74 ^{a}
126	34±2.44 ^{a}	50±3.16 ^{a}	72±3.74 ^{a}

*حروف غیر مشابه در هر ستون اختلاف معنی‌دار را نشان می‌دهند

مقایسه میزان مرگ‌ومیر حشرات کامل شپشه آرد تیمار شده با غلظت‌های مختلف سه اسانس گل ترنج، گریپ فروت و لیموی لیسبون در شکل ۱ نشان داده شده است. بر اساس نتایج، ۲۴ ساعت پس از تیمار گرچه مرگ‌ومیر ایجاد شده توسط غلظت‌های مختلف سه اسانس با یکدیگر اختلاف عددی داشتند اما اختلاف حاصله از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. ۴۸ ساعت پس از تیمار تنها در غلظت ۱۲۶ میکرولیتر بر لیتر هوا مرگ‌ومیر ناشی از دو اسانس ترنج و لیموی

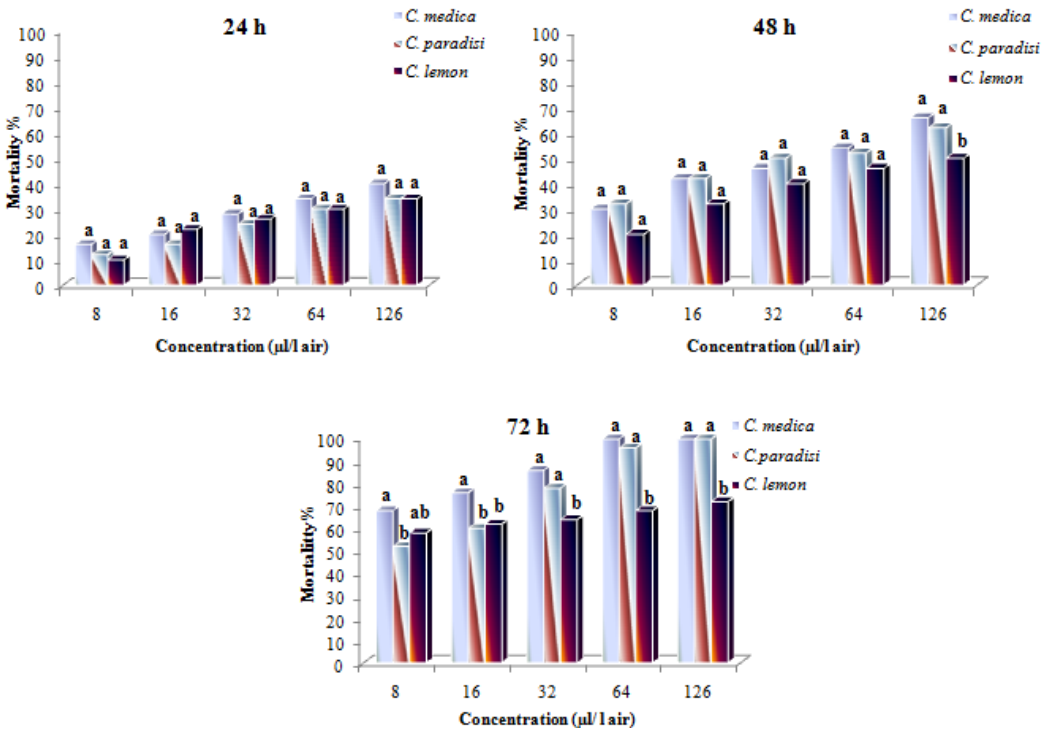
لیسبون به طور معنی‌داری بالاتر از اسانس لیموی لیسبون بود (df= 2,12; F= 3.65; P= 0.01). در حالی که در سایر غلظت‌ها مرگ‌ومیر حاصل از سه اسانس با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشت. پس از ۷۲ ساعت از شروع آزمایش، به جز در غلظت ۸ میکرولیتر برلیتر هوا که مرگ‌ومیر ناشی از اسانس ترنج و لیموی لیسبون با یکدیگر اختلاف معنی دار آماری نداشتند (df= 2,12; F= 6.13; P= 0.14) در سایر غلظت‌ها، مرگ‌ومیر ایجاد شده توسط اسانس ترنج به طور معنی‌داری بالاتر از اسانس لیموی لیسبون بود همچنین مرگ‌ومیر حاصل از دو اسانس ترنج و گریپ فروت در دو غلظت ۸ و ۱۶ میکرولیتر بر لیتر هوا با یکدیگر دارای اختلاف معنی‌دار آماری بود.

