

سمیت تنفسی چهار اسانس گیاهی روی حشرات کامل شپشه‌های آرد

سمانه محمودوند^{۱*}، جهانشیر شاکرمی^۲، رضا وفایی شوشتری^۳

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، حشره‌شناسی کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اراک

۲- استادیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد

۳- استادیار، گروه حشره‌شناسی دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اراک

چکیده

اثر سمیت چهار اسانس گیاهی پونه *Mentha longifolia*، آویشن *Thymus daenensis*، بومادران زرد *Achillea wilhelmsii* و درمنه *Artemisia haussknechtii* روی حشرات بالغ دو گونه شپشه آرد *Tribolium castaneum* (Herbst) و *T. confusum* (Du val) بررسی شد. اسانس‌ها با روش تقطیر با آب تهیه گردیدند. غلظت‌ها بر اساس آزمایشات اولیه برای هر اسانس تعیین شد. میزان مرگ و میر بعد از گذشت ۳، ۶، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت ثبت گردید. بر اساس نتایج حاصل از آزمایش در مورد همه اسانس‌ها با گذشت زمان و افزایش غلظت میزان مرگ و میر حشرات بالغ هر دو گونه آفت افزایش یافت. بین اسانس‌های مورد مطالعه از نظر تلفات ایجاد شده اختلاف معنی‌داری مشاهده شد، به طوری که مقدار LC_{50} محاسبه شده اسانس پونه پس از ۲۴ ساعت اسانس‌دهی برای *T. castaneum* و *T. confusum* به ترتیب ۱۱/۵۹ و ۱۰/۶۷، اسانس آویشن‌دنیایی ۸۹/۲۹ و ۹۲/۷۷، اسانس بومادران زرد ۵۵/۴۰ و ۹۸/۷۱ و درمنه ۶۰/۶۴ و ۶۲/۲۵ میکرولیتر بر لیتر هوا بود. کمترین مقدار LT_{50} محاسبه شده در این تحقیق روی هر دو گونه *T. castaneum* و *T. confusum* مربوط به اسانس درمنه بود که به ترتیب برابر با ۲۳/۱۰ و ۲۱/۱۰ ساعت محاسبه شد. نتایج نشان داد این اسانس‌های گیاهی می‌توانند به عنوان حشره‌کش‌های گیاهی کم‌خطر برای کنترل آفات انباری مورد استفاده قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: اسانس، سمیت تنفسی، پونه، شپشه آرد

*نویسنده رابط، پست الکترونیکی: s.mahmoodvand@yahoo.com

تاریخ دریافت مقاله (۹۱/۸/۲۹) - تاریخ پذیرش مقاله (۹۲/۸/۱)



مقدمه

آفات انباری از مشکلات مهم محصولات در انبارها از برداشت تا زمان مصرف می‌باشند (Dunkel & Sears, 1998) به طوری که خسارت این آفات روی محصولات انباری حدود ۱۰-۳۰ درصد می‌باشد (Ferry et al., 2004). دو گونه شیشه آرد *Tribolium castaneum* (Herbst) و *T. confusum* (Du val) (Coleoptera: Tenebrionidae) از آفات جدی محصولات انباری در سراسر جهان می‌باشند به طوری که سالانه خسارت زیادی به محصولات مختلفی مانند آرد، حبوبات و غیره وارد می‌نمایند (Trematerra et al., 2000). اگر چه ترجیح غذایی آن‌ها غلات و فرآورده‌های آن‌ها می‌باشد اما خسارت کمی و کیفی زیادی به محصولات انباری دیگر نیز وارد می‌کنند (Campbell & Runnion, 2003; Aitken, 1975).

این آفات توان تولید مثلی بالا داشته و حفاظت از محصولات ذخیره شده از آلودگی به آن‌ها ضروری می‌باشد (Shukla, 2010; Jember et al., 1995; Jovanovic et al., 2007). سال‌ها برای کنترل آفات محصولات انباری از سموم تدخینی مختلف استفاده می‌شد (Lee et al., 2004; Isman, 2006). استفاده بی‌رویه از مواد تدخینی مصنوعی مانند متیل برماید و فسفین خطرات زیادی برای محیط زیست و مصرف‌کنندگان داشته است و در مواردی گزارش‌هایی از مقاومت حشرات انباری در برابر این ترکیبات دیده می‌شود (White & Leesch, 1995; El-Kamali, 2009). تلاش‌های زیادی برای دسترسی به ترکیبات جایگزین متیل برماید صورت گرفته است (Ayvaz et al., 2008; Papachristos & Stamopoulos, 2002).

تحقیقات نشان می‌دهد که متابولیت‌های ثانویه گیاهان نقش مهمی در مقاومت گیاهان در برابر گیاه‌خواران دارند (Isman, 2000; Yaldirim et al., 2005; Kordali et al., 2006; Caglar et al., 2007) و بر این اساس در سال‌های اخیر تحقیقات زیادی روی اثرات حشره‌کشی و دورکنندگی اسانس‌های گیاهی صورت گرفته و بعضی از این ترکیبات به‌عنوان کاندیدای مناسبی برای مدیریت آفات به‌خصوص در انبارها معرفی گردیده‌اند (Isman, 2000; Pawar & Thaker, 2006; Abad et al., 2007). از میان خانواده‌های مهم دارای اسانس دو خانواده بزرگ نعناعیان Lamiaceae و کاسنی Asteraceae کاربرد بیشتری دارند (Enan, 2001). گزارشات زیادی وجود دارد که اسانس گونه‌های مختلف جنس *Mentha* دارای ترکیبات حشره‌کش هستند (Raja et al., 2001). تحقیقات نشان می‌دهد اسانس بومادران زرد، درمنه و آویشن به جهت وجود ترکیباتی مانند منتول، تیمول و کارواکرول دارای خاصیت حشره‌کشی هستند (Ahn et al., 1998). تحقیقات دیگر نشان می‌دهد که خاصیت حشره‌کشی گیاهان جنس درمنه بیشتر مربوط به ماده موثره ۱، ۸ سینپول و آلفا توجون است (Hold et al., 2000). ترکیبات این گیاهان برای انسان بی‌خطر بوده به طوری که در گذشته در بسیاری از کشورهای دنیا برای معالجه بیماری‌های انسانی کاربرد داشته‌اند (Moretti et al., 2002; Iscan et al., 2002; Teixeira, 2004). تحقیق درباره خواص بیولوژیکی اسانس‌های گیاهی می‌تواند به شناسایی حشره‌کش‌های زیستی جدید و سازگار با کشاورزی ارگانیک منجر شود (Isman, 2000; Regnault – Roger, 1997).

