

## Efficacy of Eucalyptus essential oils fumigant control against *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera: Pyralidae) under various space occupation conditions

Shima Arian Nezhad<sup>1\*</sup>, Isa Jabaleh<sup>2</sup>

1. M. Sc. Student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Institute of Higher Education Jihad Daneshgahi Khorasan Razavi, Kashmar, Iran  
2. Ph.D. Student, Bu-Ali Sina University Hamedan and Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Institute of Higher Education Jihad Daneshgahi Khorasan Razavi, Kashmar, Iran  
(Received: Jan. 22, 2016 - Accepted: Aug. 20, 2017)

## تأثیر اسانس‌های اکالیپتوس و درمنه بر شب‌پره خرنوب در شرایط آزمایشگاهی

شیمای آراین‌نژاد<sup>۱\*</sup>، عیسی جبله<sup>۲</sup>

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد حشره‌شناسی کشاورزی موسسه آموزش عالی جهاد دانشگاهی کاشمر، کاشمر، ایران  
۲. دانشجوی دکتری دانشگاه بو علی همدان و گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، موسسه آموزش عالی جهاد دانشگاهی کاشمر، کاشمر، ایران  
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۲ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۶/۵/۲۹)

### Abstract

The carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* is one of the main pests that attack storing crops. This polyphagous species attacks several other stored host crops such as pomegranate, almond and pistachio. In this study, the fumigant efficacy of *Eucalyptus globulus* and *Artemisia cina* essential oils is tested on the Carob Moth *E. ceratoniae*. After collecting infested pomegranate and rearing insects in laboratory conditions of  $27 \pm 2\text{ C}^\circ$ , 16:8 (L:D) and  $60 \pm 5\%$  relative humidity, the efficacy of oils was evaluated on the insects. Results show that the toxicity of essential oils on the eggs (LC<sub>50</sub>, LT<sub>50</sub> values) was not significantly different. The fumigant toxicity of *E. globulus* (LC<sub>50</sub> = 5.92 μl/l air) was greater than *A. cina* (LC<sub>50</sub> = 12.95 μl/l air). And lethal time values (LT<sub>50</sub>) were (10.47 h) and (60.27 h), respectively. According to this study it is possible to propose essential oil as alternative pesticides in pest controlling programs

**Keywords:** *A. cina* Essential Oil, Carob Moth, *E. globulus* Essential Oil, Larvicide, Ovicidal.

### چکیده

شب‌پره خرنوب *Ectomyelois ceratoniae* یکی از آفات مهم محصولات انباری می‌باشد. این حشره آفتی پلی‌فاژ بوده که بر روی محصولات متعددی مانند انار، بادام و پسته خسارت وارد می‌کند. در این تحقیق، اثر سمیت اسانس‌های درمنه و اکالیپتوس بر روی شب‌پره خرنوب بررسی شد. پس از جمع‌آوری انارهای آلوده و پرورش حشرات، اثر اسانس‌ها را روی این آفت در شرایط آزمایشگاهی، دمای  $27 \pm 2$  درجه سلسیوس، رطوبت نسبی  $60 \pm 5$  درصد و رژیم روشنایی/تاریکی ۱۶ و ۸ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان می‌دهد که مقادیر LC<sub>50</sub> و LT<sub>50</sub> برای تخم‌کشی اسانس‌های درمنه و اکالیپتوس دارای اختلاف معنی‌دار نبود. سمیت تنفسی اسانس اکالیپتوس با LC<sub>50</sub> (۵/۹۲ میکرولیتر بر لیتر هوا) نسبت به اسانس درمنه با LC<sub>50</sub> (۱۲/۹۵ میکرولیتر بر لیتر هوا) روی لارو بیشتر بود و زمان کشنده (LT<sub>50</sub>) برای این دو اسانس به ترتیب ۱۰/۴۷ و ۶۰/۲۷ ساعت بود. با توجه به نتایج این تحقیق، می‌توان این اسانس‌ها را به عنوان جایگزین سموم در برنامه کنترل این آفت برای بررسی‌های بیشتر پیشنهاد کرد.