نتایج تجزیه پروبیت داده‌های زیست سنجی در جدول ۴ نشان داده شده است. میزان LC_{50} سه اسانس گل ترنج، گریپ فروت و لیموی لیسبون ۲۴ ساعت پس از تیمار به ترتیب ۲۹۷، ۴۵۷/۷ و ۴۵۷/۱ و میزان LC_{90} ۳۰۶۸۵/۱، ۴۰۶۴۴/۳ و ۵۲۹۷۴/۵ میکرولیتر بر لیتر هوا برآورد شد. با افزایش زمان تیمار میزان مرگ‌ومیر افزایش و درنتیجه غلظت کشنده ۵۰ درصدی کاهش یافت. چنانچه ۷۲ ساعت پس از تیمار غلظت کشنده ۵۰ درصد از سه اسانس ذکر شده به ترتیب به ۵/۲، ۹/۴ و ۱۱/۸ میکرولیتر بر لیتر هوا رسید. مقایسه سمیت اسانس‌ها با مبنا قرار دادن غلظت کشنده ۵۰ درصدی نشان داد در هر سه زمان ثبت نتایج بیشترین و کمترین سمیت به ترتیب مربوط به دو اسانس ترنج و لیموی لیسبون است.

جدول ۴- نتایج تجزیه پروبیت داده‌های زیست سنجی اسانس گل ترنج، گریپ فروت و لیموی لیسبون روی حشرات کامل شپشه آرد

Table 4. Probit analysis of bioassay data of essential oil extracted from the flower of *C. medica*, *C. paradise* and *C. lemon* against adult *T. castaneum*

Essential oil	Time (h)	Total	LC_{50} (µl/ l air) (Confidence limits)	LC_{90} (µl/ l air) (Confidence limits)	Slope (±SE)	χ^2	p-value
C. medica	24	300	**297** (114.4- 13163.2)	**30685.1** (2142.1-381100)	0.63 (±0.2)	0.072	0.99
	48	300	**38.9** (22.8- 76.6)	**2307.6** (503.9- 26253)	0.72 (±0.19)	0.41	0.93
	72	300	**5.2** (2.3- 7.9)	**28.4** (21.1-45.2)	1.75 (±0.33)	4.99	0.17
C. paradisi	24	300	**457.7** (153.4- 43986.8)	**40644.3** (2545.7- 103500)	0.65 (±0.21)	0.21	0.97
	48	300	**40.5** (20.8- 105.7)	**5644** (729.9- 34510)	0.59 (±0.19)	0.38	0.94
	72	300	**9.4** (6.2-12.4)	**46.1** (34.4-73)	1.86 (±0.28)	4.58	0.2
C. lemon	24	300	**457.1** (147.4- 8788.3)	**52974.5** (2737.5- 150900)	0.62 (±0.21)	1.33	0.72
	48	300	**98.7** (53.7-513.9)	**8027.3** (1046-13020)	0.67 (±0.19)	0.76	0.85
	72	300	**11.8** (3.8-14.3)	**266.1** (149.3-378.2)	0.3 (±0.19)	0.36	0.99



شکل ۱- مقایسه میانگین درصد مرگ‌ومیر ناشی از غلظت‌های مختلف سه اسانس گل ترنج، گریپ فروت و لیموی لیسبون روی حشرات کامل شپشه آرد در زمان‌های مختلف
(*حروف غیر مشابه اختلاف معنی‌دار را نشان می‌دهند)

Figure 1. Compare mean mortality% caused by different concentration of essential oil from the flower of *C. medica*, *C. paradise* and *C. lemon* against *T. castaneum* at different time
(Different letters showed significant difference)

