

## بررسی اثرات زیرکشندگی اسانس گیاهان دارویی رازیانه، کلپوره و مرزه روی برخی از ویژگی‌های زیستی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات *Callosobruchus maculatus* F.

آرزو حیدرزاده<sup>۱\*</sup>، غلامحسین مروج<sup>۲</sup>، سعید هاتفی<sup>۲</sup>، سعیده سرراز<sup>۳</sup>

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد حشره‌شناسی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

۲- به‌ترتیب استادیار و مربی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

۳- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

### چکیده

طی چند دهه اخیر تحقیقات وسیعی روی ترکیبات گیاهی متعدد به‌منظور دستیابی به جایگزین‌های بی‌خطر یا کم‌خطر و موثرتر از حشره‌کش‌های شیمیایی برای کنترل آفات انباری صورت پذیرفته است. در این تحقیق اثر اسانس سه گیاه دارویی رازیانه *Foeniculum vulgare* Miller، کلپوره *Teucrium polium* Boiss. و مرزه *Satureja hortensis* L. روی برخی فعالیت‌های رفتاری و تولیدمثلی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات، در شرایط دمای  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  و رطوبت نسبی  $5 \pm 60$  درصد، در تاریکی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تاثیر دورکنندگی اسانس‌ها نشان داد که در هر سه اسانس با افزایش غلظت، اثر دورکنندگی آن‌ها روی حشرات کامل نر و ماده افزایش می‌یابد. میانگین درصد دورکنندگی در بالاترین غلظت (۲۳/۰۸ میکرولیتر بر لیتر هوا) از اسانس‌های رازیانه، کلپوره و مرزه روی حشرات نر به‌ترتیب معادل ۶۶/۸۲، ۸۴/۹۳ و ۹۵/۹۲ درصد و روی حشرات ماده به‌ترتیب معادل ۵۹/۲۸، ۷۶/۰۶ و ۸۸/۸ درصد بود. حشرات نر در مقایسه با حشرات ماده حساسیت بیشتری نسبت به خاصیت دورکنندگی اسانس‌ها نشان دادند. اسانس‌های مرزه و رازیانه به ترتیب بیشترین و کمترین دورکنندگی را روی حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات نشان دادند. نتایج تاثیر اسانس‌ها روی فعالیت تولیدمثلی نشان داد که میزان تخم‌ریزی و ظهور حشرات کامل نسل F<sub>1</sub> سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات با افزایش غلظت اسانس‌ها، کاهش یافت. در بالاترین غلظت مورد آزمایش (۴۵/۴۵ میکرولیتر بر لیتر هوا)، در اثر اسانس‌های رازیانه، کلپوره و مرزه میزان بازدارندگی تخم‌ریزی به‌ترتیب ۷۰/۸۹، ۶۳/۶۹ و ۵۶/۸۵ درصد و میزان بازدارندگی ظهور حشرات کامل نسل F<sub>1</sub> به ترتیب ۷۶/۱۶، ۶۸/۸۷ و ۵۵/۶۳ درصد به‌دست آمد. میزان بازدارندگی تخم‌ریزی و بازدارندگی ظهور حشرات کامل نسل F<sub>1</sub> در اثر اسانس رازیانه به طور معنی‌داری بیشتر از اسانس‌های کلپوره و مرزه بود. کاهش شدید تخم‌ریزی و ظهور حشرات کامل در نمونه‌های تیمار شده با اسانس‌ها نشان‌دهنده تاثیر بالای اسانس‌ها به‌ویژه اسانس رازیانه روی مرگ و میر جنین می‌باشد.

\*نویسنده رابط، پست الکترونیکی: arezoo.heydarzade@hotmail.com

تاریخ دریافت مقاله (۹۰/۹/۶) - تاریخ پذیرش مقاله (۹۱/۷/۲۲)

واژه‌های کلیدی: اسانس‌های گیاهی، بازدارندگی تخم‌ریزی، بازدارندگی ظهور حشرات کامل، دورکنندگی، سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات

## مقدمه

از جمله مشکلات امروزی بشر، تهیه غذای کافی برای جمعیت در حال افزایش است. حبوبات با دارا بودن متوسط ۳۰-۲۰٪ پروتئین غنی‌ترین و ارزان‌ترین منبع پروتئین گیاهی محسوب می‌شوند. این فرآورده‌ها در تمام کشورهای استوایی و نیمه استوایی به‌عنوان یک ماده غذایی بعد از غلات بیشترین سطح زیرکشت را دارا هستند (Singh & Pandey, 2001). سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات *Callosobruchus maculatus* F. یکی از آفات مهم انباری است که به حبوبات آسیب رسانده و موجب کاهش کمی و کیفی، بازاری‌پسندی و قدرت جوانه‌زنی محصول می‌گردد (Boateng & Kusi, 2008). در هندوستان خسارت سالانه وارده توسط این آفت به انبارهای لوبیا چشم بلبلی در حدود ۳۲-۶۴٪ ارزیابی شده است (Chaubey, 2008). به‌منظور حفاظت حبوبات انبار شده از آلودگی به سوسک چهار نقطه‌ای، از حشره‌کش‌های مختلف مصنوعی و به‌ویژه تدخین‌شونده استفاده می‌شود. کاربرد بی‌رویه و مداوم این آفت‌کش‌ها سبب به‌وجود آمدن مشکلات جدی نظیر بروز مقاومت در آفات، اثرات سوء زیست محیطی، و به‌جا ماندن بقایای سمی در محصولات غذایی شده است (Rahman & Talukder, 2006; Mahfuz & Khalequzzaman, 2007). لذا جهت کاهش این مخاطرات نیاز به کاربرد برخی جایگزین‌ها برای آفت‌کش‌های شیمیایی احساس می‌شود. گیاهان معطر و اسانس‌های مشتق شده از آن‌ها از دوران باستان به‌عنوان عوامل ضد باکتریایی، حشره‌کش و دورکننده حشرات یا محافظت‌کننده محصولات انباری مورد استفاده قرار می‌گرفتند، برای مثال می‌توان به کاربرد سنتی گیاه علف لیمو *Cymbopogon* spp. در مناطق جنگلی بولیویان آمازون برای دورکردن پشه‌ها اشاره کرد (Bakkali et al., 2008; Nerio et al., 2010). طی چند سال اخیر تحقیقات علمی گسترده‌ای در مورد تاثیرات بیولوژیک اسانس‌های گیاهی و اجزاء آن‌ها علیه آفات و کاربرد آن‌ها به‌عنوان حشره‌کش‌های گیاهی صورت گرفته است. برخی از اسانس‌ها نه تنها در غلظت بالا موجب مرگ و میر حشرات آفت می‌شوند بلکه حتی در غلظت‌های پایین مانع از تخم‌ریزی حشرات شده و یا برای آفات انباری اثر دورکنندگی قابل توجهی دارند (Akrami et al., 2011; Moravvej et al., 2011). به‌نظر می‌رسد که اسانس‌های گیاهی در آینده نزدیک به‌دلیل داشتن صفات اکولوژیکی-سم شناسی مطلوبی نظیر مکانیسم عمل پیچیده که مانع از بروز مقاومت در حشرات می‌شود، عملکرد اختصاصی روی حشرات، تجزیه سریع در طبیعت، قدرت تبخیر بالا، نداشتن بقایای سمی، نداشتن اثر سوء روی قدرت جوانه‌زنی بذور و کیفیت غذا و محصولات کشاورزی، اثرات مخرب زیست محیطی کمتر و سمیت کمتر برای انسان‌ها و سایر پستانداران می‌توانند به‌عنوان جایگزین و یا مکمل حشره‌کش‌های شیمیایی جهت حفاظت محصولات کشاورزی و انباری از جمله حبوبات و غلات به‌کار روند (Lee et al., 2001; Viglianco et al., 2008). گیاهان خانواده چتریان و نعناعیان از جمله گیاهان اسانس‌داری هستند که خواص حشره‌کشی آن‌ها مورد تحقیق قرار گرفته است (Kim et al., 2010; Chaubey, 2008; Ilboudo et al., 2003). با توجه به این که اثرات حشره‌کشی اسانس‌های رازیانه، کلپوره و مرزه روی برخی آفات انباری از جمله سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات گزارش شده است (Heydarzade et al., 2010; Heydarzade et al., 2012)، در تحقیق حاضر اثرات زیر کشندگی اسانس گیاهان مذکور علیه حشرات کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