**واژه‌های کلیدی:** اسانس اکالیپتوس، اسانس درمنه، تخم‌کشی، شب‌پره خرنوب، لاروکشی.

## مقدمه

شب‌پره خرنوب (*Ectomyelois ceratoniae* (Lep: Pyralidae) (Zeller, 1979) یکی آفت مهم اقتصادی و پلی‌فاژ در مرحله باغی و انباری می‌باشد. حشره‌کش‌های گیاهی از جمله اسانس‌ها جانشین مناسبی برای آفت‌کش‌های شیمیایی می‌باشند که حشرات به آنها مقاوم شده‌اند. اسانس‌ها دارای طیف اثر وسیع بوده و علیه آفات مختلفی به کار می‌روند (Isman, 2000). یکی از منابع بالقوه برای تولید آفت‌کش‌های جدید، ترکیبات تولیدشده به وسیله گیاهان می‌باشند. اسانس‌های گیاهان معمولاً در طبیعت زودتر تجزیه می‌شوند، بنابراین برای انسان و سایر پستانداران سمیت کمتر و اثرهای مخرب کمتری در محیط زیست بر جای می‌گذارند (Isman, 2000; Isman, 2006; Park et al., 2003). استفاده از اسانس اکالیپتوس *Eucalyptus camaldulensis* و *E. rudis* علیه حشرات کامل شب‌پره خرنوب را Haouel et al. (2010) بررسی کردند. استفاده از ترکیبات گیاهی به‌عنوان یک ترکیب تدخینی علیه شب‌پره‌های خانواده Pyralidae در بسیاری مقالات به صورت عصاره، اسانس یا ترکیبات اسانس مورد بررسی قرار گرفته است. بنابراین در پژوهش حاضر اثر سمیت اسانس اکالیپتوس *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae) و درمنه *Artemisia cina* (Asterales) که جزء گیاهانی است که به راحتی قابل دسترس می‌باشند، روی مرحله تخم و لارو شب‌پره خرنوب در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

### جمع‌آوری گیاه و استخراج اسانس

در فصل گلدهی قسمت‌های هوایی (برگ‌ها و ساقه‌ها) گیاه درمنه و اکالیپتوس از محوطه مؤسسه آموزش عالی جهاد دانشگاهی کاشمر جمع‌آوری گردید. ۲۰۰ گرم از هر نمونه گیاهی در نیم لیتر آب داخل بالون دستگاه

کلونجر ریخته شد و بعد از سه ساعت به کمک تقطیر آبی اسانس استخراج و در ظرف‌های تیره، که اطراف آن به وسیله فویل پوشیده، داخل یخچال در دمای ۴ درجه سلسیوس تا زمان انجام آزمایش نگهداری شد (Sahhaf & Moharramipoor, 2007).

### پرورش حشرات

شب‌پره خرنوب بر روی جیره مصنوعی (۳۰۰ گرم سبوس گندم، ۹ گرم مخمر، ۸۰ گرم شکر، ۱ گرم اکسی‌تتراسایکلین، ۱۳۰ میلی‌لیتر گلیسرین، ۱۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر) (بر اساس تحقیقات Mediouni et al., 2010; Haouel et al., 2007; & Dhouibi, 2007; Mediouni et al., 2013) در ظروف پلاستیکی با ابعاد (۱۸ × ۲۵ × ۱۳ سانتی‌متر) در شرایط نوری (L: D ۱۶:۸)، دمای (۲۸±۱ °C) و رطوبت نسبی (۶۵±۵٪) در انکوباتور پرورش داده شد (Mediouni et al., 2013).