بر اساس نتایج بدست آمده با افزایش غلظت اسانس ها میزان تلفات آفت نیز افزایش یافت. مقایسه سمیت اسانس‌های مورد مطالعه در این تحقیق نشان داد اسانس گل ترنج با غلظت کشنده ۵۰ درصدی کمتر، بیشترین سمیت تدخینی را برای شپشه آرد داشت. این اولین تحقیق در ارتباط با اثر کشندگی اسانس حاصل از گل مرکبات روی آفات انباری بود. در تحقیقات دیگری اثر اسانس‌های گرفته شده از پوست میوه ارقام مختلف مرکبات روی این آفات انباری بررسی شده است. (Kabiri Raeis Abad & Amiri Besheli 2012) سمیت تدخینی اسانس پوست میوه پرتقال را روی شپشه آرد بررسی کرده و میزان LC_{50} اسانس را ۴۸ ساعت پس از تیمار ۷۱/۴۵ میکرولیتر برلیتر هوا براورد کردند. با مبنا قرار دادن شاخص کشنده ۵۰ درصدی مشخص شد سمیت اسانس گل ترنج و گریپ فروت بالاتر از اسانس پوست میوه پرتقال روی این آفت است. Safavi & Mobki (2012) میزان LC_{50} اسانس پوست نارنگی را

روی شپشه آرد با گذشت ۲۴ ساعت از زمان تیمار ۷۷/۴ میکرولیتر برلیتر هوا براورد نمودند که خیلی بیشتر از میزان LC_{50} اسانس‌های مورد استفاده در تحقیق حاضر است. (Lee *et al.* 2004) نشان دادند میزان LC_{50} و LC_{90} اسانس‌های *Eucaliptus nicholii*، *E. codonocarpa*، *Callistemon sieberi*، *Melaleuca fulgens*، *E. blakelyi* و *M. armillaris* روی شپشه آرد از ۱۳/۷ تا ۲۰/۳ میکرولیتر بر لیتر هوا متغییر است. تفاوت در میزان سمیت اسانس‌ها به عوامل مختلفی از جمله گونه گیاه، گونه حشره و شرایط آزمایش بستگی دارد. حتی مواد موجود در انبارها نیز روی کارایی اسانس‌ها موثر است. به عنوان مثال در آزمایشی مشخص شد کارایی اسانس در حضور محصولات مورد استفاده از جمله گندم نسبت به عدم حضور چنین موادی کمتر است که عمدتاً به دلیل جذب روغن بالا توسط محصول بوده است (Ketoh *et al.*, 2002). در عملیات تدخین انبارها، مدت زمان تدخین و میزان مورد استفاده از ترکیب تدخینی دو فاکتور مهم می‌باشند. چنانچه برخی محققین غلظت اسانس را عامل مهمی در میزان تلفات گزارش کرده‌اند (Ketoh *et al.*, 2002). نتایج تحقیق حاضر نیز موید همین مطلب است. چنانچه با افزایش غلظت در تمامی اسانس‌ها، میزان مرگ‌ومیر نیز افزایش یافت. برخی محققین دیگر مدت زمان قرارگیری آفت در معرض اسانس را در میزان تلفات مهم دانسته‌اند (Park *et al.*, 2003). با در نظر گرفتن این شاخص و بر اساس داده‌های حاصل از این تحقیق مشخص شد می‌توان با بسته نگه داشتن محیط تیمار شده به مدت ۷۲ ساعت و کاربرد غلظت‌های ۶۴ و ۱۲۶ میکرولیتر بر لیتر هوا از دو اسانس گل ترنج و گریپ فروت به کنترل قاطع ۱۰۰ درصدی شپشه آرد دست یافت. نتایج آزمایش حاضر با نتایج بررسی Tapondjou *et al.* (2005) مطابقت داشت. آنها در بررسی خود اثر اسانس اکالیپتوس گونه *Eucalyptus saligna* را روی حشرات کامل شپشه آرد طی ۴ روز متوالی بررسی کرده و نشان دادند با گذشت زمان و افزایش غلظت بر میزان تلفات نیز افزوده می‌شود. در تحقیق حاضر نیز بیشترین کارایی اسانس‌ها با گذشت ۷۲ ساعت از زمان تیمار مشاهده شد.