در این تحقیق سمیت تنفسی چهار اسانس گیاهی شامل *Achillea wilhelmisii*, *Thymus daenensis*, *Mentha longifolia* و *Artemisia haussknechtii* روی حشرات بالغ شیشه‌های *T. confusum* و *T. castaneum* مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

۱- جمع‌آوری گیاهان مورد مطالعه

در اواخر تیرماه سال ۱۳۸۹ گونه *Mentha longifolia* L. (Lamiaceae) پونه از جویبارهای شهرستان ویسیان واقع در ۳۰ کیلومتری شهرستان خرم‌آباد، اواسط اردیبهشت ماه سال ۱۳۹۰ گونه آویشن دناپی (*Thymus daenensis* L. (Lamiaceae) از ارتفاعات کوه گرین واقع در شهرستان الشتر، اوایل خرداد ماه سال ۱۳۹۰ گونه بومادران زرد *Achillea wilhelmisii* C.Koch از منطقه نوژیان واقع در ۲۰ کیلومتری جنوب شهرستان خرم‌آباد و در اوایل مهر ۱۳۸۹ گونه درمنه *Artemisia haussknechtii* Boiss از ۲۵ کیلومتری جنوب شهرستان خرم‌آباد واقع در استان لرستان در مرحله گلدهی جمع‌آوری شدند. گیاهان جمع‌آوری شده در سایه و تهویه مناسب خشک شدند. پس از خشک شدن، شاخه‌های چوبی با دست حذف و سایر قسمت‌ها تا زمان اسانس‌گیری در کیسه پلاستیکی در فریزر نگهداری شدند.

۲- پرورش حشرات

شیشه‌های آرد *T. castaneum* و *T. confusum* از آزمایشگاه حشره‌شناسی گروه گیاه‌پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان تهیه و در دمای 30 ± 2 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد و تاریکی روی آرد گندم مخلوط با مخمر آبجو به نسبت ۱۰ به ۱ پرورش داده شدند.

۳- تهیه اسانس

در هر نوبت اسانس‌گیری ۵۰ گرم پودر گیاهی همراه با ۶۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر با استفاده از دستگاه اسانس‌گیر شیشه‌ایی Cleavenger (ساخته شده در واحد شیشه‌گری سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران) در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس اسانس‌گیری شد. زمان اسانس‌گیری برای هر نمونه ۹۰ دقیقه بود. از هر صد گرم ماده خشک گیاه پونه، آویشن دناپی، بومادران زرد و درمنه به ترتیب ۲، ۱، ۱ و $1/5$ میلی‌لیتر اسانس پس از آبگیری به دست آمد. اسانس‌های جمع‌آوری شده با کمک سولفات سدیم (ساخت شرکت مرک آلمان) آبگیری شده و تا زمان استفاده در ظروف شیشه‌ای به حجم ۲ میلی‌لیتر با روپوش آلومینیومی در شرایط یخچال نگهداری شدند.

آزمایشات زیست‌سنجی

سمیت تنفسی اسانس

در این آزمایش به ظروف شیشه‌ای درب‌دار به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر تعداد ۱۰ عدد حشره بالغ (نر و ماده) ۱-۷ روزه *T. castaneum* و *T. confusum* اضافه شد. بر اساس آزمایشات اولیه، سمیت تنفسی اسانس‌های مورد مطالعه روی شیشه‌های آرد با هم اختلاف زیاد داشته لذا غلظت‌های به کار رفته برای هر اسانس متفاوت بود. این غلظت‌ها براساس آزمایشات اولیه تعیین شد. برای تعیین LC_{50} ابتدا دو غلظت بالا و پایین که به ترتیب حدود ۲۵ و ۷۵ درصد تلفات داشت تعیین شد و سه غلظت دیگر مابین این غلظت‌ها به صورت لگاریتمی انتخاب شدند. از هر اسانس گیاهی پنج غلظت برای آزمایشات زیست‌سنجی انتخاب شد. همه آزمایشات از اسانس خالص آبگیری شده استفاده شد و هیچ حلالی مورد استفاده قرار نگرفت. از اسانس پونه غلظت‌های ۷، ۸، ۹، ۱۰ و ۱۱ میکرولیتر برلیتر هوا، آویشن دناپی ۵۰، ۶۰، ۷۰، ۹۰ و ۱۰۰ میکرولیتر برلیتر هوا، بومادران زرد و درمنه ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰ و ۷۰ میکرولیتر برلیتر هوا روی یک قطعه کاغذ صافی به قطر یک سانتی‌متر ریخته و

برای پخش یکنواخت اسانس، کاغذ صافی داخل درپوش ظرف شیشه‌ای قرار داده شد و بلافاصله درب ظرف با درپوش مسدود شد. در ظروف شاهد هیچ ترکیبی اضافه نشد. پس از ۳، ۶، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت تعداد حشرات زنده و مرده شمارش و مرگ و میر مشاهده شده در تیمارها با توجه به تلفات شاهد اصلاح شد (Abbott, 1925). در این آزمایش حشراتی که قادر به حرکت دادن پا و شاخک خود نبودند مرده تلقی شدند. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در پنج تکرار انجام شد. ظروف در شرایط 20 ± 30 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی 5 ± 65 درصد و تاریکی نگهداری شدند. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS(9.1) تجزیه آماری شدند. میانگین‌ها در صورت معنی‌دار بودن با آزمون دانکن در سطح یک درصد مقایسه آماری شدند. قبل از تجزیه آماری داده‌های مربوط به درصد مرگ و میر با تبدیل شدن به $\text{Arcsin} \sqrt{x/100}$ نرمال شدند. مقادیر LC_{50} برای حشرات کامل در هر چهار اسانس گیاهی پس از ۲۴ ساعت اسانس‌دهی و مقادیر LT_{50} به همین صورت در پنج زمان مشخص در بالاترین غلظت با استفاده از نرم‌افزار SAS (9.1) و POLO-PC محاسبه شد.