### تهیه اسانس

در اواخر فصل تابستان ۱۳۸۷ اندام‌های هوایی گیاه مرزه (*Satureja hortensis* L. (Lamiaceae)) از مزرعه نمونه دانشگاه فردوسی مشهد جمع‌آوری شد و در محل تاریک و خشک به مدت یک هفته قرار گرفت تا خشک شود. اندام‌های هوایی دیگر گیاهان موجود در این مطالعه شامل بذر رازیانه (*Foeniculum vulgare* Miller (Apiaceae)) گل و جوانه کلپوره (*Teucrium polium* Boiss. (Lamiaceae)) به صورت آماده و خشک شده از بازار محلی مشهد خریداری شد. تایید نام علمی مرزه توسط پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد و تایید اسامی علمی و خلوص سایر گیاهان در تحقیق حاضر با ارسال نمونه‌های خریداری شده به بخش گیاهان دارویی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی انجام گرفت. جهت تهیه اسانس، اندام‌های هوایی ذکر شده به شکل پودر درآمدند. در هر نوبت، ۵۰ گرم پودر گیاهی همراه با ۶۵۰ میلی لیتر آب مقطر با استفاده از دستگاه اسانس گیر شیشه‌ای مدل کلونجر (ساخت مجارستان) به مدت ۴ ساعت اسانس‌گیری شد. اسانس‌های جمع‌آوری شده با استفاده از سولفات سدیم (بدون آب) آبگیری و تا زمان استفاده در ظروف شیشه‌ای تیره به حجم ۲۰ میلی لیتر در دمای ۴°C نگهداری شد.

### پرورش حشرات

کلنی اولیه سوسک چهار نقطه‌ای حیوانات از آزمایشگاه حشره‌شناسی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه گردید. به منظور تکثیر حشرات تعداد ۵۰ حشره نر و ماده روی ۱۰۰ گرم لوبیا چشم بلبلی منتقل شدند. پس از یک روز حشرات کامل از ظروف پرورش حذف گردید و بذور لوبیا حاوی تخم تا زمان خروج حشرات کامل نسل جدید در دستگاه انکوباتور در شرایط دمای ۲۸±۲°C و رطوبت نسبی ۶۵±۵ درصد و در تاریکی نگهداری شدند. برای انجام آزمایش‌های زیست‌سنجی از حشرات کامل یک روزه استفاده شد.

### روش بررسی اثر دورکنندگی اسانس‌ها

بررسی اثر دورکنندگی اسانس‌ها بر اساس روش فیلدز و همکاران با اندکی تغییرات صورت گرفت (Fields *et al.*, 2001). در دو طرف یک ظرف پلاستیکی استوانه‌ای شکل درپوش‌دار به حجم ۱۳۰ میلی‌لیتر سوراخی تعبیه شد و هر سوراخ به کمک یک لوله پلاستیکی به قطر ۱ و طول ۳ سانتی‌متر به یک ظرف پلاستیکی با همان ابعاد متصل گردید. با اقتباس از مطالعات سمیت تنفسی اسانس‌ها روی این حشره (Heydarzade *et al.*, 2012)، پس از انجام چند سری آزمایشات مقدماتی، غلظت‌های مناسب جهت این آزمایش تعیین گردید. به کمک میکروپیپت مقادیر ۱، ۱/۵، ۲ و ۳ میکرولیتر (معادل ۷/۶۹، ۱۱/۵۴، ۱۵/۳۸، ۲۳/۰۸ میکرولیتر بر لیتر هوا) از هر اسانس در یک میلی‌لیتر استون حل گردید و روی ۲۰ دانه لوبیا چشم بلبلی درون پتری دیش ریخته شد و پس از مخلوط کردن کامل دانه‌ها با اسانس‌ها ۱۰ دقیقه صبر شد تا استون بخار شود. در شاهد دانه‌ها فقط با یک میلی‌لیتر استون مخلوط گردید. دانه‌های تیمار و شاهد به دو ظرف جانبی منتقل گردید. تعداد ۵۰ حشره کامل (۲۵ حشره نر و ۲۵ حشره ماده) یک روزه که به مدت بیست و چهار ساعت گرسنه نگهداری شده بودند، در ظرف میانی رها شدند. پس از ۲۴ ساعت تعداد حشرات در هر یک از ظروف جانبی (شاهد و تیمار) شمارش گردید. درصد دورکنندگی طبق فرمول (۱) که در آن  $N_t$  و  $N_c$  به ترتیب تعداد حشرات در ظرف شاهد و ظرف کنترل می‌باشد، محاسبه شد (Boateng & Kusi, 2008). این آزمایش بر پایه طرح کاملاً تصادفی و در ۴

تکرار در شرایط دمایی  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  و رطوبت نسبی  $60 \pm 5$  درصد انجام گرفت. تجزیه واریانس با استفاده از نرم‌افزار SPSS V.16 روی داده‌های مربوط به درصد دورکنندگی صورت پذیرفت.

$$\%PR = \left( \frac{NC - Nt}{Nc + Nt} \right) \times 100 \quad \text{معادله (۱)}$$

