

## اثر سمیت تنفسی سه اسانس گیاهی روی حشرات بالغ شپشه برنج *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera : Curculionidae)

یاسمین معتمدی<sup>۱</sup>، مجید فلاح‌زاده<sup>۲\*</sup>، وحید روشن<sup>۳</sup>

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، گروه حشره‌شناسی، جهرم، ایران  
۲- دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، گروه حشره‌شناسی، جهرم، ایران  
۳- استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس، شیراز، ایران

### چکیده

طی چند دهه اخیر تحقیقات وسیعی روی ترکیبات گیاهی متعدد به منظور دستیابی به جایگزین‌های بی خطر یا کم‌خطر و موثرتر از حشره‌کش‌های شیمیایی برای کنترل آفات انباری انجام شده است. به همین منظور در جستجوی جایگزینی مناسب برای سموم شیمیایی آفت‌کش متداول، سمیت تنفسی اسانس گیاهان پونه، *Mentha longifolia* L.، جعفری مکزیکی یا معطر، *Tagetes minuta* L. و مرمرشک *Salvia macrosiphon* Boiss. روی حشرات کامل شپشه برنج *Sitophilus oryzae* L. در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. اسانس‌ها با استفاده از دستگاه کلونجر استخراج شدند. این تحقیق در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار و فاکتورهای غلظت در پنج سطح، نوع گونه اسانس‌های گیاهی در سه سطح و زمان در دو سطح در شرایط دمایی  $25 \pm 1$  درجه سلسیوس، رطوبت نسبی  $5 \pm 60$  درصد و تاریکی انجام شد. با افزایش غلظت و نیز با گذشت زمان، درصد تلفات افزایش یافت. هم‌چنین نتایج بیانگر اثر سمیت بیشتر اسانس پونه و اثر ضعیف‌تر اسانس مرمرشک روی حشرات مورد مطالعه بود. درصد تلفات ایجاد شده توسط اسانس پونه، جعفری معطر و مرمرشک بعد از ۱۲ ساعت در بالاترین غلظت (۲۵ میکرولیتر بر لیتر هوا) برای حشرات کامل شپشه برنج به ترتیب ۸۰، ۷۳/۳ و ۶۶/۶ درصد و پس از ۲۴ ساعت در همین غلظت درصد تلفات توسط اسانس‌های مذکور به ترتیب ۹۶/۶، ۸۶/۶ و ۷۳/۳ درصد ثبت گردید. مقادیر  $LC_{50}$  برای اسانس گیاهان پونه، جعفری معطر و مرمرشک بعد از ۱۲ ساعت روی حشرات کامل شپشه برنج به ترتیب ۸/۱۶۶، ۱۱/۴۸۸ و ۱۴/۱۶۱ میکرو لیتر بر لیتر هوا و بعد از ۲۴ ساعت به ترتیب ۵/۸۹۸، ۷/۸۱۴ و ۱۱/۰۶۸ میکرو لیتر بر لیتر هوا محاسبه شد. نتایج این بررسی نشان داد که اسانس گیاهان پونه، جعفری معطر و مرمرشک می‌توانند به عنوان منابع بیولوژیکی موثر و کم‌خطر جهت حفاظت غلات انبار شده از آلودگی توسط شپشه برنج به کار برده شوند.

واژه‌های کلیدی: سمیت تنفسی، پونه، جعفری مکزیکی، مرمرشک، شپشه برنج

\*نویسنده رابط، پست الکترونیکی: mfalahm@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله (۹۱/۷/۱۲) - تاریخ پذیرش مقاله (۹۱/۱۲/۲)