### آزمایشات زیست‌سنجی

ارزیابی سمیت بر روی دو مرحله تخم و لاروهای ۲۱ روزه شب‌پره خرنوب صورت گرفت. برای مرحله تخم از هر اسانس چهار غلظت (۱۷/۴، ۳۴/۶۷، ۶۹/۳۴، ۶۸/۱۳۸ میکرولیتر بر لیتر هوا) و شاهد در چهار تکرار در هر تکرار ده عدد تخم هم سن و مرحله لاروی نیز از هر اسانس چهار غلظت (۱۷/۴، ۳۴/۸، ۶۹/۶، ۱۰۴/۳ میکرولیتر بر لیتر هوا) و شاهد در چهار تکرار و در هر تکرار ده عدد لارو مورد بررسی قرار گرفت. اسانس‌ها را با استفاده از سمپلر برداشته و روی کاغذ صافی دایره شکل با قطر دو سانتی‌متر چسبیده به درب ظروف (برای مرحله تخم با حجم ۵۷/۶۹ سانتی‌متر مکعب و برای مرحله لاروی به حجم ۱۱۵ سانتی‌متر مکعب) ریخته و همزمان تمام درب‌های ظروف بسته شد. به منظور جلوگیری از خروج اسانس درب ظروف توسط پارافیلیم بسته شد (Mediouni et al., 2013).

شده از تأثیر اسانس اکالیپتوس برای کشتن نیمی از جمعیت تخم نسبت به اسانس درمنه (مقدار  $LT_{50}$ )، حدود ۱/۶ برابر کمتر است و اسانس اکالیپتوس در زمان کمتری برای تخم سمیت ایجاد می‌کند (جدول ۲). خطوط دوز- پاسخ اسانس‌های درمنه و اکالیپتوس از لحاظ  $LC_{50}$  و هم‌پوشانی اختلاف معنی‌دار نداشته و اسانس درمنه دارای کیفیت بالاتری نسبت به اسانس اکالیپتوس می‌باشد (نمودار ۱).

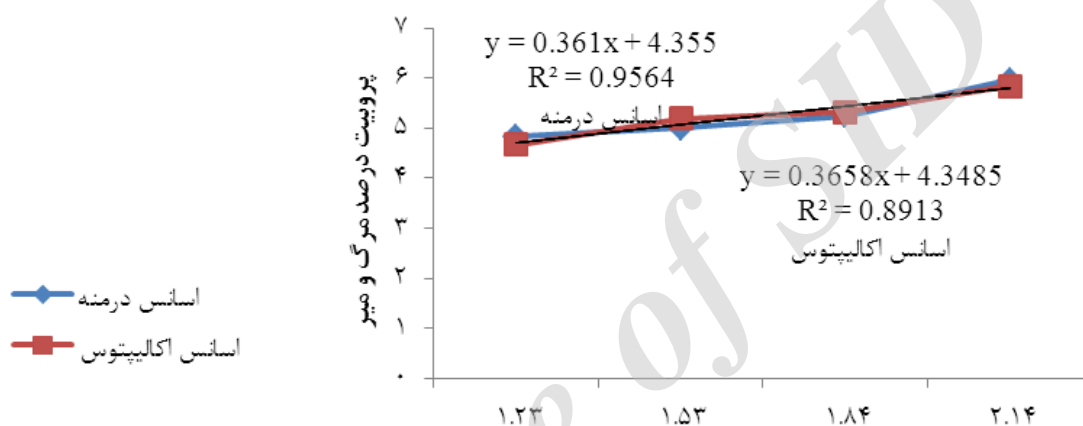
### تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزارهای Excel (2010) و Polo-Pc (2002) انجام شد.

### نتایج

#### سمیت اسانس‌ها روی تخم

با توجه به نتایج، جدول ۱، میزان  $LC_{50}$  هر دو اسانس با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند. زمان سپری



لگاریتم غلظت (میکرولیتر بر لیتر هوا)

نمودار ۱. نمودار خط رگرسیون غلظت و پروبیت مرگ و میر تخم شب‌پره خرنوب

جدول ۱. برآورد غلظت کشنده ۵۰ درصد، محدوده اطمینان ۹۵ درصد و پارامترهای خطوط دوز- پاسخ تخم شب‌پره خرنوب به اسانس‌های اکالیپتوس و درمنه در روز دهم