### روش بررسی اثر اسانس‌ها روی بازدارندگی تخم‌ریزی و بازدارندگی از ظهور حشرات کامل نسل $F_1$

این آزمایش بر اساس روش راجاپاکس و ون امدن (۱۹۹۷) و لیل و عبدالرحمن (۱۹۹۹) انجام شد (Rajapakse & Van Emden, 1997; Lale & Abdulrahman, 1999). با اقتباس از مطالعات سمیت تنفسی اسانس‌ها روی این حشره (Heydarzade *et al.*, 2012)، پس از انجام چند سری آزمایشات مقدماتی، غلظت‌های مناسب جهت این آزمایش تعیین گردید. به کمک میکروپیپت مقادیر ۱، ۳، ۴ و ۵ میکرولیتر از هر اسانس (به ترتیب معادل ۹/۰۹، ۲۷/۲۷، ۳۶/۳۶، ۴۵/۴۵ میکرولیتر بر لیتر هوا) در یک میلی‌لیتر استون حل شد و با ۵ گرم لوبیا چشم بلبلی مخلوط شد. در شاهد بذور لوبیا فقط با یک میلی‌لیتر استون مخلوط گردید. بذور به‌خوبی بهم زده شد تا اسانس در سطح آن‌ها پخش شود. پس از ۱۰ دقیقه که استون تبخیر شد، بذور به درون ظروف درپوش‌دار ۱۱۰ میلی‌لیتری منتقل شدند. با کمک قلم موی نرم سه جفت حشره کامل نر و ماده یک روزه سوسک چهار نقطه‌ای حیوانات به هر ظرف منتقل گردید. پس از ۵ روز تعداد تخم‌های گذاشته شده روی بذور با استفاده از استریومیکروسکوپ شمارش شد. تعداد تخم به ازای هر حشره ماده اولیه محاسبه و ثبت گردید. درصد بازدارندگی از تخم‌ریزی طبق فرمول (۲) که در آن  $NE_t$  و  $NE_c$  به ترتیب تعداد کل تخم‌های گذاشته شده در تیمار و شاهد می‌باشد، محاسبه شد (Rajapakse & Van Emden, 1997). بذور تا زمان خروج حشرات کامل نسل بعد نگهداری شدند. تعداد حشرات خارج شده از بذور به‌طور روزانه شمارش گردید. درصد کاهش ظهور نتاج نسل اول با استفاده از فرمول (۳) که در آن  $Tn$  و  $Cn$  به ترتیب تعداد حشرات کامل ظاهر شده در شاهد و تیمار می‌باشد، محاسبه شد (Tapondjou *et al.*, 2005). این آزمایش بر پایه طرح کاملاً تصادفی در ۵ تکرار در شرایط دمایی  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  و رطوبت نسبی  $60 \pm 5$  درصد انجام گرفت. در مورد هر اسانس، جهت مقایسه اثرات غلظت بر بازدارندگی تخم‌ریزی و کاهش ظهور نتاج نسل  $F_1$  از تجزیه واریانس یک طرفه استفاده شد. همچنین در هر غلظت، جهت مقایسه اثر سه اسانس تجزیه واریانس یک طرفه روی داده‌های بازدارندگی تخم‌ریزی و کاهش نتاج نسل  $F_1$  صورت گرفت. در صورت معنی‌دار بودن تجزیه واریانس مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵٪ انجام شد. به‌منظور بررسی میزان همبستگی بین غلظت اسانس و درصد بازدارندگی از تخم‌ریزی یا درصد کاهش ظهور نتاج نسل  $F_1$ ، تجزیه رگرسیون بین متغیرهای مذکور به عمل آمد.

$$\%OD = \left( 1 - \frac{NE_t}{NE_c} \right) \times 100 \quad \text{معادله (۲)}$$

$$\%Inhibition\ rate = \left( \frac{Cn - Tn}{Cn} \right) \times 100 \quad \text{معادله (۳)}$$

## نتایج

### نتایج اثرات دورکنندگی اسانس‌های رازیانه، کلپوره و مرزه

نتایج تجزیه واریانس روی درصد دورکنندگی اسانس‌ها نشان داد که درصد دورکنندگی در غلظت‌های مختلف از هر یک از اسانس‌های مورد مطالعه روی هر یک از حشرات کامل جنس نر یا ماده با همدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند

( $F_{(23,95)}=266.07, P<0.001$ ). در هر سه اسانس با افزایش غلظت اسانس، درصد دورکنندگی آن‌ها روی حشرات کامل افزایش یافت و بیشترین درصد دورکنندگی در بالاترین غلظت اسانس‌ها مشاهده شد. در تمامی غلظت‌های مورد بررسی، اسانس مرزه تأثیر دورکنندگی بیشتری در مقایسه با اسانس‌های رازیانه و کلپوره روی حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حیویات داشت. بیشترین درصد دورکنندگی (۹۵/۹۲٪) در بالاترین غلظت (۲۳/۰۸ میکرولیتر بر لیتر هوا) از اسانس مرزه روی حشرات کامل نر و کمترین درصد دورکنندگی (۱۲/۱۹٪) در پایین‌ترین غلظت از اسانس رازیانه (۷/۶۹ میکرولیتر بر لیتر هوا) روی حشرات کامل ماده مشاهده شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده، در کلیه غلظت‌های مورد بررسی حشرات کامل جنس نر در مقایسه با ماده حساسیت بیشتری نسبت به خاصیت دورکنندگی اسانس‌ها داشتند (جدول ۱). نتایج تجزیه رگرسیون خطی نشان داد که بین درصد دورکنندگی و غلظت اسانس رابطه خطی مثبت و معنی‌دار وجود داشت (جدول ۲).

جدول ۱- میانگین درصد دورکنندگی (±خطای معیار) سه اسانس گیاهی علیه حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حیویات

(n=4) *C. maculatus*

Table 1- Mean (±SE) percent repellency of three essential oils against *Callosobruchus maculatus* adults (n=4)

Essential oil	Sex	Concentration ( $\mu$ L.L-1)			
		7.69	11.54	15.28	23.08
<i>F. vulgare</i>	Male	18.58±0.84b	30.32±1.04c	44.14±1.45g	66.82±0.93k
	female	12.19±1.28a	22.50±1.44b	35.65±1.36de	59.28±0.72j
<i>T. polium</i>	Male	29.29±1.70c	37.16±1.43ef	59.93±1.70j	84.93±2.02m
	female	22.50±1.44b	32.14±1.19cd	49.83±1.72h	76.06±0.67i
<i>S. hortensis</i>	Male	54.85±2.07i	61.43±1.46j	74.20±1.92l	95.92±2.35n
	female	41.07±1.09fg	53.61±1.45hi	66.20±0.50k	88.80±0.58m

\*means followed by same letter are not significantly different at 5% level (Duncan's multiple range test)

جدول ۲- نتایج تجزیه رگرسیون خطی بین غلظت اسانس (میکرولیتر بر لیتر هوا) و میزان دورکنندگی (٪) روی حشرات کامل سوسک چهار

نقطه‌ای حیویات *C. maculatus*

Table 2- Results of linear regression analysis of repellency (%) of *C. maculatus* adults on oil concentration ( $\mu$  L<sup>-1</sup> air)

Essential oil	F <sub>(1,24)</sub>	P value	sex	Slop±SE	Adjusted R <sup>2</sup>
<i>F. vulgare</i>	1114.22	<0.001	Male	3.15±0.09	0.99
	882.06	<0.001	female	3.09±0.10	0.98
<i>T. polium</i>	344.77	<0.001	Male	3.77±0.20	0.96
	730.87	<0.001	female	3.57±0.13	0.98
<i>S. hortensis</i>	246.06	<0.001	Male	2.74±0.17	0.94
	1357.46	<0.001	female	3.09±0.08	0.99

نتایج اثر اسانس‌های رازیانه، کلپوره و مرزه روی بازدارندگی تخم‌ریزی

نتایج تجزیه واریانس روی درصد بازدارندگی تخم‌ریزی حشرات ماده نشان داد که میانگین درصد بازدارندگی تخم‌ریزی در اثر غلظت‌های مختلف از هر یک از اسانس‌های مورد مطالعه با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند ( $F_{(11,59)}=123.17, P<0.001$ ). در هر سه اسانس با افزایش غلظت اسانس، بازدارندگی تخم‌ریزی آن‌ها روی حشرات ماده

افزایش یافت و بیشترین درصد بازدارندگی تخم‌ریزی در بالاترین غلظت اسانس‌ها مشاهده شد (جدول ۳). بر اساس نتایج تحقیق حاضر، بیشترین درصد بازدارندگی تخم‌ریزی (۷۰/۸۹٪) در بالاترین غلظت (۴۵/۴۵ میکرولیتر بر لیتر هوا) از اسانس رازیانه و کمترین درصد بازدارندگی تخم‌ریزی (۱۲/۶۷٪) در پایین‌ترین غلظت از اسانس مرزه (۹/۰۹ میکرولیتر بر لیتر هوا) مشاهده شد. به‌طور کلی در تمامی غلظت‌های مورد بررسی، اسانس‌های رازیانه و مرزه به‌ترتیب بیشترین و کمترین تاثیر بازدارندگی تخم‌ریزی را روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات داشتند (جدول ۳). نتایج تجزیه رگرسیون خطی نشان داد که در هر یک از اسانس‌های مورد بررسی، همبستگی مثبت و معنی‌دار بین درصد بازدارندگی تخم‌ریزی و غلظت اسانس وجود داشت (جدول ۴).