## مقدمه

استفاده از گازهای فسفین و متیل بروماید به عنوان یکی از روش‌های اصلی کنترل آفات انباری جهان بوده است و این مواد در سطح وسیعی تاکنون مورد استفاده قرار گرفته اند (Bond, 1984; Fields & White, 2002; Lee *et al.*, 2004). امروزه در بسیاری از کشورهای توسعه یافته استفاده از متیل بروماید ممنوع شده و با توجه به اثرات مخرب این ترکیب روی لایه اوزون، تا سال ۲۰۱۵ استفاده از آن در تمام کشورها ممنوع اعلام شده است (Fields & White, 2002). در سال‌های اخیر مقاومت بسیاری از آفات گیاهی به گاز فسفین گزارش شده است (Bell & Wilson, 1995; Benhalima *et al.*, 2009; Pimentel *et al.*, 2009; Collins *et al.*, 2005; *et al.*). دی اکسید کربن و سولفوریل فلوراید به عنوان ترکیبات جایگزین این دو ترکیب تدخینی پیشنهاد شده اند (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). به این دلیل لازم است که دائماً به دنبال ترکیبات جدید و موثری برای کنترل آفات انباری باشیم تا در صورت خارج شدن هر ترکیب از چرخه کنترل، ترکیب جدیدی را جانشین آن سازیم. بسیاری از متخصصین معتقدند که ترکیبات آلی گیاهی یکی از جایگزین‌های مناسب سموم شیمیایی برای کنترل آفات می‌باشند (Arnason *et al.*, 1989). ترکیبات گیاهی معمولاً در طبیعت زودتر تجزیه می‌شوند، سمیت کمتری برای انسان و سایر پستانداران داشته و اثرات زیست محیطی به مراتب کمتر از سموم شیمیایی دارند (Isman, 2000). در بین ترکیبات گیاهی اسانس‌ها با دارا بودن ترکیباتی از جمله ترپنوئیدها، کربن‌های زنجیره‌ای ۷ تا ۳۷ کربنی و برخی ترکیبات متفرقه از جمله نیتروژن، گوگرد، سولفید و سیانیدها دارای اثرات حشره کشی می‌باشند (Huang *et al.*, 2000; Negahban & Moharramipour, 2007; Rajendran & Sriranjini, 2008). در سال‌های اخیر تحقیقات بسیاری برای یافتن اسانس‌های گیاهی به عنوان ترکیبات جایگزین سموم شیمیایی در کشور صورت گرفته است و بیشتر این تحقیقات تاکید بر سمیت تنفسی این اسانس‌ها روی حشرات دارند (Shakarami *et al.*, 2005; Javadi Elmi *et al.*, 2010; Moravvej *et al.*, 2010; Rafiei-Karahroodi *et al.*, 2010). هدف از انجام این تحقیق، بررسی اثر سمیت تنفسی اسانس گیاهان پونه (*Mentha longifolia* L. (Lamiaceae)، جعفری مکزیکی (*Tagetes minuta* L. (Asteraceae) و مرمرشک (*Salvia macrosiphon* Boiss (Lamiaceae) روی حشرات کامل شپشه برنج، تعیین مقادیر LC<sub>50</sub> اسانس‌ها و شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده این اسانس‌ها و کاهش مصرف سموم شیمیایی از طریق جایگزین نمودن ترکیبات گیاهی می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

### کشت و جمع‌آوری گیاهان مورد مطالعه

بذور گیاه جعفری مکزیکی در فروردین ماه ۱۳۹۰ کشت شدند و در مهرماه در مرحله گل‌دهی برداشت گردیدند. گیاه پونه از اطراف نواحی آب‌گیر سپیدان و گیاه مرمرشک از اطراف شیراز در فصل بهار ۱۳۹۰ جمع‌آوری شدند. گیاهان برداشت شده با آب مقطر شسته شده تا گرد و خاک آن‌ها برطرف گردد، سپس در محل کاملاً تاریک خشک گردیدند.

## تهیه اسانس

قسمت‌های هوایی گیاهان پونه (*Mentha longifolia* L. (Lamiaceae)، جعفری مکزیکی یا معطر (Asteraceae) *Tagetes minuta* و مرمرشک (*Salvia macrosiphon* Boiss (Lamiaceae) شامل برگ‌ها، گل‌ها و ساقه‌ها به شکل پودر در آمدند. در هر بار اسانس‌گیری، ۱۰۰ گرم از مواد خشک گیاه به همراه ۶۰۰ میلی لیتر آب مقطر با استفاده از دستگاه اسانس‌گیر مدل کلونجر ۲ ساعت و ۳۰ دقیقه با دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس اسانس‌گیری گردیدند. اسانس‌های جمع‌آوری شده بوسیله سولفات سدیم آبیگری و تا زمان استفاده در ظروف شیشه‌ای تیره در زیر روکش آلومینیومی در یخچال در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

## پرورش حشرات

حشرات کامل شپشه برنج *Sitophilus oryzae* از بخش تحقیقات حشره‌شناسی کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران تهیه و کلنی اولیه آن در دستگاه انکوباتور با شرایط دمایی  $25 \pm 1$  درجه سلسیوس، رطوبت نسبی  $60 \pm 5$  درصد و دوره تاریکی ۲۴ ساعت روی دانه‌های برنج پرورش و تکثیر یافتند.