اسانس	تعداد تخم مورد آزمون	$X^2$ (df) <sup>a</sup>	Slope $\pm$ SE <sup>b</sup>	$LC_{50}(CL\%95)^c$ $\mu\text{l/l air}$	سمیت نسبی <sup>d</sup>
درمنه	۲۰۰	۱/۱۹(۲)	۱/۲۰۷ $\pm$ ۰/۴۲	۳۲/۶۸ (۱۷/۴-۵۰/۵)	۰/۵۶ (۰/۲۴-۱/۰۵)
اکالیپتوس	۲۰۰	۰/۸۳ (۲)	۱/۵۶ $\pm$ ۰/۴۷	۵۷/۹۲ (۳۵/۷-۹۵/۶)	

a: کای اسکوار (درجه آزادی) مقدار  $\chi^2$  در سطح ۵٪ از مقدار  $\chi^2$  جدول کمتر است، b: شیب  $\pm$ خطای استاندارد، c: غلظت کشنده ۵۰ درصد و حدود اطمینان ۹۵ درصد آن به میکرولیتر بر لیتر هوا، d: سمیت نسبی (Relative Potency) مقدار  $LC_{50}$  درمنه تقسیم بر  $LC_{50}$  اکالیپتوس و محدوده اطمینان ۹۵٪.

جدول ۲. مقادیر  $LT_{50}$  محاسبه شده برای سمیت تنفسی اسانس اکالیپتوس و درمنه روی عدم تفریح تخم شب‌پره خرنوب در غلظت ۱۷/۳۳ میکرولیتر بر لیتر هوا از روز یک تا دهم

اسانس	تعداد لارو مورد آزمون	$X^2$ (df) <sup>a</sup>	Slope $\pm$ SE <sup>b</sup>	$LT_{50}(CL\%95)^c$ h	سمیت نسبی <sup>d</sup>
درمنه	۱۸۰	۲/۵۲ (۸)	۱/۱۸ $\pm$ ۰/۱۸	۱۲/۹۵ (۹/۰۵-۲۰/۸۳)	۱/۶(۱/۰۹-۲/۵۷)
اکالیپتوس	۱۸۰	۳/۱۳ (۸)	۰/۹۸ $\pm$ ۰/۱۶	۷/۸(۵/۹۲-۱۱/۲۸)	

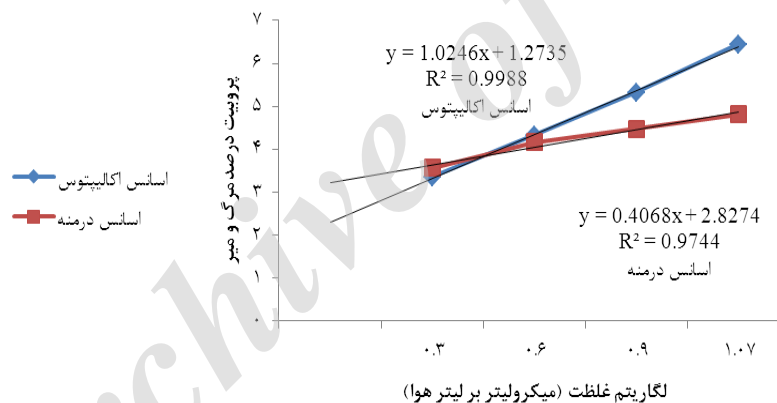
a: کای اسکوار (درجه آزادی) مقدار  $\chi^2$  در سطح ۵٪ از مقدار  $\chi^2$  جدول کمتر است، b: شیب  $\pm$ خطای استاندارد، c: زمان کشنده ۵۰ درصد و حدود اطمینان ۹۵ درصد آن به ساعت، d: سمیت نسبی (Relative Potency) مقدار  $LT_{50}$  درمنه تقسیم بر  $LT_{50}$  اکالیپتوس و محدوده اطمینان ۹۵٪.

به اسانس درمنه سمی‌تر است و به مقدار ۵/۷۶ برابر زودتر از اسانس درمنه اثر می‌کند. با توجه به مقادیر  $LT_{50}$  محاسبه شده در جدول ۴ برای هر دو اسانس می‌توان گفت که با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند. به بیان دیگر زمان سپری شده از تأثیر اسانس اکالیپتوس برای کشتن نیمی از جمعیت لارو نسبت به اسانس درمنه حدود ۵/۷۵ برابر کمتر بود. تلفات لاروها روند افزایشی یکنواختی داشته است، با افزایش غلظت اسانس و مدت زمان قرار گرفتن لاروها در معرض اسانس، درصد مرگ‌ومیر نیز افزایش یافت، خطوط موازی و یکی نیستند و این وضعیت می‌تواند بدین معنا باشد که دو اسانس به کار رفته علیه لارو شب‌پره خرنوب به لحاظ کیفی و کمی با هم متفاوت هستند (نمودار ۴).