جدول ۳- میانگین درصد بازدارندگی تخم‌ریزی (±خطای معیار) سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات *C. maculatus* در اثر کاربرد سه اسانس گیاهی در غلظت‌های مختلف در مدت ۵ روز اسانس‌دهی (n=5)

Table 3- Mean (±SE) Percent oviposition deterrence of *C. maculatus* treated with three essential oils in different concentrations for 5 days (n=5)

Essential oil	Concentration (μ l.L-1)			
	9.09	27.27	36.36	45.45
<i>F. vulgare</i>	21.23±2.23b	35.27±1.18d	56.73±1.59g	70.89±1.2i
<i>T. polium</i>	16.09±1.95a	28.08±1.05c	47.60±2f	63.69±1.22h
<i>S. hortensis</i>	12.67±1.90a	23.28±1.73bc	40.75±1.92e	56.85±0.45g

\*Means followed by same letter are not significantly different at 5% level (Duncan's multiple range test)

جدول ۴- نتایج تجزیه رگرسیون خطی بین میزان بازدارندگی تخم‌ریزی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات *C. maculatus* و غلظت سه اسانس گیاهی (میکرولیتر بر لیتر هوا)

Table 4- Results of linear regression analysis of oviposition deterrence (%) of *C. maculatus* adults on concentrations (μl L<sup>-1</sup> air) of three essential oils

Essential oil	F <sub>(1,24)</sub>	P value	Slop±SE	Adjusted R <sup>2</sup>
<i>F. vulgare</i>	132.28	<0.001	1.34±0.12	0.87
<i>T. polium</i>	122.75	<0.001	1.31±0.12	0.86
<i>S. hortensis</i>	156.83	<0.001	1.34±0.11	0.89

نتایج اثر اسانس‌های رازیانه، کلپوره و مرزه روی درصد کاهش ظهور نتاج نسل F<sub>1</sub> نتایج تجزیه واریانس روی درصد کاهش ظهور نتاج نسل F<sub>1</sub> نشان داد که میانگین درصد کاهش ظهور نتاج نسل F<sub>1</sub> در اثر غلظت‌های مختلف از هر یک از اسانس‌های مورد مطالعه با یکدیگر اختلاف معنی‌دار داشتند (MSE=2613.54, F<sub>(11,59)</sub>=86.98, P<0.001). در هر سه اسانس با افزایش غلظت، میزان ظهور نتاج نسل F<sub>1</sub> در مقایسه با شاهد کاهش یافت و بیشترین درصد بازدارندگی ظهور نتاج نسل F<sub>1</sub> در بالاترین غلظت اسانس‌ها مشاهده شد (جدول ۵). بر اساس نتایج تحقیق حاضر، بیشترین درصد بازدارندگی ظهور نتاج نسل F<sub>1</sub> (۷۶/۱۶٪) در بالاترین غلظت (۴۵/۴۵ میکرولیتر بر لیتر هوا) از اسانس رازیانه و کمترین درصد بازدارندگی ظهور نتاج نسل F<sub>1</sub> (۴/۶۴٪) در پایین‌ترین غلظت از اسانس مرزه (۹/۰۹ میکرولیتر بر لیتر هوا) مشاهده شد. به‌طور کلی در تمامی غلظت‌های مورد بررسی، اسانس‌های رازیانه و مرزه به‌ترتیب بیشترین و کمترین تاثیر را در کاهش ظهور نتاج نسل F<sub>1</sub> سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات داشتند (جدول ۵). نتایج تجزیه رگرسیون خطی نشان داد که در هر یک از اسانس‌های مورد بررسی، همبستگی مثبت و معنی‌دار بین غلظت اسانس و درصد کاهش ظهور نتاج نسل F<sub>1</sub> وجود داشت (جدول ۶).

جدول ۵- میانگین درصد بازدارندگی از ظهور نتاج نسل F1 (±خطای معیار) سوسک چهار نقطه‌ای حیوانات *C. maculatus* در اثر کاربرد سه اسانس گیاهی در غلظت‌های مختلف (n=5)

Table 5- Mean(±SE) Percent reduction of F1 adult emergence of *C. maculatus* treated with three essential oils in different concentrations (n=5)

Essential oil	Concentration ( $\mu$ l.L-1)			
	9.09	27.27	36.36	45.45
<i>F. vulgare</i>	18.54±1.69b	37.09±3.32cd	56.29±1.14e	76.16±3.05g
<i>T. polium</i>	11.26±2.43a	30.46±3.63c	51.66±1.01e	68.87±1.40f
<i>S. hortensis</i>	4.64±1.24a	21.85±2.75b	40.40±2.43d	55.63±2.33e

\*Means followed by same letter are not significantly different at 5% level (Duncan's multiple range test)

جدول ۶- نتایج تجزیه رگرسیون خطی بین درصد کاهش ظهور نتاج نسل F1 سوسک چهار نقطه‌ای حیوانات *C. maculatus* و غلظت سه اسانس گیاهی (میکرولیتر بر لیتر هوا)

Table 6- Results of linear regression analysis of F1 adult emergence deterrence (%) of *C. maculatus* on concentration ( $\mu$ l L<sup>-1</sup> air) of three essential oils

Essential oil	F <sub>(1,24)</sub>	P value	Slop±SE	Adjusted R <sup>2</sup>
<i>F. vulgare</i>	106.79	<0.001	1.56±0.15	0.84
<i>T. polium</i>	109.05	<0.001	1.59±0.15	0.85
<i>S. hortensis</i>	124.89	<0.001	1.53±0.13	0.87

## بحث

نتایج این بررسی نشان داد که میزان دورکنندگی اسانس‌ها علاوه بر نوع اسانس به غلظت اسانس و جنسیت حشره نیز بستگی دارد. در هر سه اسانس رابطه مثبت و معنی‌داری بین درصد دورکنندگی و غلظت اسانس مشاهده شد (جدول ۱). اثر غلظت روی میزان دورکنندگی اسانس‌های گیاهی در تحقیقات مختلف نیز گزارش شده است. به‌عنوان مثال اثرات دورکنندگی اسانس‌های *Artemisia sieberi* Besser (Negahban & Moharrampour, 2006) و *Artemisia aucheri* Boiss. (Shakarami *et al.*, 2003) روی حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حیوانات با افزایش غلظت اسانس، افزایش یافت. نتایج بررسی حاضر نشان داد که اسانس مرزه در مقایسه با اسانس‌های رازیانه و کلپوره بیشترین اثر دورکنندگی را روی حشرات کامل نر و ماده سوسک چهار نقطه‌ای حیوانات دارد (جدول ۱). تفاوت در میزان دورکنندگی اسانس گونه‌های مختلف گیاهی روی یک گونه حشره در سایر تحقیقات نیز نشان داده شده است (Tapondjou *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2006).