به دلیل خاصیت چربی دوستی، اسانس‌های گیاهی باعث اختلال در پایه متابولیکی، بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و عملکرد رفتاری حشرات می‌شوند (Nishimura, 2001). اسانس‌ها به دلیل تجزیه سریع‌تر در محیط طبیعی نسبت به ترکیبات مصنوعی، خطرات جانبی کمتری برای محیط زیست دارند (Pillmoor *et al.*, 1993). از طرفی اکتوپامین به عنوان جایگاهی برای فعالیت بسیاری از اسانس‌های گیاهی مطرح است و بنابراین کاربرد این ترکیبات عملاً سمیتی برای انسان ندارد. با توجه به یافته‌های سایر محققان (Greany *et al.*, 1983; Sheppard, 1984; Salvatore *et al.*, 2004; Siskos *et al.*, 2007, Franca et al., 2012) و نتایج این پژوهش، اسانس بافت های مختلف مرکبات حاوی ترکیبات ثانویه‌ای می‌باشند که اثرات حشره کشی قابل توجهی روی حشرات آفت به خصوص از راسته های Coleoptera و

Diptera دارند و این در حالی است که اثرات زیان بار آنها برای انسان و سایر موجودات و محیط زیست در مقایسه با سموم شیمیایی رایج کمتر است (Plimmer, 1993; Nair, 1994; Isman, 2006) بنابراین تحقیقات بیشتر در این زمینه برای یافتن ترکیبات گیاهی جایگزین سموم شیمیایی توصیه می شود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت پژوهش و فناوری داشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم به سبب فراهم آوردن امکانات این تحقیق، تشکر و قدردانی می شود.

منابع

Baltaci, D., Klementz, D., Gerowitt, B., Drinkall, M.J. & Reichmuth, C. 2009. Lethal effects of sulfuryl fluoride on eggs of different ages and other life stages of the warehouse moth *Ephestia elutella* (Hübner). *Journal of Stored Products Research*, 45: 19-23.

Bond, E.J. 1984. *Manual of Fumigation for Insect Control. Food and Agricultural Organization of the United Nations*. Rome, Italy.

Campbell, J. F. & Runnion, C. 2003. Patch exploitation by female red flour beetles, *Tribolium castaneum*. *Journal of Insect Science*, 3: 20.

Dharmendra, S., Suman, P. S. K., Atul, P. K., Subhash, C. G. & Sushil, K. 2001. Comparative antifungal activity of essential oils and constituents from three distinct genotypes of *Cymbopogon* spp. *Current Science*, 80: 1264-1266.

Fields, P.G. & White, N.D.G., 2002. Alternatives to methyl bromide treatments for stored-product insect and quarantine insect. *Annual Review of Entomology*, 47: 331-359.

Franca, S.M., de Oliveira, J.V., Esteves Filho, A.B., de Oliveira, C. M. 2012. Toxicity and repellency of essential oils to *Zabrotes subfasciatus* (Boheman) (Coleoptera, Chrysomelidae, Bruchinae) in *Phaseolus vulgaris* L. *Acta Amazonica*. 42(3):381–86.

Greany, P. D., Styer, S. C., Davis, P. L., Shaw, P. E. & Chambers, D. L. 1983. Biochemical resistance of citrus to fruit flies. Demonstration and elucidation of resistance to the Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 34: 40–50.

Inyang, U. E. & Emosairue, S. O. 2005. Laboratory assessment of the repellent and anti-feedant properties of aqueous of 13 plants against the banana weevil, *Cosmopolites sordidus* Germar. (Coleoptera: Curculionidae). *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 5(1): 33-44.

Isman, M. B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19: 603-608.

Isman, M. B. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology*, 51: 45-66.

Kabiri Raeis Abad, M. & Amiri Besheli, B. 2012. Fumigant toxicity of essential oil extracted from orange peel *Citrus sinensis* (L) on rice weevil *Sitophilus oryzae* (L).(Col., Curculionidae) and flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst)(Col: Tenebrionidae). *Journal of Entomological Research*, 6(1): 43-52. (In Persian with English abstract).