میزان  $LC_{50}$  به منظور عدم تفریح تخم شب‌پره خرنوب برای اسانس درمنه و اکالیپتوس به ترتیب ۳۲/۶۸ و ۷۵/۹۲ میکرولیتر بر لیتر هوا و مقدار  $LT_{50}$  محاسبه شده برای بررسی دوام اسانس درمنه و اکالیپتوس روی تخم شب‌پره خرنوب در اسانس درمنه و اکالیپتوس به ترتیب، ۱۲/۹۵ و ۷/۸ ساعت به‌دست آمد.

### سمیت اسانس‌ها روی لارو

نتایج به‌دست آمده با توجه به جدول ۳ نشان داد که اثر هر دو اسانس روی لارو با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند. اثر لاروکشی اسانس اکالیپتوس به مراتب بیشتر از اسانس درمنه است، اسانس اکالیپتوس به مقدار ۰/۴۵ برابر برای لارو شب‌پره خرنوب نسبت



نمودار ۲. خط رگرسیون غلظت و پروبیت مرگ و میر لارو شب‌پره خرنوب

**جدول ۳.** مقادیر  $LC_{50}$  محاسبه شده و محدوده اطمینان ۹۵ درصد و پارامترهای خطوط دوز- پاسخ لارو شب‌پره خرنوب به اسانس‌های اکالیپتوس و درمنه

اسانس	تعداد لارو مورد آزمون	$X^2$ (df) <sup>a</sup>	Slope $\pm$ SE <sup>b</sup>	$LC_{50}$ (CL% 95) <sup>c</sup> $\mu$ l/l air	سمیت نسبی <sup>d</sup>
اکالیپتوس	۲۰۰	۱/۸۴ (۲)	۳/۸۱ $\pm$ ۰/۴	۵/۹۲ (۴/۵۷-۷/۷۱)	۰/۴۵ (۰/۲۷-۰/۶۹)
درمنه	۲۰۰	۰/۵۹ (۲)	۱/۲۲ $\pm$ ۰/۶۹	۱۲/۹۵ (۹/۲۹-۱۹/۷۳)	

a: کای اسکوار (درجه آزادی) مقدار  $\chi^2$  در سطح ۵٪ از مقدار  $\chi^2$  جدول کمتر است، b: شیب  $\pm$  خطای استاندارد، c: غلظت کشنده ۵۰ درصد و حدود اطمینان ۹۵ درصد آن به میکرولیتر بر لیتر هوا، d: سمیت نسبی (Relative Potency) مقدار  $LC_{50}$  اکالیپتوس تقسیم بر  $LC_{50}$  درمنه و محدوده اطمینان ۹۵٪.

**جدول ۴.** مقادیر  $LT_{50}$  محاسبه شده برای سمیت تنفسی مرگ و میر لارو شب‌پره خرنوب با غلظت ۱۰۴/۳ میکرولیتر بر لیتر هوا تا زمان ۷۲ ساعت بعد از تیمار با اسانس اکالیپتوس و درمنه

اسانس	تعداد حشره مورد آزمون	$X^2$ (df) <sup>a</sup>	Slope $\pm$ SE <sup>b</sup>	$LT_{50}$ (CL% 95) <sup>c</sup> h	سمیت نسبی <sup>d</sup>
اکالیپتوس	۱۴۴۰	۶۲/۸۱ (۴)	۳/۰۱۲ $\pm$ ۰/۳۰	۱۰/۴۷ (۴/۰۵-۲۱/۶۶)	۵/۷۶ (۲/۱۵-NC)
درمنه	۱۴۴۰	۰/۴۶ (۴)	۱/۲۷ $\pm$ ۰/۲۳	۶۰/۲۸ (۲۹/۶۸-۲۰۹/۶۴)	

a: کای اسکوار (درجه آزادی) مقدار  $\chi^2$  در سطح ۵٪ از مقدار  $\chi^2$  جدول کمتر است، b: شیب  $\pm$  خطای استاندارد، c: زمان کشنده ۵۰ درصد و حدود اطمینان ۹۵ درصد آن به ساعت، d:  $LT_{50}$  اکالیپتوس تقسیم بر  $LT_{50}$  درمنه، (NC): برآورد نشد.