## آزمایشات زیست‌سنجی

## تعیین سمیت تنفسی اسانس‌ها

آزمایشات سمیت تنفسی اسانس‌ها بر اساس روش Tapandjou *et al.*, (2005) روی کاغذ صافی (Whatman No. 1) انجام شد. کاغذ صافی در کف پتری دیش به حجم ۱۲۷ میلی لیتر (به قطر ۹ و ارتفاع ۲ سانتی‌متر) قرار داده شد. با استفاده از میکروپیپت مقادیر ۲۵۴، ۵۰۸، ۸۸۹، ۱۶۵۱ و ۳۱۷۵ میکرولیتر اسانس (معادل ۲، ۴، ۷، ۱۳ و ۲۵ میکرولیتر اسانس بر لیتر هوا) از اسانس گیاهان پونه، جعفری مکزیکی و مرمرشک برداشته و در یک میلی‌لیتر استون حل گردید و به کمک میکروپیپت روی کاغذ صافی درون پتری ریخته شد. به دلیل حل نشدن اسانس‌ها در آب و تشکیل رسوب در آنها، از حلال استون استفاده گردید. در ظروف شاهد فقط از استون استفاده گردید. این غلظت‌ها پس از انجام یک سری آزمایشات اولیه و بر اساس درصد تلفات آن‌ها انتخاب شدند، به این صورت که در آزمایشات مقدماتی غلظت‌های مختلفی از یک اسانس را انتخاب و روی حشرات کامل شپشه برنج در سه تکرار آزمایش شدند. از آنجایی که در این آزمون‌ها غلظتی که صفر و صد درصد تلفات را ایجاد کند برای زیست‌سنجی مناسب نمی‌باشد، لذا غلظت‌های بین ۱۰٪ و ۷۵٪ تلفات با فاصله لگاریتمی انتخاب شدند. بلافاصله پس از تبخیر حلال، با استفاده از قلم موی نرم شماره ۴ تعداد ۱۰ عدد حشره کامل ۱۰-۷ روزه به داخل پتری منتقل و درب پتری‌ها گذاشته شد. جهت جلوگیری از نفوذ بخار اسانس به بیرون و نیز برای جلوگیری از خروج حشرات از پتری، اطراف درپوش با نوار چسب و نوار میکروفیلم محکم شد. ظروف پتری دیش در انکوباتور با شرایط دمایی  $25 \pm 1$  درجه سلسیوس، رطوبت نسبی،  $60 \pm 5$  درصد و تاریکی قرار داده شد. هر غلظت در سه تکرار، روی حشرات مورد تیمار، آزمایش گردید. تعداد حشرات مرده (حشراتی که قادر به حرکت دادن پا، شاخک و یا دو حلقه انتهایی شکم نبودند) پس از ۱۲ و ۲۴ ساعت شمارش و ثبت گردید. در مورد شاهد پس از ۲۴ ساعت مرگ و میری مشاهده نشد. این تحقیق در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار و فاکتورهای غلظت در پنج سطح، نوع گونه اسانس‌های گیاهی در سه سطح و زمان در دو سطح همراه با شاهد در شرایط دمایی  $25 \pm 1$  درجه سلسیوس، رطوبت نسبی،  $60 \pm 5$  درصد و تاریکی انجام شد. داده‌های آزمایش قبل از آنالیز با تبدیل

شدن به آرک سینوس آلفا نرمال شدند. به دلیل این که در شاهد تلفاتی مشاهده نگردید از فرمول ابوت استفاده نشد. سپس با استفاده از نرم افزار SAS (9,1) داده‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقایسه میانگین‌ها از روش LSD در سطح پنج درصد انجام پذیرفت. برای تعیین مقدار LC<sub>50</sub> اسانس‌های گیاهی بر روی حشرات بالغ از نرم افزار Polo-PC استفاده گردید.

### تجزیه اسانس

تجزیه اسانس با استفاده از دستگاه‌های GC/MS, GC انجام پذیرفت. نمونه‌های آماده شده به دستگاه کروماتوگرافی گازی تزریق گردید و مناسب‌ترین برنامه‌ریزی دمایی برای جداسازی کامل ترکیبات اسانس به دست آمده هم‌چنین درصد ترکیبات تشکیل دهنده هر نمونه اسانس محاسبه شد. سپس اسانس‌ها به دستگاه کروماتوگرافی متصل به طیف نگار جرمی نیز تزریق شدند و طیف جرمی ترکیبات به دست آمد. شناسایی ترکیبات اسانس با استفاده از بررسی طیف‌های جرمی و مقایسه با طیف‌های جرمی پیشنهادی توسط کتابخانه‌های کامپیوتر دستگاه کروماتوگراف متصل به طیف سنج جرمی و ترکیبات استاندارد صورت گرفت.

### نتایج

در این تحقیق مشخص شد که اسانس‌های پونه، جعفری معطر و مرمرشک اثر حشره‌کشی بالایی روی حشرات بالغ شپشه برنج دارند. این موضوع یعنی اثر حشره‌کشی اسانس‌های گیاهی قبلا نیز توسط دیگر محققین گزارش شده است (Odyemi et al., 2008; Shakarami et al., 2005; Krishna et al., 2005). نتایج این آزمایش نشان داد که اثر حشره‌کشی اسانس‌های مورد مطالعه در غلظت‌ها و زمان‌های مذکور روی حشرات بالغ شپشه برنج دارای اختلاف معنی‌دار بودند ( $F= 2/62$ ،  $P < 0/01$ ). مقادیر LC<sub>50</sub> محاسبه شده اثر سمیت تنفسی اسانس گیاهان پونه، جعفری معطر و مرمرشک روی حشرات مورد مطالعه بعد از ۱۲ ساعت به ترتیب ۸/۱۶۶، ۱۱/۴۸۸ و ۱۴/۱۶۱ میکرولیتر بر لیتر هوا و بعد از ۲۴ ساعت به ترتیب ۵/۸۹۸، ۷/۸۱۴ و ۱۱/۰۶۸ میکرولیتر بر لیتر هوا محاسبه گردید که کمتر بودن مقادیر LC<sub>50</sub> مربوط به اسانس پونه نسبت به دو اسانس دیگر بیانگر اثر سمیت بیشتر اسانس پونه و بیشتر بودن مقادیر LC<sub>50</sub> مربوط به اسانس مرمرشک نسبت به دو اسانس دیگر نشان دهنده اثر سمیت کمتر اسانس مرمرشک نسبت به دو اسانس مذکور می‌باشد (جدول ۱ و ۲).