نتایج

بر اساس نتایج در بین اسانس‌های مورد بررسی اسانس پونه سمیت تنفسی بالاتری را روی هر دو گونه حشره داشت. داده‌ها نشان می‌دهد که با افزایش غلظت درصد تلفات این اسانس روی هر دو گونه حشره افزایش یافت و در بالاترین غلظت (۱۱ میکرولیتر بر لیتر هوا) پس از ۷۲ ساعت باعث تلفات صد درصدی هر دو گونه حشره شد ($F=3.02; P<0.01$) (جدول ۱) ولی اسانس درمنه در غلظت ۷۰ میکرولیتر بر لیتر هوا باعث چنین تلفاتی روی این دو گونه شپشه گردید ($F=2.55; P<0.01$) (جدول ۲) و یا اسانس بومادران زرد در غلظت ۷۰ میکرولیتر بر لیتر هوا به ترتیب پس از ۷۲ ساعت باعث ۱۰۰ و ۸۰ درصد تلفات شپشه *T. castaneum* و *T. confusum* گردید ($F=46.27; P<0.01$) (جدول ۳). نتایج نشان داد که اسانس آویشن دناپی در غلظت ۱۰۰ میکرولیتر بر لیتر هوا پس از گذشت ۷۲ ساعت به ترتیب باعث ۸۲ و ۸۶ درصد تلفات *T. castaneum* و *T. confusum* گردید که اثر حشره‌کشی کمتری را نسبت به سایر اسانس‌های مورد مطالعه نشان می‌دهد ($F=7.27; P<0.01$) (جدول ۴). مقادیر LC_{50} محاسبه شده در سمیت تنفسی این اسانس‌ها نشان داد که مقدار LC_{50} اسانس گیاه پونه روی *T. castaneum* و *T. confusum* به ترتیب برابر با ۱۱/۵۹ و ۱۰/۶۷ میکرولیتر بر لیتر هوا بوده است در حالی که مقدار LC_{50} اسانس درمنه برای این دو آفت به ترتیب برابر با ۶۰/۶۴ و ۶۲/۲۵ و برای اسانس بومادران زرد به ترتیب برابر با ۵۵/۴۰ و ۹۸/۷۱ بوده است. بالاترین مقدار LC_{50} محاسبه شده در این تحقیق مربوط به اسانس آویشن بود که مقدار آن روی *T. castaneum* و *T. confusum* به ترتیب برابر با ۸۹/۲۹ و ۹۲/۷۷ میکرولیتر بر لیتر هوا بوده است (جدول ۵) و با در نظر گرفتن LC_{50} و حدود اطمینان بالا و پایین در سطح ۹۵ درصد مشاهده شد که LC_{50} پونه با میزان ۱۱/۵۹ و ۱۰/۶۷ میکرولیتر بر لیتر هوا با سایر اسانس‌ها برای شپشه *T. castaneum* و *T. confusum* اختلاف معنی‌داری دارد و با بررسی حدود اطمینان حاصل از LC_{50} حشرات کامل *T. castaneum* می‌توان نتیجه گرفت اسانس درمنه و آویشن دناپی با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند ولی اسانس بومادران زرد با دو اسانس درمنه و آویشن دناپی اختلاف معنی‌داری داشت. همچنین سه اسانس آویشن دناپی، بومادران زرد و درمنه برای *T. confusum* با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند بدین صورت که با در نظر گرفتن LC_{50} و حدود اطمینان ۹۵ درصد مشخص شد که این سه اسانس با هم هم‌پوشانی دارند.

نتایج نشان داد که در هر چهار اسانس مورد مطالعه از نظر تلفات ایجاد شده بین حشرات کامل *T. castaneum* و *T. confusum* اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول‌های ۱، ۲، ۳ و ۴).

داده‌ها نشان داد که در زمان‌های ۳ و ۶ ساعت اسانس‌دهی در همه غلظت‌های چهار اسانس مورد مطالعه روی هر دو گونه حشره تلفات ایجاد شده صفر بود و تلفات از ۲۴ ساعت اسانس‌دهی شروع و پس از ۷۲ ساعت به حداکثر میزان خود

رسید. در تمام اسانس‌های مورد مطالعه بین تلفات ایجاد شده برای هر غلظت در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت اختلاف معنی‌دار بود. مقدار LT_{50} محاسبه شده برای اسانس‌های مورد مطالعه نشان داد که کمترین مقدار LT_{50} برای هر دو گونه آفت مربوط به اسانس درمنه بوده است به طوری که مقدار آن برای *T. castaneum* و *T. confusum* به ترتیب برابر با ۲۳/۱۰ و ۲۶/۵۱ ساعت بوده است ولی مقدار LT_{50} اسانس پونه روی *T. castaneum* و *T. confusum* به ترتیب برابر با ۲۶/۹۳ و ۲۶/۵۱ ساعت و برای اسانس بومادران زرد به ترتیب برابر با ۲۵/۸۶ و ۳۶/۲۶ ساعت و برای اسانس آویشن به ترتیب برابر با ۳۰/۱۵ و ۲۷/۶۹ ساعت محاسبه گردید (جدول ۶).