میزان دورکنندگی اسانس رازیانه روی برخی آفات انباری از جمله شپشه ذرت *Sitophilus zeamais* Motschulsky در منابع علمی بررسی شده است. در تحقیقی میزان دورکنندگی اسانس رازیانه به روش کاغذ صافی پس از گذشت ۲۴ ساعت در غلظت‌های ۲ و ۲۰ میکرولیتر بر مترمربع به ترتیب ۳۳/۷ و ۳۵ درصد بوده است (Cosimi *et al.*, 2009). البته نتیجه بررسی فوق‌الذکر به دلیل تفاوت در روش انجام آزمایش، با نتایج بررسی حاضر قابل مقایسه نمی‌باشد. بر اساس مطالعات شاکرامی و همکاران، میزان دورکنندگی اسانس گیاهان درمنه کوهی *A. aucheri* و مریم گلی *Salvia bracteata* L. در بالاترین غلظت مورد مطالعه (۰/۳۰۸ میکرولیتر بر میلی‌لیتر معادل ۳۰/۸ میکرولیتر بر لیتر هوا) پس از ۲۴ ساعت روی حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای به ترتیب برابر با ۴۱/۹۹ و ۳۸/۱۱ درصد بوده است. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که در غلظت ۲۳/۰۸ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس‌های رازیانه، کلپوره و مرزه میزان دورکنندگی علیه حشرات کامل نر پس از ۲۴ ساعت به ترتیب معادل ۶۶/۸۲، ۸۴/۹۳ و ۹۵/۹۲ درصد و علیه حشرات کامل ماده معادل ۵۹/۲۲، ۷۶/۰۶ و

۸۸/۸۰ درصد بود. با مقایسه غلظت‌های مورد استفاده و میزان دورکنندگی اسانس‌ها مشخص می‌شود که اثرات دورکنندگی اسانس‌های رازیانه، کلپوره و مرزه روی این آفت بیشتر از اسانس‌های مذکور در مطالعات شاکرمی و همکاران می‌باشد (Shakarami et al., 2003; 2004).

بر اساس نتایج تجزیه واریانس به‌طور کلی میزان دورکنندگی اسانس‌ها روی حشرات ماده کمتر از حشرات نر بود. حساسیت بیشتر حشرات نر سوسک چهار نقطه‌ای در مقایسه با حشرات ماده نسبت به اثر دورکنندگی اسانس‌ها احتمالاً به دلیل وجود تعداد بیشتر گیرنده‌های بویایی<sup>۱</sup> در شاخک حشرات نر می‌باشد. بر اساس گزارشات Hu و همکاران تنوع و فراوانی گیرنده‌های حسی (شامل خارهای حسی، موهای حسی و حفرات حسی) در شاخک حشرات نر سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات بیشتر از حشرات ماده است (Hu et al., 2009). حساسیت بیشتر حشرات نر در مقایسه با حشرات ماده نسبت به خاصیت دورکنندگی اسانس‌ها توسط برخی محققین نشان داده شده است. بر اساس گزارش مروج و همکاران، افراد نر شپشه قرمز آرد (*Tribolium castaneum* Herbst (1797) در مقایسه با افراد ماده حساسیت بیشتری نسبت به خاصیت دورکنندگی اسانس زیره سیاه کرمانی (*Bunium persicum* Bioss. نشان دادند (Moravvej et al., 2011).

تحقیقات صورت گرفته نشان می‌دهد که اسانس‌های گیاهی به‌خاطر ترکیبات تشکیل دهنده‌شان که عمدتاً مونوترپن‌ها می‌باشند، دارای اثرات دورکنندگی قابل توجهی روی بسیاری از حشرات می‌باشند (Shaaya et al., 1997; Kéita et al., 2001). آنالیز شیمیایی اسانس‌های رازیانه، کلپوره و مرزه با استفاده از دستگاه کروماتوگراف نشان داد که اصلی‌ترین ترکیبات در اسانس رازیانه ترانس-انتول (۶۰/۶۱٪)، فنچون (۱۲/۱۴٪) و لیمونن (۸/۹۲٪)، در اسانس کلپوره کارون (۱۱/۲۹٪) و در اسانس مرزه کارواکرول (۵۰/۱۳٪) و تیمول (۲۷/۷۷٪) بودند (Heydarzade et al., 2012). خاصیت دورکنندگی بیشتر اسانس مرزه در مقایسه با اسانس‌های رازیانه و کلپوره احتمالاً به دلیل حضور تیمول در این اسانس می‌باشد (Nerio et al., 2010). بر اساس تحقیقات صورت گرفته در غلظت‌های زیرکشندگی، تیمول و اسانس‌های حاوی این مونوترپن در مقایسه با اسانس‌های فاقد آن خاصیت دورکنندگی بیشتری روی حشرات کامل شپشه گیج آرد (*Tribolium confusum* Du Val (1868) (Ojimelukwe & Adler, 1999)، شپشه ذرت (*Sitophilus zeamais* Nerio et al., 2009) و سوسک توتون (*Lasioderma serricorne* F. (1792) (Hori, 2003) داشتند. نتایج تحقیقات نشان داد که حضور گروه‌های عاملی هیدروکسیلی و کتونی<sup>۲</sup> در ترپنوئیدها نقش موثری در میزان دورکنندگی آن‌ها روی سوسک چینی حبوبات دارد (Shimizu & Hori, 2009). به‌عبارتی دیگر ترپنوئیدهای حاوی گروه‌های عاملی هیدروکسیلی و کتونی در مقایسه با ترپنوئیدهای فاقد این گروه‌های عاملی دورکنندگی بیشتری روی آفت مذکور دارند. بر اساس نتایج آنالیز شیمیایی، ترپنوئیدهای حاوی گروه‌های عاملی هیدروکسیلی و کتونی ۱۳/۱۷ درصد از حجم اسانس رازیانه را تشکیل می‌دهند. مقادیر این ترپنوئیدها در اسانس‌های کلپوره و مرزه به‌ترتیب ۵۰/۷۹ و ۷۷/۹۰ درصد از حجم اسانس (Heydarzade et al., 2012) می‌باشد. با توجه به نتایج Shimizu & Hori می‌توان نتیجه گرفت که دورکنندگی بیشتر اسانس مرزه در مقایسه با اسانس‌های کلپوره و رازیانه احتمالاً به دلیل حضور مقادیر بالای ترپنوئیدهای دارای گروه عاملی هیدروکسیل (مانند تیمول و کارواکرول) در این اسانس است (Shimizu & Hori, 2009). همچنین دورکنندگی بیشتر اسانس کلپوره در مقایسه با اسانس رازیانه را نیز می‌توان به حضور ترکیباتی از قبیل سیس-وربنول<sup>۳</sup> (۲/۲۹٪)،

1- Olfactory receptor

2- Keto and Hydroxyl groups

3- Cis-verbenol



بتا-اندسمول<sup>۱</sup> (۴/۲۸٪)، کاریوفیلین اکساید<sup>۲</sup> (۳/۴٪)، اسپانتول (۶/۲۳٪)، کارون (۱۱/۲۹٪) و پیریتنون اکساید (۲۱/۷۲٪) در این اسانس (که دارای گروه عاملی هیدروکسیلی یا کتونی هستند) نسبت داد (Heydarzade et al., 2012).