جدول ۱- مقادیر LC<sub>50</sub> محاسبه شده اثر سمیت تنفسی اسانس گیاهان پونه، جعفری مکزیکی و مرمرشک روی حشرات بالغ شپشه برنج بعد از ۱۲ ساعت

Table 1- Estimated LC<sub>50</sub> of essential oils extracted from *Mentha longifolia*, *Tagetes minuta* and *Salvia macrosiphon* on adults of *S. oryzae* after 12 hours

Essential oils	No.	$\chi^2$ (df)	b±SE	LC <sub>50</sub>	Confidence Limit 95%	
					Lower	Upper
<i>Mentha longifolia</i>	180	0.11 (3)	1.66±0.3	8.166	6.004	11.455
<i>Tagetes minuta</i>	180	0.53 (3)	1.65±0.31	11.488	8.461	17.452
<i>Salvia macrosiphon</i>	180	0.44 (3)	1.45±0.3	14.161	9.919	25.366

جدول ۲- مقادیر  $LC_{50}$  محاسبه شده اثر سمیت تنفسی گیاهان پونه، جعفری مکزیکی و مرمرشک روی حشرات بالغ شپشه برنج بعد از ۲۴ ساعت

Table 2- Estimated  $LC_{50}$  of essential oils extracted from *Mentha longifolia*, *Tagetes minuta* and *Salvia macrosiphon* on adults of *S. oryzae* after 24 hours

Essential oils	No.	$\chi^2$ (df)	b±SE	$LC_{50}$	Confidence Limit 95%	
					Lower	Upper
<i>Mentha longifolia</i>	180	3.47 (3)	2.02±0.33	5.898	3.310	9.687
<i>Tagetes minuta</i>	180	1.19 (3)	1.97±0.32	7.814	5.989	10.363
<i>Salvia macrosiphon</i>	180	0.94 (3)	1.54±0.3	11.068	8.006	17.279

بین اثر حشره‌کشی اسانس‌های مورد مطالعه در غلظت‌های ۲، ۴، ۷، ۱۳ و ۲۵ میکرولیتر بر لیتر هوا بعد از گذشت ۱۲ و ۲۴ ساعت اختلاف معنی‌دار وجود داشت. بعد از گذشت ۱۲ ساعت از انجام آزمایش بیش‌ترین میزان حشره‌کشی مربوط به اسانس پونه در غلظت ۲۵ میکرولیتر بر لیتر هوا با میانگین ۸۰ درصد بود (جدول ۳). بعد از ۲۴ ساعت بیش‌ترین درصد تلفات مربوط به همین اسانس در غلظت ۲۵ میکرولیتر بر لیتر هوا با میانگین ۹۶/۶ درصد بود که در هر دو زمان مذکور این تیمار با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌دار داشت (جدول ۴). پس از اسانس پونه به ترتیب اسانس‌های جعفری معطر و مرمرشک بیش‌ترین اثر حشره‌کشی را داشتند به نحوی که میانگین مرگ و میر ۱۲ ساعت پس از انجام آزمایش در غلظت ۲۵ میکرولیتر بر لیتر هوا برای این اسانس‌ها به ترتیب ۷۳/۳، ۶۶/۶ درصد و پس از ۲۴ ساعت در همین غلظت به ترتیب ۸۶/۶ و ۷۳/۳ درصد بود. در غلظت ۲ میکرولیتر بر لیتر هوا پس از ۱۲ ساعت بین اثر اسانس‌های جعفری معطر و مرمرشک و در غلظت ۴ میکرولیتر بر لیتر هوا پس از ۱۲ ساعت بین اثر حشره‌کشی این دو اسانس و نیز بعد از ۲۴ ساعت در ۲ غلظت میکرولیتر بر لیتر هوا بین اثر همین دو اسانس اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول ۳ و ۴). این نتایج بیانگر این بود که اسانس‌های پونه و مرمرشک به ترتیب بیش‌ترین و کم‌ترین اثر حشره‌کشی را داشتند.