اکالیپتوس *E. globulus*  $LC_{50} = 5/92$  میکرولیتر بر لیتر هوا و  $LT_{50} = 10/47$  ساعت و مقادیر به‌دست آمده  $LC_{50}$  و  $LT_{50}$  برای لارو کشی اسانس درمنه *A. cina*  $LC_{50} = 12/95$  میکرولیتر بر لیتر هوا و  $LT_{50} = 60/28$  ساعت به‌دست آمد که  $LC_{50}$  این دو اسانس نسبت به گونه‌های گیاهی به‌کار برده شده در تحقیق Mediouni *et al.* (2013) روی لارو کم‌تر بود، این تحقیق نشان داد که اسانس‌های گیاهان مورد آزمایش دارای سمیت قابل توجهی روی تخم و لارو شب‌پره خرنوب می‌باشند، بنابراین با توجه به نتایج این تحقیق می‌توان بررسی‌های بیشتری روی ترکیبات این دو گونه گیاه برای کنترل این آفت در باغات و انبار انجام گیرد.

## REFERENCES

- Haouel, S.; Mediouni-Ben Jemâa, J.; Khouja, M.L.; (2010). Post-harvest control of the date moth *Ectomyelois ceratoniae* using eucalyptus essential oil fumigation Tunisian Journal of Plant Protection; 5: 201-212.
- 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.
- Mediouni Ben Jemâa, J.; Dhoubi, M. H.; (2007). Mass-rearing and field performance of irradiated carob moth *Ectomyelois ceratoniae* in Tunisia. In: Vreysen, M.J.B., Robinson, A. S., Hendrichs, J. (Eds.), *Area Wide Control of Insect Pests (From Research to Field Application)* Springer, Netherland, pp. 265-273.
- Mediouni Ben Jemâa, J.; Soumaya Haouel, A.; Mohamed Larbi Khouja.; (2013). Efficacy of Eucalyptus essential oils fumigant control against *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera: Pyralidae) under various space occupation conditions, *Journal of Stored Products Research*; 53(2013): 67-71.
- Park, C.; Kim, S.; Ahn, Y. J.; (2003). Insecticidal activity of asarones identified in *Acorus gramineus* rhizome against three coleopteran stored-product insects. *Stored Products Research*; 39: 332-342.
- Sahhaf, B. Z.; Moharramipoor, S.; (2007). A comparative study of the effect of essential oi of two plants *Carum copticum* C. B. Clarke and *Vitex pseudo-negundo* (Hauskn.) Hand.-Mzt. on inhibition of egg laying of four-point beetroot (*Callosobruchus maculatus*) in laboratory conditions. *Journal of Research in Iranian Medicinal and Aromatic Plants*; 23(4): 523-531.

## بحث و نتیجه‌گیری

Mediouni *et al.* (2013) که سمیت تنفسی اسانس‌های *Eucalyptus camaldulensis* و *Eucalyptus leucoxylo* را روی حشرات کامل و لارو سن آخر شب‌پره خرنوب *E. ceratoniae* بررسی کردند، در همه موارد اسانس *E. camaldulensis* مؤثرتر از اسانس *E. leucoxylo* بود. میزان  $LC_{50}$  محاسبه‌شده در تحقیق Mediouni *et al.* (2013) برای لاروهای شب‌پره خرنوب در اسانس *E. camaldulensis* و *E. leucoxylo*  $34/08$  و  $37/26$  میکرولیتر بر لیتر هوا بود. مقادیر به‌دست آمده  $LC_{50}$  و  $LT_{50}$  در این بررسی برای لارو کشی اسانس