نتایج بررسی اثر بازدارندگی تخم‌ریزی اسانس‌ها نشان داد که میزان بازدارندگی تخم‌ریزی در اثر انواع اسانس متفاوت می‌باشد و علاوه بر نوع اسانس به غلظت اسانس نیز بستگی دارد. در هر سه اسانس با افزایش غلظت، درصد بازدارندگی تخم‌ریزی افزایش یافت (جدول ۳). بیشترین شیب رگرسیون مربوط به اسانس مرزه بود (جدول ۴). این بدان معنی است که به ازای هر واحد افزایش غلظت اسانس، افزایش میزان بازدارندگی تخم‌ریزی سوسک چهار نقطه‌ای در اثر اسانس مرزه بیشتر از اسانس‌های رازیانه و کلپوره می‌باشد. همبستگی مثبت بین کاهش میزان تخم‌ریزی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات با افزایش غلظت اسانس در مطالعات سایر محققین نیز گزارش شده است. میانگین تخم‌ریزی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات با افزایش غلظت اسانس‌های ماهون (*Khaya sensgalensis* (Desr.) کرچک، *Ricinus communis* L. خرزهره زرد *Thevetia nerifolia* Juss. (Mbaiguinam et al., 2006)، نعناع سبز *Mentha spicata* L. و پونه وحشی *Mentha arvensis* L. (Raja et al., 2001) کاهش یافته است. بر اساس نتایج تحقیق حاضر به‌طور کلی، میزان بازدارندگی تخم‌ریزی سوسک چهار نقطه‌ای در اثر اسانس رازیانه به‌طور معنی‌داری بیشتر از اسانس‌های کلپوره و مرزه بوده است (جدول ۳). بررسی اثر گونه‌های گیاهی مختلف روی بازدارندگی تخم‌ریزی حشرات در تحقیقات مختلف نیز نشان داده شده است. به‌عنوان مثال، میزان بازدارندگی تخم‌ریزی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات در اثر غلظت ۷۰ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس‌های درمنه کوهی *Artemisia aucheri* Boiss. مریم گلی *Salvia bracteata* Bank et Sol. و نعناع گریه‌ای *Nepeta cataria* L. به‌ترتیب ۲۵، ۳۹ و ۵۳٪ بوده است (Shakarami et al., 2004). در حالی که در تحقیق حاضر، بالاترین غلظت (۴۵/۴۵ میکرولیتر بر لیتر هوا) از اسانس‌های مرزه، کلپوره و رازیانه به‌ترتیب باعث ۵۶/۸۵، ۶۳/۶۹ و ۷۰/۸۹٪ بازدارندگی در تخم‌ریزی این آفت شدند. با توجه به مقایسه غلظت‌های مورد استفاده در دو تحقیق و درصد بازدارندگی تخم‌ریزی حشرات به‌نظر می‌رسد اثر بازدارندگی تخم‌ریزی اسانس‌های رازیانه، کلپوره و مرزه در مطالعه حاضر بیشتر از اسانس‌های فوق‌الذکر در مطالعات شاکرمی و همکاران باشد (Shakarami et al., 2004). بر طبق گزارشات Aboua و همکاران میزان بازدارندگی تخم‌ریزی سوسک چهار نقطه‌ای در اثر غلظت ۶/۷ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس گیاهان لیمو عمانی *Citrus aurantifolia* (Christm. & Panzer) گل مار *Ageratum conyzoides* L. و نیاولی *Melaleuca quinquenervia* (Cav.) پس از ۲۴ ساعت به‌ترتیب برابر ۹۰/۶۱، ۹۲/۶۴ و ۹۶/۴۵٪ بوده است (Aboua et al., 2010). در تحقیق حاضر میزان بازدارندگی تخم‌ریزی سوسک چهار نقطه‌ای در اثر غلظت ۹/۰۹ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس‌های مرزه، کلپوره و رازیانه پس از ۵ روز به‌ترتیب ۱۲/۶۷، ۱۶/۱۰ و ۲۱/۲۳٪ محاسبه گردید. با مقایسه میزان بازدارندگی تخم‌ریزی در این دو تحقیق در غلظت‌های مذکور، به‌نظر می‌رسد که اثر بازدارندگی تخم‌ریزی اسانس‌های رازیانه، کلپوره و مرزه در تحقیق حاضر کمتر از اسانس‌های فوق‌الذکر در تحقیق Aboua و همکاران می‌باشد. البته با توجه به یکسان بودن گونه حشره مورد بررسی به‌نظر می‌رسد که تفاوت مشاهده شده در نتایج مطالعات Aboua و همکاران با تحقیق حاضر مربوط به تفاوت در نوع اسانس‌ها و تفاوت در مدت زمان انجام آزمایش باشد (Aboua et al., 2010).

نتایج بررسی اثر اسانس‌ها در کاهش درصد ظهور نتاج نسل  $F_1$  نشان داد که درصد کاهش ظهور حشرات کامل نسل اول در اثر اسانس‌های مورد مطالعه متفاوت بود و علاوه بر نوع اسانس به غلظت اسانس نیز بستگی داشت. در مورد هر

1-  $\beta$ -endesmol  
2- Caryophyllene oxide

سه اسانس با افزایش غلظت، میانگین حشرات کامل خارج شده به ازای هر حشره ماده اولیه کاهش یافت (جدول‌های ۵ و ۶). همبستگی مثبت بین کاهش ظهور نتاج نسل  $F_1$  سوسک چهار نقطه‌ای با افزایش غلظت اسانس در مطالعات سایر محققین نیز گزارش شده است. میانگین ظهور نتاج نسل  $F_1$  سوسک چهار نقطه‌ای با افزایش غلظت اسانس‌های ماهون *Khaya sensgalensis*، کرچک *Ricinus communis* و گزخ *Moringa oleifera* Lam. (Mbaiguinam et al., 2006) و اسانس پونه وحشی *Mentha arvensis* (Raja et al., 2001) کاهش یافت. بر اساس نتایج تحقیق حاضر به‌طور کلی، میزان بازدارندگی از ظهور نتاج نسل  $F_1$  اثر اسانس رازیانه به‌طور معنی‌داری بیشتر از اسانس‌های کلپوره و مرزه بود (جدول ۵). تفاوت در واکنش سوسک چهار نقطه‌ای به اسانس‌های رازیانه، کلپوره و مرزه احتمالاً مربوط به تفاوت در ترکیبات تشکیل دهنده اسانس‌های مذکور می‌باشد.

بر اساس گزارش Papachristos & Stamopoulos در اثر غلظت ۷۶/۹۲ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس‌های مرزنگوش *Origanum vulgare* L.، نعناع سبز *Mentha viridis* و شوید *Anethum graveolens* L. میانگین ظهور نتاج نسل  $F_1$  سوسک لویا *Acanthoscelides obiectus* Say (1831) به‌ترتیب به میزان ۲۳/۱۱، ۳۱/۴۴ و ۳۹/۰۱ درصد کاهش یافت (Papachristos & Stamopoulos, 2002). در تحقیق حاضر، بالاترین غلظت (۴۵/۴۵ میکرولیتر بر لیتر هوا) از اسانس‌های مرزه، کلپوره و رازیانه به‌ترتیب باعث ۵۵/۶۳، ۶۸/۸۷ و ۷۶/۱۶٪ بازدارندگی در میزان ظهور نتاج نسل  $F_1$  سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات شدند. با مقایسه غلظت‌های به‌کار رفته در دو تحقیق و درصد کاهش ظهور حشرات کامل نسل  $F_1$  به نظر می‌رسد که اثر اسانس‌های رازیانه، کلپوره و مرزه در کاهش میزان ظهور نتاج نسل  $F_1$  بیشتر از اسانس‌های فوق‌الذکر در مطالعات Papachristos & Stamopoulos باشد (Papachristos & Stamopoulos, 2002). بر اساس گزارشات Ndomo و همکاران در اثر غلظت ۰/۲۶۶ میکرولیتر بر گرم بذر از اسانس گیاه شیشه شور همچون *Callistemon viminalis* (Solander ex Gaertner) میزان ظهور نتاج نسل  $F_1$  سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات پس از ۳۸ روز به میزان ۱۰۰ درصد کاهش یافت و به صفر رسید. بر اساس نتایج تحقیق حاضر، میزان بازدارندگی از ظهور حشرات کامل نسل  $F_1$  این آفت در غلظت تقریباً مشابه (۹/۰۹ میکرولیتر بر لیتر هوا معادل ۰/۲ میکرولیتر بر گرم بذر) از اسانس‌های رازیانه، کلپوره و مرزه به‌ترتیب برابر ۱۸/۵۴، ۱۱/۲۵ و ۴/۶۳٪ بود. با مقایسه نتایج می‌توان گفت که اثر اسانس‌های رازیانه، کلپوره و مرزه در تحقیق حاضر بسیار کمتر از اثر اسانس شیشه شور در مطالعات Ndomo و همکاران می‌باشد (Ndomo et al., 2010).