جدول ۳- میانگین درصد مرگ و میر حشرات بالغ شپشه برنج توسط اسانس گیاهان پونه، جعفری مکزیکی و مرمرشک پس از ۱۲ ساعت در غلظت‌های مختلف

Table 3- Mean adult mortalities of *S. oryzae* exposed to different concentrations of essential oils extracted from *M. longifolia*, *T. minuta* and *S. macrosiphon* after 12 hours

Essential oils	Concentration				
	2	4	7	13	25
	Mean mortality				
<i>Mentha longifolia</i>	16.6 s	30 n	43.3 k	63.3 h	80 c
<i>Tagetes minuta</i>	13.3 t	20 q	33.3 m	53.3 i	73.3 e
<i>Salvia macrosiphon</i>	13.3 t	20 q	30 n	46.6 j	66.6 g

Mean within the column followed by the same letters are not significantly different

جدول ۴ - میانگین درصد مرگ و میر حشرات بالغ شیشه برنج توسط اسانس گیاهان پونه، جعفری مکزیکی و مرمرشک پس از ۲۴ ساعت در غلظت‌های مختلف

Table 4- Mean adult mortalities of *S. oryzae* exposed to different concentrations of essential oils extracted from *M. longifolia*, *T. minuta* and *S. macrosiphon* after 24 hours

Essential oils	Concentration				
	2	4	7	13	25
	Mean mortality				
<i>Mentha longifolia</i>	23.3 p	33.3m	50 j	70 f	96.6 a
<i>Tagetes minuta</i>	16.6 s	23.3P	43.3 k	66.6 g	86.6 b
<i>Salvia macrosiphon</i>	16.6 s	20 q	36.6 l	53.3 i	73.3 e

Mean within the column followed by the same letters are not significantly different

مهم‌ترین ترکیبات در اسانس پونه ترکیبات منتوفوران (۳۲/۱ درصد)، پولگون (۲۹/۹۳ درصد) و منتون (۱۷/۸۵ درصد) در جعفری مکزیکی ترکیبات ای-اوسيمن (۲۹/۹۶ درصد)، دی هیدرو تاجتون (۲۳/۲ درصد) و تاجتون (۱۹/۸۱ درصد) و در مرمرشک ترکیبات لینالول (۲۱/۰۲ درصد)، هگزیل ایزو والرات (۱۴/۸۳ درصد) و هگزیل - ۲-متیل بوتارات (۱۰/۴۶ درصد) بودند. ترکیبات منتوفوران، ای-اوسيمن و لینالول به ترتیب بیشترین میزان را در اسانس‌های مذکور به خود اختصاص داده‌اند. این ترکیبات جزء ترکیبات حشره‌کش می‌باشند (Makhaik et al., 2005; Krishna et al., 2005; Bougard et al., 2007) (جداول ۵، ۶ و ۷).

جدول ۵- ترکیبات شناسایی شده در اسانس پونه

Table 5 – Chemical components of the essential oils of *M. longifolia*

Components	Kovats Index	Percentage
Alpha-Pinene	940	0.6
Camphene	953	0.5
Sabinene	966	1.4
Beta-Pinene	975	0.4
Myrcene	983	0.8
1,8-Cineole	1028	14.4
Limonene	1030	0.3
Cis-Hydrate Sabinene	1048	0.2
Trans-Thujone	1102	0.2
Trans-Pincarveol	1132	2
Isopulegol	1142	1.2
Menthone	1148	17.85
Pulegone	1227	29.93
Piperitone	1255	16.9
Acetate Linalool	1258	1.6
Thymol	1263	1.1
Acetate Bornyl	1273	0.1
Menthophoran	1285	32.1
Isomenthon	1293	15.28
Carvacrol	1298	9.3
Beta-Caryophyllene	1430	6.3
Alpha-Humulene	1447	1.4
Trans-Franesene Beta	1458	0.5
GermacreneD	1470	9.1
Ar-Curcumene	1478	1.4
Beta-Selinene	1480	0.5
Spathulenol	1565	1.8
Viridiflorol	1580	0.2

جدول ۶- ترکیبات شناسایی شده در اسانس جعفری مکزیکی

Table 6 – Chemical components of the essential oils of *T. minuta*

Components	Kovats Index	Percentage
Sabinene	969	0.44
Cis-3-Hexenyl Acetae	1001	0.15
Limonene	1024	3.17
Cis-Beta-Ocimene	1032	8.3
Dihydrotagetone	1052	23.2
Chrysanthenone	1124	0.17
Allo-Ocimene	1128	0.56
(E,Z)-Epoxyocimene	1131	2.34
Tagetone	1139	19.81
Cis-Tagetone	1148	0.7
-1,8-dien-3-One	1068	0.24
P-Mentha		
(Z)-Ocimene	1226	6.29
(E)-Ocimene	1235	29.96
Cis-Isoeugenol	1397	0.75
Trans-Caryophyllene	1417	0.31
Alpha-Humulene	1452	0.17
GermacreneD	1484	0.52
Spathulenol	1577	0.31