جدول ۱- میانگین تلفات ایجاد شده اسانس پونه *Mentha longifolia* روی *T. castaneum* و *T. confusum*

در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف (ساعت)

Table 1- Percentage Mortality caused by *Mentha longifolia* essential oil on *T. castaneum* and *T. confusum* at different concentrations and times

		Means of mortality% \pm SE				
		Time(Hour)				
		3	6	24	48	72
Insect	(μ L/Lair) Con					
<i>T. castaneum</i>	7	0/00 \pm 0/00n	0/00 \pm 0/00n	24 \pm 2/45lm	34 \pm 2/45jkl	56 \pm 4/00efg
	8	0/00 \pm 0/00n	0/00 \pm 0/00n	24 \pm 2/45lm	40 \pm 3/16hijk	72 \pm 3/74bcd
	9	0/00 \pm 0/00n	0/00 \pm 0/00n	28 \pm 3/74jklm	40 \pm 7/07 hijk	86 \pm 5/10ab
	10	0/00 \pm 0/00n	0/00 \pm 0/00n	38 \pm 10/20hijkl	42 \pm 8/00ghij	86 \pm 6/00ab
	11	0/00 \pm 0/00n	0/00 \pm 0/00n	52 \pm 2.00Fgh	68 \pm 3/74cde	100 \pm 0/00a
<i>T. confusum</i>	7	0/00 \pm 0/00n	0/00 \pm 0/00n	18 \pm 4/90m	28 \pm 6/63jklm	42 \pm 5/83ghij
	8	0/00 \pm 0/00n	0/00 \pm 0/00n	26 \pm 2/45klm	36 \pm 5/10ijkl	62 \pm 3/74def
	9	0/00 \pm 0/00n	0/00 \pm 0/00n	32 \pm 5/83jklm	50 \pm 5/48fghi	82 \pm 2/00bc
	10	0/00 \pm 0/00n	0/00 \pm 0/00n	50 \pm 3/16fghi	64 \pm 4/00def	86 \pm 2/45ab
	11	0/00 \pm 0/00n	0/00 \pm 0/00n	50 \pm 4/47fghi	74 \pm 2/45bcd	100 \pm 0/00a

*حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری باهم ندارند

*Mean in the same column followed by the same letters are not significantly different as determined by the Duncan-test

جدول ۲- میانگین تلفات ایجاد شده اسانس درمنه *Artemisia haussknechtii* روی *T. confosum* و *T. castaneum*

در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف (ساعت)

Table 2- Percentage Mortality caused by *Artemisia haussknechtii* essential oil on *T. castaneum* and *T. confosum* at different concentrations and times

		Means of mortality% ± SE				
		Time(Hour)				
		3	6	24	48	72
Insect	Con (μL/Lair)					
<i>T. castaneum</i>	30	0/00 ± 0/001	0/00 ± 0/001	32 ± 3/74hijk	36 ± 5/10ghij	42 ± 8/00fghi
	40	0/00 ± 0/001	0/00 ± 0/001	32 ± 3/74hijk	38 ± 8/60ghij	52 ± 4/90defg
	50	0/00 ± 0/001	0/00 ± 0/001	32 ± 3/74hijk	50 ± 4/47efgh	70 ± 3/16bcd
	60	0/00 ± 0/001	0/00 ± 0/001	52 ± 13/19defg	80 ± 3/16bc	84 ± 4/00abc
	70	0/00 ± 0/001	0/00 ± 0/001	60 ± 5/48def	82 ± 6/63abc	100 ± 0/00a
<i>T. confosum</i>	30	0/00 ± 0/001	0/00 ± 0/001	16 ± 4/00kl	36 ± 4/00ghij	44 ± 5/10fghi
	40	0/00 ± 0/001	0/00 ± 0/001	22 ± 6/63jk	42 ± 5/83fghi	52 ± 3/74defg
	50	0/00 ± 0/001	0/00 ± 0/001	28 ± 3/74ijk	44 ± 5/10fghi	66 ± 2/45cde
	60	0/00 ± 0/001	0/00 ± 0/001	44 ± 10/77fghi	78 ± 6/63bc	84 ± 5/10abc
	70	0/00 ± 0/001	0/00 ± 0/001	66 ± 6/00cde	88 ± 5/83ab	100 ± 0/00a

حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری با هم ندارند

*Mean in the same column followed by the same letters are not significantly different as determined by the Duncan-test

جدول ۳- میانگین تلفات ایجاد شده اسانس بومادران زرد *Achillae wilhelmsii* روی *T. castaneum* و *T. confosum*

در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف (ساعت)

Table 3- Percentage Mortality caused by *Achillae wilhelmsii* essential oil on *T. castaneum* and *T. confosum* at different concentrations and times

		Means of mortality% ± SE				
		Time(Hour)				
		3	6	24	48	72
Insect	(μL/Lair) Con					
<i>T. castaneum</i>	30	0/00 ± 0/00k	0/00 ± 0/00k	24 ± 9/27ij	38 ± 9/27fghi	56 ± 6/00cdef
	40	0/00 ± 0/00k	0/00 ± 0/00k	38 ± 3/74fghi	50 ± 6/32defg	58 ± 3/74cde
	50	0/00 ± 0/00k	0/00 ± 0/00k	44 ± 8/72efg	66 ± 5/10bcd	78 ± 3/74ab
	60	0/00 ± 0/00k	0/00 ± 0/00k	54 ± 8/12cdef	66 ± 8/72bcd	86 ± 2/45a
	70	0/00 ± 0/00k	0/00 ± 0/00k	60 ± 5/48cdefg	68 ± 5/83bc	100 ± 4/04a
<i>T. confosum</i>	30	0/00 ± 0/00k	0/00 ± 0/00k	18 ± 3/74jk	32 ± 3/74ghij	48 ± 2/00fg
	40	0/00 ± 0/00k	0/00 ± 0/00k	20 ± 4/47j	38 ± 4/90fghi	50 ± 3/16cdefg
	50	0/00 ± 0/00k	0/00 ± 0/00k	26 ± 2/45hij	46 ± 4/00efg	66 ± 2/45bcd
	60	0/00 ± 0/00k	0/00 ± 0/00k	32 ± 5/83ghij	48 ± 3/74defg	68 ± 5/83bc
	70	0/00 ± 0/00k	0/00 ± 0/00k	42 ± 3/74efgh	54 ± 5/10cdef	80 ± 6/32ab

*حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری با هم ندارند

*Mean in the same column followed by the same letters are not significantly different as determined by the Duncan-test

جدول ۴- میانگین تلفات ایجاد شده اسانس آویشن دنایی *Thymus danensis* روی *T. castaneum* و *T. confosum* در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف (ساعت)

Table 4- Percentage Mortality caused by *Thymus danensis* essential oil on *T. castaneum* and *T. confosum* at different concentrations and times

		Means of mortality% ± SE				
		Time(Hour)				
		3	6	24	48	72
Insect	(μL/Lair) Con					
<i>T. castaneum</i>	50	0/00 ± 0/00j	0/00 ± 0/00j	30 ± 0/00hi	36 ± 2/45ghi	44 ± 4/00fgh
	60	0/00 ± 0/00j	0/00 ± 0/00j	36 ± 5/10ghi	42 ± 3/74fgh	56 ± 2/45cdef
	70	0/00 ± 0/00j	0/00 ± 0/00j	42 ± 3/74fgh	52 ± 3/74fgh	64 ± 4/00cde
	90	0/00 ± 0/00j	0/00 ± 0/00j	50 ± 7/07efg	68 ± 5/83abcde	72 ± 4/90abc
	100	0/00 ± 0/00j	0/00 ± 0/00j	54 ± 4/00cdefg	68 ± 7/35abcde	82 ± 3/74ab
<i>T. confosum</i>	50	0/00 ± 0/00j	0/00 ± 0/00j	18 ± 3/74ij	30 ± 5/48hi	38 ± 6/63fgh
	60	0/00 ± 0/00j	0/00 ± 0/00j	26 ± 6/78hi	38 ± 6/63fgh	42 ± 4/90fgh
	70	0/00 ± 0/00j	0/00 ± 0/00j	26 ± 5/10hi	40 ± 10/00fgh	54 ± 8/72cdefg
	90	0/00 ± 0/00j	0/00 ± 0/00j	50 ± 7/07efg	66 ± 5/10bcde	72 ± 7/35abc
	100	0/00 ± 0/00j	0/00 ± 0/00j	56 ± 6/00cdef	70 ± 8/94abcd	86 ± 2/45a

*حروف مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری با هم ندارند

*Mean in the same column followed by the same letters are not significantly different as determined by the Duncan-test

جدول ۵- مقادیر LC₅₀ محاسبه شده اسانس گیاهان پونه، آویشن دنایی، بومادران زرد و درمنه روی دو گونه شپشه آرد

پس از ۲۴ ساعت اسانس دهی

Table 5- Estimated LC₅₀ of essential oils from *Mentha longifolia*, *Thymus danensis*, *Achillae wilhelmsii* and *Artemisia haussknechtii* on *Tribolium castaneum* and *T. confosum* after 24h

Essential oil	Insect	N	X ² (df=3)	Slope±SE	LC ₅₀ (μL/L)	95% Confidence limit	
						Lower	Upper
<i>M. longifolia</i>	<i>T. castaneum</i>	250	2/12	3/89 ± 1/21	11/59	10/23	17/73
	<i>T. confosum</i>	250	1/05	5/07 ± 1/23	10/67	9/80	12/80
<i>T. daenensi</i>	<i>T. castaneum</i>	250	0/01	2/06 ± 0/73	89/29	74/73	159/14
	<i>T. confosum</i>	250	1/30	3/66 ± 0/77	92/77	82/79	114/28
<i>A. wilhelmsii</i>	<i>T. castaneum</i>	250	0/16	2/55 ± 0/63	55/40	47/97	69/52
	<i>T. confosum</i>	250	0/78	1/95 ± 0/67	98/71	71/73	440/73
<i>A. haussknechtii</i>	<i>T. castaneum</i>	250	2/40	2/62 ± 0/64	60/64	52/46	79/92
	<i>T. confosum</i>	250	4/06	3/74 ± 0/69	62/25	55/79	74/19

جدول ۶- مقادیر LT_{50} محاسبه شده اسانس گیاهان پونه، آویشن دناپی، بومادران زرد و درمنه روی دو گونه شپشه آردTable 6- Estimated LT_{50} of essential oils from *Mentha longifolia*, *Thymus danensis*, *Achillea wilhelmsii* and *Artemisia haussknechtii* on *Tribolium castaneum* and *T.confusum*

Essential oil	Insect	N	X^2 (df=3)	Slope±SE	LT_{50} (Hour)	95% Confidence limit	
						Lower	Upper
<i>M. longifolia</i>	<i>T. castaneum</i>	250	12/02	3/65± 0/97	26/93	4/56	46/13
	<i>T. confusum</i>	250	7/65	3/92± 0/85	26/51	11/38	38/59
<i>T. daenensi</i>	<i>T. castaneum</i>	250	7/48	2/60± 0/49	30/15	15/62	50/94
	<i>T. confusum</i>	250	6/11	2/86± 0/34	27/69	22/88	32/80
<i>A. wilhelmsi</i>	<i>T. castaneum</i>	250	9/99	3/11± 0/68	25/86	9/87	43/49
	<i>T. confusum</i>	250	5/24	2/68± 0/36	36/26	30/17	43/41
<i>A. haussknechtii</i>	<i>T. castaneum</i>	250	6/07	3/98± 0/52	23/10	19/05	26/85
	<i>T. confusum</i>	250	4/41	4/20± 0/55	21/10	17/31	24/58