علی‌رغم بررسی‌های صورت گرفته، هنوز اطلاعات جامعی در مورد مکانیسم عمل اسانس‌ها روی حشرات به‌دست نیامده است. با این وجود چنین به نظر می‌رسد که دوزهای زیر کشنده اسانس‌ها احتمالاً با ایجاد اختلال در فرآیند تشکیل و تکامل تخم<sup>۱</sup> و یا افزایش مدت نگه‌داری تخم‌ها در مجرای عبور تخم<sup>۲</sup> باعث کاهش میزان تخم‌ریزی حشرات می‌شوند. با توجه به این که فرآیند تشکیل و تکامل تخم تحت تاثیر سیستم عصبی حشرات می‌باشد (Papachristos & Pouzat, 1978; Stamopoulos, 2002)، ترکیبات تشکیل دهنده اسانس‌های گیاهی با تحت تاثیر قرار دادن این سیستم به شیوه‌ای که هنوز به‌خوبی مشخص نشده است، موجب مهار تشکیل و الحاق زرده<sup>۳</sup> به سلول‌های تخمک<sup>۴</sup> و در نتیجه اختلال در تشکیل تخم و بازدارندگی تخم‌ریزی می‌شوند (Ketoh et al., 2002). البته باروری حشرات به عوامل دیگری چون

1- Oogenesis  
2- Oviduct  
3- Vitellus  
4- Oocyte

تحریکات گیاه میزبان<sup>۱</sup>، میکروکلیمای مکان تخم‌گذاری و غیره نیز بستگی دارد. ایجاد تغییرات در هر یک از این عوامل خود به تنهایی ممکن است منجر به ایجاد اختلال در فرآیند تشکیل تخم و یا افزایش مدت نگهداری تخم در مجرای عبور تخم شود (Pouzat, 1978; Papachristos & Stamopoulos, 2002). بر طبق نظر Pouzat (۱۹۷۸) ترکیبات فرار اسانس-های گیاهی ممکن است به‌طور غیرمستقیم، با بی اثر کردن فرآیند تحریک میزبانی بذور لوبیا<sup>۲</sup> موجب کاهش میزان باروری حشره شود (Pouzat, 1978). فرضیات مشابهی در مورد تاثیر اسانس‌ها روی میزان باروری سایر حشرات الیگوفاز مانند سوسک لوبیا *Acanthoscelides obtectus*، بید چغندر *Scrobipalpa ocellatella* Boyd (1858) و سوسک کلرادوی سیب زمینی *Leptinotarsa decemlineata* Say (1824) توسط محققین دیگر نیز مطرح گردیده است (Robert & Blaisinger, 1978; Visser & Ave, 1978; Papachristos & Stamopoulos, 2002). کاهش شدید ظهور حشرات کامل در نمونه‌های تیمار شده با اسانس‌های رازیانه، کلپوره و مرزه نسبت به نمونه‌های شاهد نشان دهنده تاثیر بالای اسانس‌ها روی مرگ و میر جنین و جلوگیری از ظهور نتاج نسل بعد می‌باشد. بررسی‌های صورت گرفته نشان می‌دهد، که اسانس‌های گیاهی با قطع تنفس، برهم زدن تعادل آب درون تخم و اختلال در رشد جنین، روی کاهش ظهور حشرات نسل جدید تاثیر منفی می‌گذارند (Messina & Renwick, 1983; Ndomo et al., 2010). البته برخی از محققین معتقدند که اسانس‌های گیاهی با افزایش مرگ و میر لاروهای نسل اول قبل از ورود به دانه و یا از طریق بازداشتن آن‌ها از تغذیه موجب کاهش ظهور نتاج نسل بعد می‌شوند (Saxena et al., 1992; Papachristos & Stamopoulos, 2002).

### نتیجه‌گیری

با توجه به اثبات اثرات زیرکشنندگی اسانس‌های رازیانه، کلپوره و مرزه در این تحقیق روی حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات و کم خطر بودن این ترکیبات برای انسان، پستانداران و سایر موجودات غیر هدف، به نظر می‌رسد که این ترکیبات می‌توانند به‌عنوان جایگزین و یا مکمل سموم شیمیایی جهت کنترل جمعیت سوسک چهار نقطه‌ای در انبار حبوبات مورد استفاده قرار گیرند. لذا استفاده کاربردی این اسانس‌ها به‌عنوان حفاظت‌کننده‌های انباری مستلزم انجام تحقیقات گسترده در زمینه استاندارد سازی اسانس‌ها، شناسایی و جداسازی ترکیبات فعال، تعیین قدرت نفوذ این اسانس‌ها به توده محصولات انباری و دستیابی به روش‌های تولید انبوه و یافتن فرمولاسیون مناسب جهت کاربرد آن‌ها در محیط انبار می‌باشد.

### References

- Aboua, L. R. N., Seri-Kouassi, B. P. and Koua, H. K. 2010. Insecticidal activity of essential oils from three aromatic plants on *Callosobruchus maculatus* F. in Côte D'ivoire. European Journal of Scientific Research, 39 (2): 243-250.
- Akrami, H., Moharrampour, S. and Imani, S. 2011. Comparative effect of *Thymus kotschyanus* and *Mentha longifolia* essential oils on oviposition deterrence and repellency of *Callosobruchus maculatus* F. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 27 (1): 1-10.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and b, M. I. 2008. Biological effects of essential oils – a review. Food and Chemical Toxicology, 46: 446-475.
- Boateng, B. A. and Kusi, F. 2008. Toxicity of jatropa seed oil to *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and its parasitoid, *Dinarmus basalis* (Hymenoptera: Pteromalidae). Journal of Applied Sciences Research, 4 (8): 945-951.