جدول ۷- ترکیبات شناسایی شده در اسانس مرمشک

Table 7 – Chemical components of the essential oils of *S. macrosiphon*

Components	Kovats Index	Percentage
Linalool	1102	21.02
Hexeyl-Iso Botanate	1150	3.17
Hexeyl- $\gamma$ -Methyl Botarate	1234	10.46
Hexeyl-Iso Valerate	1243	14.83
Actyl-Iso Botarate	1348	1.48
Hexeyl-Hexanate	1392	4.8
Beta-Longipinene	1412	2.02
Actyl- $\gamma$ -Methyl-Botanate	1434	1.76
Gama-Gurjuene	1474	2.18
GermacreneD	1480	2.49
Beta-Selinene	1489	0.83
Delta-Selinene	1493	1.1
Fransol	1503	4.26
Gama-Amorphine	1512	3.26
Gma-Cadinene	1515	5.63
ideCaryophylleneox	1581	5.07
Hexeyl-Octanate	1584	1.69
Beta-Eudesmol	1611	2.6
Alpha-Bisabolool	1622	1.61
Alpha-Moroolool	1645	0.94
Decanoicacid	1920	1.58
Manoiloxide	1996	1.36
Manool	2055	2.06
Scarool	2225	3.89

## بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که اسانس گیاهان مورد آزمایش دارای سمیت تنفسی قابل توجهی روی حشرات کامل شپشه برنج می‌باشند. نتایج به دست آمده حاکی از آن است که اسانس گیاه پونه دارای سمیت تنفسی بالاتری نسبت به اسانس‌های جعفری مکزیکی و مرمشک است و با افزایش زمان و غلظت نیز درصد تلفات شپشه برنج افزایش می‌یابد. در این تحقیق درصد تلفات ایجاد شده توسط اسانس پونه روی شپشه برنج (۹۶/۶٪)، در مقایسه با تلفات به دست آمده از اثر غلظت مشابه (۳۲ میکرولیتر بر لیتر هوا) این اسانس روی شپشه *S. zeamais* (۸۰٪)، بیشتر می‌باشد (Odeyemi *et al.*, 2008). در آزمایش سمیت تنفسی اسانس‌های مورد آزمایش روی حشرات کامل مورد مطالعه مشخص شد که با افزایش زمان اسانس‌دهی درصد تلفات نیز بالا می‌رود که این با نتایج (Lee *et al.*, 2001) و (Jemaa *et al.*, 2009) مبنی بر افزایش درصد تلفات با افزایش زمان در معرض قرار گرفتن اسانس مطابقت دارد. هم‌چنین درصد مرگ و میر حشرات کامل در غلظت‌های مختلف اسانس‌های مورد مطالعه با هم اختلاف معنی‌دار دارند که با نتایج سایر محققین مبنی بر افزایش مرگ و میر حشرات بالغ در اثر افزایش غلظت اسانس مطابقت دارد.

(Paranagama et al., 2003; Taghizadeh Saroukolai et al., 2010). در تحقیق حاضر غلظت ۲۵ میکرولیتر بر لیتر هوا اسانس پونه، ۹۶/۶ درصد از حشرات مورد آزمایش را از بین برد که بیانگر اثر حشره کشی قوی تر این اسانس نسبت به جعفری مکزیکی است که در غلظت ۴۷ میکرولیتر بر لیتر هوا، ۹۰ درصد تلفات را ایجاد نموده است (Krishna et al., 2005). در این تحقیق هم‌چنین در مقایسه LC<sub>50</sub> محاسبه شده برای اسانس پونه روی این آفت (۵/۸۹۸ میکرولیتر بر لیتر) با LC<sub>50</sub> محاسبه شده برای اسانس جعفری آفریقایی *T. erecta* روی شپشه برنج (۱۱/۹۶۲ میکرولیتر بر لیتر) این طور نتیجه‌گیری می‌شود که اسانس پونه اثر قوی‌تری نسبت به اسانس جعفری آفریقایی روی آفت مذکور داشته است. هم‌چنین مقادیر LC<sub>50</sub> محاسبه شده برای اسانس‌های پونه، جعفری مکزیکی و مرمرشک روی این آفت به ترتیب ۵/۸۹۸، ۷/۸۱۴ و ۱۱/۰۶۸ میکرولیتر بر لیتر می‌باشد که در مقایسه با LC<sub>50</sub> محاسبه شده برای اسانس *Melaleuca fulgens* R.Br روی شپشه برنج (۶/۷۸۱ میکرولیتر بر لیتر)، سمیت بیشتر اسانس پونه و سمیت کمتر دو اسانس دیگر را نسبت به اسانس مذکور در تحقیق را نشان می‌دهد (Lee et al., 2001).