بحث

براساس نتایج با افزایش غلظت اسانس، میزان مرگ و میر حشرات بالغ هر دو گونه شپشه آرد افزایش یافت و این موضوع یعنی اثر غلظت اسانس را محققین زیادی گزارش نموده‌اند (Bachrouch Lee et al., 2001; Tripathi et al., 2000). در تحقیق شاکرمی و همکاران حساسیت گونه *T. castaneum* در برابر اسانس *A. aucheri* کمتر از اسانس *A. haussknechtii* مورد بررسی در تحقیق حاضر می‌باشد. به طوری که LC_{50} اسانس *A. aucheri* روی این آفت برابر ۱۲۲/۱ میکرولیتر بر لیتر هوا محاسبه شده (Shakarami et al., 2004) ولی در این تحقیق LC_{50} اسانس *A. haussknechtii* روی این حشره برابر ۶۰/۶۴ میکرولیتر بر لیتر هوا می‌باشد. بر اساس گزارشات عمده‌ترین مواد موثره اسانس *A. aucheri* وربنون و کامفور (Sefidkon et al., 2002) و اسانس *A. haussknechtii* کامفور و ۱،۸ سینیول می‌باشد (Jalili Heravi, 2007). محققان زیادی بیشترین خاصیت حشره‌کشی اسانس جنس درمنه را مربوط به ترکیب ۱،۸ سینیول می‌دانند (Batish et al., 2008). به نظر می‌رسد که سمیت بیشتر گونه *A. haussknechtii* در این تحقیق مربوط به این ترکیب باشد. در تحقیق دیگری اسانس *Achillea wilhelmsii* بعد از گذشت ۴۸ ساعت از زمان اسانس‌دهی در غلظت یک میکرولیتر بر لیتر هوا برای حشرات کامل ماده *T. confusum* ۸۰ درصد تلفات داشته (Calmasur et al., 2005) که در مقایسه با تحقیق حاضر در غلظت ۷۰ میکرولیتر بر لیتر هوا چنین تلفاتی برای این حشره ثبت شد. این تفاوت می‌تواند به علت اختلاف در ماده موثره گیاه باشد به طوری که گزارشاتی وجود دارد که ماده موثره یک گونه گیاهی در شرایط جغرافیایی مختلف از نظر کمی و کیفی تغییر می‌کند (Ngamo et al., 2007).

براساس مطالعات اکرمی میزان LC_{50} اسانس *Thymus kotschyanus* روی *T. castaneum* برابر ۵۷۳/۹۴ میکرولیتر بر لیتر هوا بوده است که نسبت به اسانس گونه *T. daenensis* مورد بررسی در تحقیق حاضر سمیت تنفسی کمتری روی این گونه آفت داشته است همچنین این محقق مقدار LC_{50} اسانس *M. longifolia* را روی *T. castaneum* به میزان ۰/۵۶ میکرولیتر بر لیتر هوا گزارش نموده است (Akrami, 2008) که با توجه به مقادیر به دست آمده در این تحقیق سمیت اسانس مورد مطالعه توسط محقق ذکر شده بیشتر از اسانس همین گونه در تحقیق حاضر می‌باشد. همچنین طی گزارشاتی میزان LC_{50} اسانس *Thymus persicus* روی شپشه آرد ۲۳۴/۳۲ میکرولیتر بر لیتر هوا بوده است (Taghizadeh, 2007) که نشان‌دهنده سمیت کمتر اسانس فوق نسبت به اسانس گونه *T. daenensis* ($LC_{50} = 89.29 \mu\text{L/L}$) در این تحقیق بوده است این اختلاف می‌تواند

به علت بیشتر بودن تیمول در آویشن دناپی نسبت به گونه‌های دیگر جنس آویشن (Sajjadi & Khatamsaz, 2003) باشد که توسط محققین مختلفی به‌عنوان یک ترکیب موثر حشره‌کش ذکر شده است (Rattan, 2010). طی تحقیقی میزان LC_{50} اسانس گیاه *Artemisia sieberi* روی حشرات بالغ *T. castaneum* به‌میزان ۱۷/۷۶ میکرولیتر بر لیتر هوا بوده است (Negahban et al., 2006) که نسبت به اسانس *A. haussknechtii* مورد بررسی در این تحقیق سمیت بالاتری روی این آفت داشته است که به نظر می‌رسد به علت اختلاف در درصد ترکیب حشره‌کش ۱،۸ سینئول باشد (Sefidkon et al., 2002). طی گزارشاتی اسانس گیاهی از تیره نعناعیان با کد ZP51 در غلظت ۵۰ میکرولیتر بر لیتر پس از گذشت سه روز باعث صددرصد مرگ و میر *T. castaneum* شد (Shaaya et al., 1997) ولی اسانس گیاه *M. longifolia* از همین تیره گیاهی برای این آفت در غلظت ۱۱ میکرولیتر بر لیتر هوا پس از گذشت سه روز چنین تلفاتی را داشته است که علت آن اختلاف در ترکیبات موثره این گیاهان می‌باشد (Chaubey, 2008).

داده‌ها نشان داد که زمان اسانس‌دهی عامل مهمی در تلفات این دو گونه حشره می‌باشد به‌طوری که هر چهار اسانس گیاهی در ۳ و ۶ ساعت اسانس‌دهی در تمام غلظت‌های مورد استفاده تلفاتی نداشته‌اند و این موضوع بر اساس مطالعات مروج و همکاران (2009) که تلفات *T. castaneum* در اثر اسانس *Bunium persicam* و *Elletaria cardamomum* مورد بررسی پس از ۲۴ ساعت از زمان اسانس‌دهی شروع شد (Moravej et al., 2009) مطابقت دارد. همچنین محققین دیگری نیز زمان اسانس‌دهی را عامل مهمی در تلفات حشرات بیان نموده‌اند و افزایش زمان اسانس‌دهی تا سه روز در گزارشات این محققین دیده می‌شود (Tripathi et al., 2000 ; Shaaya et al., 1997). در تحقیقی میزان LT_{50} محاسبه شده اسانس *Eucalyptus camaldulensis* و *Callistemon viminalis* روی *T. confusum* برابر ۱۳/۳۹ و ۱۰/۷۲ ساعت می‌باشد (Hamze vi et al., 2011) ولی پایین‌ترین میزان LT_{50} محاسبه شده در این تحقیق برای اسانس درمنه روی *T. confusum* برابر ۲۱/۱۰ ساعت می‌باشد که علت آن اختلاف در غلظت و سن حشرات مورد مطالعه می‌باشد. نتایج این پژوهش نشان می‌دهد که از بین چهار اسانس گیاهی مورد مطالعه روی دو گونه شپشه آرد اسانس پونه برای هر دو گونه سمیت تنفسی بالایی داشته و با توجه به کم‌خطر بودن ترکیبات اسانس این گونه گیاهی برای انسان و محیط زیست می‌تواند در برنامه‌های مدیریت کنترل آفات انباری مورد استفاده قرار گیرد.