Kabiri Raeis Abad, M., Mohammadi Sharif, M. & Kabiri Nasab, M. 2014. Biological effect of some species citrus peel essential oil against flour beetle *Tribolium confusum* Duval (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Plant Protection*. 28 (1): 115-124. (In Persian with English abstract).

Karabörklü, S., Ayvaz, A. & Semih Yilmaz, S. 2010. Bioactivities of different essential oils against the adults of two stored product insects. *Pakistan Journal of Zoology*, 42: 679-686.

Ketoh, C. K., Glitoh, A. I. & Huignard, J. 2002. Susceptibility of the bruchid *Callosobruchus maculatus* (Col: Bruchidae) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Hym: Pteromalidae) to three essential oils. *Journal of Economic Entomology*, 95: 174-182.

Lee, B. H., Annis, P. C., Tumaalii, F. & 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: 553-564.

Lee, B. H., Choi, W. S., Lee, S. E. & 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.

Mahmoudvand, M., Abbasipour, H., Basij, M., Hosseinpour, M. H., Rastegar, F. & Nasir, M. B. 2011. Fumigant toxicity of some essential oils on adults of some stored-product pests. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 71: 83-89.

Nair, M. G. 1994. Natural products as sources of potential agrochemicals, pp. 145-161. In: Hedin, P. A., Menn, J. J. & Hollingworth, R. M. (Eds.), *Natural and engineered pest management agents.* ACS Symposium Series No. 551. American Chemical Society, Washington, DC.

Naumann, K. & Isman, M.B. 1995. Evaluation of neem *Azadirachta indica* seed extracts and oils as oviposition deterrents to noctuid moths. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 76: 115-120.

Nishimura, H. 2001. Aroma constituents in plants and their repellent activities against mosquitoes. *Aroma Research*, 2: 257–267.

Odeyemi, O. O., Masika, P. & Afolayan, A.J. 2008. Insecticidal activities of essential oil from the leaves of *Mentha longifolia* L. subsp. *capensis* against *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae). *African Entomology*, 16 (2): 220-225.

Ogendo, J. O., Kostyukovsky, M., Ravid, U., Matasyoh, J. C., Deng, A. L., Omolo, E. O., Kariuki, S. T. & Shaaya, E. 2008. Bioactivity of *Ocimum gratissimum* L. oil and two of its constituents against five insect pests attacking stored food products. *Journal of Stored Products Research*, 44: 328-334.

Park, I. K., Lee, S. G., Choi, D. H., Park, J. D . & Ahn, Y.J. 2003. Insecticidal activities of constituents identified in the essential oil from leaves of *Chamaecyparis obtuse* against *Callosobruchus chinensis* (L.) and *sitophilus oryzae* (L.). *Journal of Stored Products Research*, 39 (4): 375- 384.

Pillmoor, J. B., Wright, K. & Terry, A.S. 1993. Natural products as a source of agrochemicals and leads for chemical synthesis. *Pesticide Science*, 39: 131-140.

Plimmer, J. R. 1993. Regulatory problems associated with natural products and biopesticides. *Journal of Pesticide Science*, 39: 103-108.

Reichling, J., Schnitzler, P., Suschke, U. & Saller, R. 2009. Essential oils of aromatic plants with antibacterial, antifungal, antiviral, and cytotoxic properties–an overview. *Forsch Komplementmed*, 16: 79-90.

Safavi, S. A. & Mobki, M. 2012. Fumigant toxicity of essential oils from *Citrus reticulata* Blanco fruit peels against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Crop Protection*, 1(2): 115-120.

Salvatore, A., Borkosky, S., Willink, E. & Bardon, A. 2004. Toxic effects of lemon peel constituents on *Ceratitis capitata. Journal of Chemical Ecology*, 30: 323-333.

Shaaya, E., Kostjukovshi, M., Eilberg, J. & Sukprakarn, C. 1997. Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, 33: 7-15.