در اسانس پونه ترکیبات منتون، ایزومتون، پولگون و متوفوران به عنوان ترکیبات عمده و حشره‌کش این گیاه معرفی شده است (Bougard et al., 2007) که در اسانس پونه مورد بررسی در این تحقیق نیز این ترکیبات به میزان قابل توجه به ترتیب ۱۷/۸۵، ۱۵/۲۱، ۲۹/۹۳ و ۳۲/۱ درصد وجود داشت. هم‌چنین تاجتون، دی هیدرو تاجتون ترکیبات اصلی و حشره‌کش موجود در اسانس جعفری مکزیکی تشخیص داده شده است (Perich et al., 1994; Makhaik et al., 2005) که در اسانس گیاه جعفری مکزیکی مورد مطالعه در تحقیق حاضر نیز این ترکیبات به میزان قابل توجه ۲۳/۲ و ۱۹/۸۱ درصد موجود بود. ترکیبات لینالول، هگزیل ایزو والرات، هگزیل -۲ متیل بوترات و گاما - کادین جزء ترکیبات عمده و حشره‌کش گیاه مرمرشک معرفی شده است (Sajadi et al., 2000; Krishna et al., 2005) که این ترکیبات در اسانس مرمرشک در این تحقیق نیز به میزان ۲۱/۰۲، ۱۴/۸۳، ۱۰/۴۶ و ۵/۶۳ درصد وجود داشت. با توجه به نتایج به دست آمده مبنی بر خاصیت حشره کشی قابل توجه اسانس‌های پونه، جعفری مکزیکی و مرمرشک روی شپشه برنج و با توجه به کم‌خطر بودن آنها برای انسان و محیط زیست پیرامون آن می‌توانند به عنوان یک حشره‌کش کم‌خطر و یا حداقل به عنوان مدلی برای سنتز آفت‌کش‌های کم‌خطر مورد استفاده قرار گیرند. هر چند تا جانشین نمودن اسانس‌های گیاهی به جای ترکیبات شیمیایی در کنترل آفات انباری راهی نسبتاً طولانی در پیش است اما تحقیقات در این زمینه می‌تواند ما را در یافتن ترکیباتی با قدرت حشره کشی قابل توجه که فاقد تأثیرات مخرب زیست محیطی باشند، رهنمون سازد.

## References

- Arnason, J. T., Philogene, B. J. R. and Morand, P. 1989.** Insecticides of Plant Origin. ACS Symp. Ser No. 387. Washington DC: American Chemical Society.
- Baltaci, D., Klementz, D., Gerowitt, B., Drinkall, M. J. and Reichmuth, C. 2009.** Lethal effects of sulfuranyl 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.
- Bell, C. H., Wilson and S. M. 1995.** Phosphine tolerance and resistance in *Trogoderma granarium* (Coleoptera: Dermestidae). Journal of Stored Products Research, 31: 199-205.
- Benhalima, H., Chaudhry, M. Q., Mills, K. A. and Price, N. R. 2004.** Phosphine resistance in stored-product insects collected from various grain storage facilities in Morocco. Journal of Stored Products Research, 40: 241-249.
- Bond, E. J. 1984.** Manual of Fumigation for Insect Control. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome.
- Bourgaud, F., Gravot, A., Milesi, S. and Gontier, E. 2001.** Production of plant secondary metabolites: A historical perspective. Plant Science, 161: 839-851.
- Collins, P. J., Darglish, G. J., Pavic, H. and Kopittke, R. A. 2005.** Response of mixed-age cultures of phosphine-resistant and susceptible strains of lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica*, to phosphine at a range of concentrations and exposure periods. Journal of Stored Products Research, 41: 373-385.
- Fields, P. G. and White, N. D. G., 2002.** Alternatives to methyl bromide treatments for stored-product insect and quarantine insect. Annual Review of Entomology, 47: 331-359.
- Huang, Y., Lam, S. L. and Ho, S. H. 2000.** Bioactivities of essential oils from *Elletaria cardamomum* (L.) Maton. To *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). Journal of Stored Products Research, 36: 107-117.
- Isman, M. B. 2000.** Plant essential oils for pest and disease management. Crop Protection, 19: 603-608.
- Javadi Elmi, M., Shakarami, J. and Bandani, A. R. 2007.** Fumigant toxicity of three plant essential oils on the adult of *Callosobruchus maculatus* (Col.: Bruchidae) in vitro. New Findings in Agriculture, 2(1):71-78.
- Jemaa, J., Bachrouch, O., Marzouk, B. and Abderrabba, M. 2009.** Fumigant toxicity of essential oil from *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae) against stored-product insects. International Society for Horticultural Science, pp. 1-2.
- Krishna, A., Prajapati, V., Bhasney, S., Tripathi, A. K. and Kumar, S. 2005.** Potential toxicity of new genotypes of *Tagetes* (Asteraceae) species and *Salvia macrosiphon* against stored grain insect pests. International Journal of Tropical Insect Science, 25(2): 122-128.
- Lee, B., Choi, W., Lee, S. and Park, B. 2001.** Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). Crop Protection, 20: 317-320.
- Lee, B. H., Annis, P. C., Tumaalii, F. A. 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: 553-564.
- Makhaik, M., Naik, SN., Tewary, DK. 2005.** Evaluation of anti-mosquito properties of essential oils. Journal of Scientific and Industrial Research, 64: 129-33.
- Moravvej, GH., Shahraki, Z., Azizi A., and Yaghnaee, F. 2009.** Fumigant toxicity of plant essential oils *Bunium persicum* Boiss. (Umbelliferae) and *Elletaria cardamomum* Maton. (Zingiberaceae) on the adult of *Tribolium castaneum* Herbst. (Col: Tenebrionidae). Journal of Plant Protection, 23(2):96-105.