Reference

- Abad, M. J., Ansuategui, M. and Bermejo, P. 2007. Active antifungal substances from natural sources, ARKIVOC 2007 (vii), 116-145.
- Ahn, Y. J. 1998. Insecticidal and acaricidal activity of carvacrol and b-thujaplicine derived from *Thojupsis dolabrata* var. *hondai* sawdust. *Journal of Chemical Ecology*, 81-90.
- Aitken, A. D. 1975. *Insect Travelers, I: Coleoptera*, Technical Bulletin 31 HM SO, London, UK. 232 pp.
- Akrami, H. 2008. Insecticidal effects of essential oil *Thymus kotschyanus* and *Mentha longifolia* on some stored product insects. M.Sc. thesis. Islamic Azad University Sciences and Researches. Tehran, 102pp.
- Ayvaz, A. Albagrak, S. and Karaborklu, S. 2008. Gamma radiation sensitivity of the eggs, larvae and pupa of Indian meal moth *plodia interpunctela* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). *Pest Management Science*, 64: 505-512.
- Bachrouch O., Jemaa J. M. B., Chaieb, I., Talou, T. and Marzouk, B. 2010. Insecticidal Activity of *Pistacia lentiscus* Essential oil on *Tribolium castaneum* as Alternative to Chemical Control in Storage. *Tunisia Journal of Plant Protection*, 5: 63-70.

- Batish, D. R., Singh, H. P., Kohli, R. K. and Kaur, S. 2008.** Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*, 256: 2166-2174.
- Caglar, O., Calmasur, O., Aslant, I. and Kaya, O. 2007.** Insecticidal effect of essential oil of *Origanum acutidens* against several stored product pests. *Presenting. Enviroment Bulletin*, 16: 1395-1400.
- Calmasur, O., Kordali, S., Kaya, O. and Aslan, I. 2005.** Toxicity of essential oil vapours obtained from *Achillea spp.* to *Sitophilus granarium* (L.) and *Tribolium confusum* (Jacquelin du val). *Journal of Plant Diseases and Protection*, 113: 37-41
- Campbell, J. F. and Runnion, C. 2003.** Patch exploitation by female red flour beetles, *Tribolium castaneum*. *Journal of Insect Science*, 3: 1-8.
- Chaubey, M. K. 2008.** Fumigant toxicity of essential oils from some common spices against pulse beetles, *Collosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Oleo Science*, 57: 171-179.
- Dunkel, F. V. and Sears, L. J. 1998.** Fumigant properties of physical preparations from *Artemisia tridentate* for stored grain Insect. *Journal of Stored products Research*, 34: 307-321.
- El-Kamali, H. H. 2009.** Effect of certain medicinal plants extracts against storage pest, *Tribolium castaneum* Herbst. *European Journal Sustain Agriculture*, 3: 139-142.
- Enan, E. 2001.** Insecticidal activity of essential oil: Octapaminergic sites of action. *Comparative Biochemistry and Phisiology, Part C*. 130: 325-337.
- Ferry, N., Edwards, M. G. Gatehouse, J. A. and Gatehouse, A. M. R. 2004.** Plant- insect interaction: molecular approaches to insect resistance. pp: 155-161. In: Sasaki, T. and Christou, P. (eds.), *Biotechnology*.
- Hold, K. M., Sirisoma, N. S., Ikeda, T., Narahashi, T. and Casida, J. E. 2000.** Thujone (the active component of absinthe): Aminobutyric acid type A receptor modulation and metabolic detoxification. *Proceedings of the National Academy of Science, U.S.A.* 97: 3826--3831.
- Iscan, G. Kirimer, N. Kurkcuoglu, M. Baser, K. H. C. and Demirci. F. 2002.** Antimicrobial screening of *Mentha piperita* essential oils. *Journal Agriculture Food Chemistery*, 50: 3943-6.
- 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.
- Jalili Heravi, M. and Sereshti, H. 2007.** Determination of essential oil components of *Artemisia haussknechtii* Boiss. Using simultaneous hydrodistillation –static headspace liquid phase microextraction-gas chromatography mass spectrometer. *Journal of chromatography*, 1160: 81-89.
- Jember, B., Obeng-Ofori, D., Hassanali, A. and Nyamasyo, G. N. N. 1995.** Product derived from the leaves of *Ocimum kilimandscharium* (Labiatae) as post harvest grain products against the infestation of three major stored product insect pests. *Bulletin Entomology Research*, 85: 361-367.
- Jovanovic, Z., Kostic, M. and Popovic, Z. 2007.** Grain- protective properties of herbal extract against the bean weevil *Acanthoscelides obtectus* Say. *Industrial Crops Production*, 26: 100-104.
- Kordali, S., Aslan, I., Calmasur, O. and Cakir, A. 2006.** Toxicity of essential oils isolated from three *Artemisia* species and some of their major components to granary weevil, *Sitophilus granaries* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Industrial Crops Production*, 23: 162-170.
- Lee, S., Lee, B., Choi, W., Park, B., Kim, J. and Campbell, B. 2001.** Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean species and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L). *Pest Management Science*, 57: 548-553.
- Moravej, GH. H., Of-Shahraki, Z., Azizi-arani, M. and Yaghmai, F. 2009.** Toxicity fumigant essential oil *Bunium persicam* Boiss and *Elletaria cardamomum* Maton. (Zingiberacea) on *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Plant Protection*, 23: 96-105.
- Moretti, M. D., Sanna-Passio, Demontis, S. and Bazzoni, E. 2002.** Essential oil formulations useful as a new tool for inssect pest control. *Am Assasian Pharmacology Sciences*, 3: 1-4.
- Negahban, M., Moharrampour, S. and Sefidkon, F. 2006.** Insecticidal activity and chemical composition of *Artemisia sieberi* Besser oil from Karaj, Iran. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 9: 61-66.