Sheppard, D. C. 1984. Toxicity of *Citrus* peel liquids to the house fly and red imported fine ant. *Journal of Agricultural Entomology*, 1: 95-100.

Siskos, E. P., Konstantopoulou, M. A., Mazomenos, B. E., & Jervis, M. 2007. Insecticidal activity of *Citrus aurantium* fruit, leaf, and shoot extracts against adult olive fruit flies (Diptera: Tephretidae). *Journal of Economic Entomology*, 100(4): 1215-1220.

Soderstrom, E.L., Brandl, D.G. & Mackey, B. 1992. High temperature combined with carbon dioxide enriched or reduced oxygen atmospheres for control of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Stored Products Research*, 28: 235-238.

Soonwera, M. 2015. Efficacy of essential oils from Citrus plants against mosquito vectors *Aedes aegypti* (Linn.) and *Culex quinquefasciatus* (Say). *Journal of Agricultural Technology*, 11: 669-681.

Tapondjou, A. L., Adler, C., Fontem, D. A, Boud, H. & Reichmuth, C. 2005. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. *Journal of Stored Products Research,* 41: 91 - 102.

Tunc, I., Berger, B. M., Erler, F. & Dagli, F. 2000. Ovicidal activity of essential oils from five plants against two stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, 36: 161- 168.

van Someren Graver, J.E. 2004. *Guide to Fumigation under Gas-Proof Sheets*. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome, Italy

Wang, J., Zhu, F., Zhou, X.M., Niu, C.Y. & Lei, C.L., 2006. Repellent and fumigant activity of essential oil from *Artemisia vulgaris* to *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Stored Products Research,* 42(3): 339-347.

Wilson, J. A. & Isman, M. B. 2006. Influence of essential oils on toxicity and pharmacokinetics of the plant toxin thymol in the larvae of *Trichoplusia ni*. *The Canadian Entomologist*, 138: 578-589.

Plant Protection Journal
(Islamic Azad University, Shiraz Branch)
2016 – 8(1) : 29-41

Insecticidal effect of essential oil extracted from the flower of three citrus varieties against flour beetle *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae)

Fatemeh FATEHIAN[1], Majid FALLAHZADEH[1*], Abu Fazel DOUSTI[1], Mahdi KABIRI RAEIS ABBAD[2]

1. Department of Entomology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran
**(Corresponding author: mfalahm@yahoo.com)*
2. Department of Plant Protection, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

Abstract

Plant essential oils are an appropriate alternative to chemical pesticides. These compounds may act as fumigants, contact insecticides, repelents, antifeedants and may affect growth and development of the insects. In this study, the fumigant activity of essential oils from flower of *Citrus medica* L., *C. paradise* L. and *C. lemon* L. were tested against adult of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera, Tenebrionidae) under laboratory conditions. The experiment was conducted using a completely randomized design of factorial experiment with five concentrations and five replications at 25±2^{0}C, 60±5% R.H in darkness. The flowers of citrus were collected from Jahrom, Fars province, Iran in May 2015. All the collected plant materials were shade-dried at room temperature and their powders were used to extract essential oils. Dried materials were then subjected to hydrodistillation with a Clevenger-type distiller. The 50 and 90% lethal concentration (LC_{50} and LC_{90}) values were assessed by probit analysis with SPSS software. Tests for variance analyzes and assessment of means factors comparison were done using LSD test. Mortality was recorded after 24, 48 and 72 hours. The results showed that the percentage of mortality was increased with increase in concentration and exposure of time. high concentrations of essential oils (126 µl/ l air) from flower of three studied varieties had 100, 100 and 72% mortality respectively, 72 h post treatments. The LC_{50} values of *Citrus medica*, *C. paradise* and *C. lemon* were 5.2, 9.4 and 11.8 µl/L of air, 72 h post treatment respectively. Accordingly, the *C. medica* essential oil had the highest toxicity. According to the results, the essential oils of *Citrus* spp. are source of biologically active vapor that can be used in protection of stored grains against *T. castaneum*.

Keywords: Essential oil, Flour beetle, Citrus, Fumigant toxicity