- Negahban, M. and Moharramipour, S., 2007.** Fumigant toxicity of *Eucalyptus intertexta*, *Eucalyptus sargentii* and *Eucalyptus camaldulensis* against stored-product beetles. *Journal of Applied Entomology*, 131: 256-261.
- Odeyemi, O., Masika, P. and Afolayan, A. 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.
- Paranagama, P. A., Abeysekera, K. H. T., Nugaliyadde, L. and Abeywickrama, K. P. 2003.** Repellency and toxicity of four essential oils to *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 32(3&4): 127-138.
- Park, C., Kim, S. & Ahn, Y. 2003.** Insecticidal activity of asarones identified in *Acorus gramineus* rhizome against three Coleopteran stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, 39: 333-34.
- Perich, M. J., Wells, C., Bertsch, W. and Tredway, K. E. 1994.** Toxicity of essential oils from three *Tagetes* against adults and larvae of yellow fever mosquito and *Anopheles stephensi*. *Journal of Medical Entomology*, 31: 833- 837.
- Pimentel, M. A. G., Faroni, L. R. D. A., Guedes, R. N. C., Sousa, A. H. and Tótoła, M. R. 2009.** Phosphine resistance in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Stored Products Research*, 45: 71-74.
- Rafiei-Karahroodi, Z., Moharramipour, S., Farazmand, H. and Karimzadeh-Esfahani, J. 2010.** Effect of eighteen plant essential oils on nutritional indices of larvae *Plodia interpunctella* Hubner (Lep., Pyralidae). *Journal of Entomological Research*, 1(3): 209-219.
- Rajendran, S., Sriranjini, V., 2008.** Plant products as fumigants for stored-product insect control. *Journal of Stored Products Research*, 44: 126-135.
- Sajadi, S. E., Emami, S. A. and Nemati, R. 2000.** Composition of the essential oil of *Salvia macrosiphon* Boiss. *Pharmaceutical Sciences*, (3):51-56.
- Shakarami, J., Kamali, K. and Moharramipour, S. 2005.** Fumigant toxicity and repellency effect of essential oil of *Salvia bruceata* on four species of warehouse pests. *Journal of Entomology Society of Iran*, 24(2): 35-50.
- Soderstrom, E. L., Brandl, D. G. and 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.
- Taghizadeh Saroukolai, A., Moharramipour, S. and Meshkatsadat, M. H. 2010.** Insecticidal properties of *Thymus persicus* essential oils against *Tribolium castaneum* and *Sitophilus oryzae*. *Journal Pest Science*, 83: 3-8.
- Tapandjou, L. A., Adler, C. Fontem, D. A., Bouda, H. and Reichmuth, C. 2005.** Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* and *Tribolium confusum*. *Journal of Stored Products Research*. 41(1): 91-102.
- van Someren Graver, J. E. 2004.** Guide to Fumigation under Gas-Proof Sheets. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome.

## Fumigant toxicity of essential oils extracted from three plant species against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae)

Y. Motamedi<sup>1</sup>, M. Fallahzadeh<sup>2\*</sup>, V. Roshan<sup>3</sup>

1- Graduated student, Department of Entomology, Jahrom branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran

2- Associate Professor, Department of Entomology, Jahrom branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran

3- Assistant Professor, Agricultural and Natural Resource Research Center of Fars, Shiraz, Iran

### Abstract

Over the past few decades, many investigations have been conducted on different plant products in order to obtain safer and more effective alternatives rather than chemical insecticides for controlling store-product insects. For this purpose, in search of alternatives agents for conventional pesticides, the fumigant activity of essential oils from *Mentha longifolia* L., *Tagetes minuta* L. and *Salvia macrosiphon* Boiss. were tested against adult insects of *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae) on laboratory condition. The experiment was conducted using a completely randomized design of factorial experiment with five concentrations and three replications at  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $60\pm 5\%$  R.H in darkness. The results showed that the percentage of mortality was increased with increase in concentration and exposure period. The highest fumigant toxicity was related to *M. longifolia* and the lowest toxicity was recorded for *S. macrosiphon* against insects. At the highest concentration of essential oils ( $25\mu\text{l/L}$  of air) by *M. longifolia*, *T. minuta* and *S. macrosiphon* the mortality were recorded as 80%, 73.3% and 66.6% after 12h and 96.6%, 86.6% and 73.3% after 24h against *S. oryzae*, respectively. The  $\text{LC}_{50}$  values were evaluated by *M. longifolia*, *T. minuta* and *S. macrosiphon* 8.166, 11.488 and 14.161  $\mu\text{l/L}$  of air after 12h and 5.898, 7.814 and 11.068  $\mu\text{l/L}$  of air after 24h for *S. oryzae*. According to the results, the essential oils of *M. longifolia*, *T. minuta* and *S. macrosiphon* are source of biologically active vapor that can be used in protection of stored grains against rice weevil.

**Key Words:** Fumigant toxicity, *Mentha longifolia*, *Tagetes minuta*, *Salvia macrosiphon*, *Sitophilus oryzae*

\* Corresponding author, E-mail:mfalahm@yahoo.com

Received: 3 oct. 2012 - Accepted: 20 feb 2013