- Ngamo, L. S. T., Goudoum, A., Ngassoum, M. B., Mapongmetsemlognay, G., Malaise, F. and Hance, T. 2007.** Chronic toxicity of essential oils of three local aromatic plants towards *Sitophilus zeamais* Motsch. Journal Agricultural Research, 2: 164-167.
- Papachristos, D. P. and Stamopoulos, D. C. 2002.** Toxicity of vapours of three oils to immature of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). Journal Stored Product Research, 38: 365-373.
- Pawar, V. C. and Thaker, V. S. 2006.** In vitro efficacy of 75 essential oils against *Aspergillus nigrus*. Mycoses, 49: 316-323.
- Raja, N., Albert, S., Ignacimuthu, S. and Dorn, S. 2001.** Effect of plant volatile oils in protecting stored cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walpers against *Callosobrachus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) infestation. Journal of Stored Products Research, 37: 127-132.
- Rattan, R. S. 2010.** Mechanism of action insecticidal secondary metabolites of plant origin. Crop protection, 29: 913-920.
- Regnault-Roger, C. 1997.** The potential of botanical essential oils for insect pest control. Integrated Pests Management Reviews, 2: 25-34.
- Sajjadi, S. E. and Khatamsaz, M. 2003.** Composition of the essential oil of *Thymus daenensis* Celak. Subsp. *lancifolius* (Celak) Jalas. Journal Essential oil Research, 15: 34-35.
- Sefidkon, F., Jalili, A. and Mirhaji, T. 2002.** Essential oil composition of three *Artemisia spp.* Journal Flavour and fragrance from Iran, 17: 150-152.
- Shaaya, E., Kostjukovsky, M., Elberg, J. and Sukprakarn, C. 1997.** Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored- product Insect. Journal of Stored Products Research, 33: 7-15.
- Shakarami, J., Kmali, K., Moharamipour, S. and Meshkah al-Sadat, M. H. 2004.** Toxicity fumigant and repellency essential oil *Artemisia aucheri* Boiss on four species stored-product pests. Journal of Pests and Plant Pathologies, 71: 61-75.
- Shukla, G. S., Upadhyay, V. B., Mathur, R. and Prasad, S. G. 2010.** Economic Zoology, Biostatistics and Animal Behavior. Rustogi Publication, India, pp: 97.
- Taghizadeh, A. 2007.** Insecticidal effects of essential oil *Thymus persicus* and *Prangos aculis* on four species stored-product beetles. M.Sc. Thesis. College of Agriculture. Tarbiat Modarres University, Tehran, 117pp.
- Teixeira da Silva, J. A., 2004.** Minig the essential oils of the Anthemideae. African Journal of Biotechnology, 3: 706-720.
- Trematerra, P., Sciaretta, A. and Tamasi, E. 2000.** Behavioural responses of *Oryzaephilus surinamensis*, *Tribolium castaneum* and *Tribolium confusum* to naturally and artificially damaged durum wheat kernels. Entomology Explore Applied, 94: 195-200.
- Tripathi, A. K., Prajapati, V., Aggarwal, K. K., Khanuja, S. P. S. and Kumar, S., 2000.** Repellency and toxicity of oil from *Artemisia annua* to certain stored-product beetles. Journal of Economic Entomology, 93: 43-47.
- White, N. D. G. and Leesch, J. G. 1995.** Chemical Control: Intergrated Pest Management of Insects in Stored Products. Marcel Dekker, Ine., New York, ISBN: 908504135X.

Fumigation toxicity of four plant essential oils on adults of *Tribolium castaneum* (Herbst) and *T. confosum* (Du val)

S. Mahmoodvand^{1*}, J. Shakarami², R. Vafaei-Shoushtari³

1- Graduated student, Department of Entomology, College of Agriculture, Islamic Azad University, Arak Branch, Arak, Iran

2- Assistant Professor, Department of Plant Protection, Agricultural faculty, Lorestan University, Khorramabad, Iran

3- Assistant Professor, Entomology Department, Agricultural faculty, Islamic Azad university, Arak Branch, Arak, Iran

Abstract

The effects of four plant essential oils of *Mentha longifolia*, *Thymus deanensis*, *Achillea wilhelmsii* and *Artemisia haussknechtii* were investigated on adult stage of *Tribolium castaneum* and *T. confosum*. The essential oils were prepared using water distillation method. Essential oils were used in five concentrations and five replications. The concentration selected based on primary experiment for each essential oil. Mortality rate of insects were recorded after 3, 6, 24, 48 and 72 hours. Results showed that the longer exposure of insect to essential oil and the higher concentration of essential oil, increased mortality of the two beetle species in all treatments. There was significant difference among mortality effect of the essential oils. The LC₅₀ value of *M.longifolia* after 24 hours for *T. castaneum* and *T. confosum* were 11.59 and 10.67 $\mu\text{l/l}_{\text{air}}$ respectively, while the values of LC₅₀ were 89.21 and 99.79 for *T. daenensis*, 55.40 and 98.71 for *A. wilhelmsii* and 60.64 and 62.25 $\mu\text{l/l}_{\text{air}}$ for *A. haussknechtii*, respectively. The least LT₅₀ recorded was in *A. haussknechtii* essential oil with 23.10 and 21.10 hours against *T. castaneum* and *T. confosum*, respectively. Results showed that these essential oils can be as safe botanical pesticides for control of storage pests.

Key words: Fumigation toxicity, the flour beetles, Essential oil, *Mentha longifolia*

*Corresponding Author, E-mail: s.mahmoodvand@yahoo.com

Received: 19 Nov. 2012 – Accepted: 23 Oct. 2013