1- Host-plant stimuli

2- Stimulating action of bean seed

- Chaubey, M. K. 2008.** Fumigant toxicity of essential oils from some common spices against pluse beetle, *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Oleo Science, 57 (3): 171-179.
- Cosimi, S., Rossi, E., Cioni, P. L. and Canale, A. 2009.** Bioactivity and qualitative analysis of some essential oils from Mediterranean plant against stored-product pest: Evaluation of repellency against *Sitophilus zeamais* Motschulsky, *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) and *Tenebrio molitor* (L.). Journal of Stored Products Research, 45: 125-132.
- Fields, P. G., Xie, Y. S. and Hou, X. 2001.** Repellent effect of pea (*Pisum sativum*) fractions against stored-product insects. Journal of Stored Products Research, 37: 359-370.
- Heydarzade, A., Moravvej, G. H., Hatefi, S. and Shabahang, J. 2012.** Fumigant toxicity of essential oils from three medicinal plants against *Callosobruchus maculatus* adults (Coleoptera: Bruchidae). Iranian Journal of Plant Protection Science, 42 (2): 275-284.
- Heydarzade, A., Moravvej, G. H. and Mansourian, S. 2010.** Investigation of contact toxicity and persistence of essential oils from three medicinal plants against *Callosobruchus maculatus* adults (Coleoptera: Bruchidae). 19th Iranian Plant Protection Congress, 31 July- 3 August, Tehran, P. 292.
- Hori, M. 2003.** Repellency of essential oils against the cigarette beetle, *Lasioderma serricorne* (Fabricius) (Coleoptera: Anobiidae). Applied Entomology and Zoology, 38: 467-473.
- Hu, F., Zhang, G. N. and Wang, J. J. 2009.** Scanning electron microscopy studies of antennal sensilla of bruchid beetles, *Callosobruchus chinensis* (L.) and *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). Micron, 40: 320-326.
- Ilboudo, Z., Dabire, L. C. B., Nebie, R. C. H., Dicko, I. O., Dugravot, S., Cortesero, A. M. and Sanon, A. 2010.** Biological activity and persistence of four essential oils towards the main pest of stored cowpeas, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Stored Products Research, 46: 124-128.
- Kéita, S. M., Vincent, C., Schmit, J. P., Arnason, J. T. and Belanger, A. 2001.** Efficacy of essential oil of *Ocimum basilicum* L. and *O. gratissimum* L. applied as an insecticidal fumigant and powder to control *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Stored Products Research, 37: 339-349.
- Ketoh, G. K., Glitho, A. I. and Huignard, J. 2002.** Susceptibility of the bruchid *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and its parasitoid *Dinarmus basalis* (Hymenoptera: Pteromalidae) to three essential oils. Journal of Economic Entomology, 95 (1): 174-182.
- Kim, S. I., Park, C., Ohh, M. H., Cho, H. C. and Ahn, Y. J. 2003.** Contact and fumigant activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae). Journal of Stored Products Research, 39: 11-19.
- Lale, N. E. S. and Abdulrahman, H. T. 1999.** Evaluation of neem (*Azadirachta indica* A.) seed oil obtained by different methods and neem powder for the management of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) in stored cowpea. Journal of Stored Products Research, 35: 135-143.
- Lee, B. H., Choi, W. S., Lee, S. E. and 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.
- Liu, C. H., Mishra, A. K., Tan, R. X., Tang, C., Yang, H. and Shen, Y. F. 2006.** Repellent and insecticidal activities of essential oils from *Artemisia princeps* and *Cinnamomum camphora* and their effect on seed germination of wheat and broad bean. Bioresource Technology, 97: 1969-1973.
- Mahfuz, I. and Khaleqzaman, M. 2007.** Contact and fumigant toxicity of essential oils against *Callosobruchus maculatus*. Rajshahi University Journal of Zoology, 26: 63-66.
- Mbaiguinam, M., Maoura, N., Bianpambe, A., Bono, G. and Alladoubaye, E. 2006.** Effect of six common plant seed oils on survival, eggs lying and development of the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Biological Science, 14: 43-48.
- Messina, F. J. and Renwick, J. A. A. 1983.** Effectiveness of oils in protecting stored cowpea from the cowpea weevil (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Economic Entomology, 76: 634-636.
- Moravvej, G., Of-Shahraki, Z. and Azizi-Arani, M. 2011.** Contact and repellent activity of *Elletaria cardamomum* (L.) Maton. and *Bunium persicum* (Boiss.) Fedtsch. oils against *Tribolium castaneum* (Herbst) adults (Coleoptera: Tenebrionidae). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 27 (2): 224-238.
- Ndomo, A. F., Tapondjou, L. A., Ngamo, L. T. and Hance, T. 2010.** Insecticidal activities of essential oil of *Callistemon viminalis* applied as fumigant and powder against two bruchids. Journal of Applied Entomology, 134: 333-341.
- Negahban, M. and Moharramipour, S. 2006.** Repellent Activity and Persistence of Essential Oil from *Artemisia sieberi* Besser on Three Stored-Product Insect Species. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 22: 293-302.

- Nerio, L. S., Olivero-Verbel, J. and Stashenko, E. 2010.** Repellent activity of essential oils: A review. *Bio-resource Technology*, 101: 372-378.
- Nerio, L. S., Olivero-Verbel, J. and Stashenko, E. E. 2009.** Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera). *Journal of Stored Products Research*, 45: 212-214.
- Ojmelukwe, P. C. and Adler, C. 1999.** Potential of zimmtaldehyde, 4-allyl-anisol, linalool, terpineol and other phytochemicals for the control of the confused flour beetle (*Tribolium confusum* J.) (Col., Tenebrionidae). *Journal of Pest Science*, 72: 81-86.
- Papachristos, D. P. and Stamopoulos, D. C. 2002.** Repellent, toxic and reproduction inhibitory effect of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 38 (2): 117-128.
- Pouzat, J. 1978.** Host plant chemosensory influence on oogenesis in the bean weevil, *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera: Bruchidae). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 24: 401-408.
- Rahman, A. and Talukder, A. 2006.** Bioefficacy of some plant derivatives that protect grain against the pluse beetle, *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Insect Science*, 6: 17-24.
- Raja, N., Albert, S., Ignacimuthu, S. and Dorn, S. 2001.** Effect of plant volatile oils in protecting stored cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walpers against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) infestation. *Journal of Stored Products Research*, 37: 127-132.
- Rajakpake, R. and Van Emden, F. 1997.** Potential of four vegetable oils and ten botanical powder for reducing infestation of cowpeas by *Callosobruchus maculatus*, *C. chinensis* and *C. rhodesianus*. *Journal of Stored Products Research*, 33 (1): 59-68.
- Robert, P. C. and Blaisinger, P. 1978.** Role of non-host plant chemicals in the reproduction of an oligophagous insect: the sugar beet moth *Scrobipalpa ocellatella* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 24: 632-636.
- Saxena, C. R., Dixit, P. D. and Harshan, V. 1992.** Insecticidal action of *Lantana camara* against *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 28: 279-281.
- Shaaya, E., Kostjukovski, M., Eilberg, J. and Sukprakarn, C. 1997.** Plant oils as fumigants and contact insecticide for the control of stored-product insect. *Journal of Stored Products Research*, 33(1): 7-15.
- Shakarami, J., Kamali, K. and Moharrampour, S. 2004.** Fumigant toxicity and repellency of essential oil of *Salvia bracteata* on four species of stored pest. *Journal of Entomological Society of Iran*, 24 (2): 35-49.
- Shakarami, J., Kamali, K., Moharrampour, S. and Moshkat-Sadat, M. H. 2003.** Fumigant toxicity and repellency of essential oil of *Artemisia aucheri* on four species of stored pest. *Entomological Society of Iran. Journal of Entomological Society of Iran*, 71(2): 61-75.
- Shimizu, C. and Hori, M. 2009.** Repellency and toxicity of terpenoids compounds against the adzuki bean beetle, *Callosobruchus chinensis* (L.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 45: 49-53.
- Singh, V. N. and Pandey, N. D. 2001.** Growth and development of *Callosobruchus chinensis* Linn. on different varieties. *Indian Journal of Entomology*, 63(2): 182-185.
- Tapondjou, A. L., 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* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. *Journal of Stored Products Research*, 41: 91-102.
- Viglianco, A. I., Novo, R. J., Cragnolini, C. I., Nassetta, M. and Cavallo, E. A. 2008.** Antifeedant and repellent effects of extracts of three plant from Cordoba (Argentina) against *Sitophilus oryzae* L. (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Bioassay*, 3(4): 1-6.
- Visser, H. J. and Ave, A. D. 1978.** General green leaf volatiles in the olfactory orientation of the Colorado beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 24: 738-749.

## Study on the sub lethal effects of essential Oils extracted from *Foeniculum vulgare*, *Teucrium polium* and *Satureja hortensis* on some biological traits of *Callosobruchus maculatus* (Col., Bruchidae)

A. Heydarzade<sup>1\*</sup>, G. Moravvej<sup>2</sup>, S. Hatefi<sup>2</sup>, S. Sarbaz<sup>3</sup>

1- Graduated Student, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University, Mashhad, Iran

2- Respectively Assistant Professor and Lecturer, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

3- Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University, Mashhad, Iran

### Abstract

During the past few decades, many investigations have been conducted on different plant products in order to obtain safer and effective alternatives for chemical insecticides to control stored product insects. In the present study, the effects of essential oils from fennel, *Foeniculum vulgare* Miller (Apiaceae), Wall germander, *Teucrium polium* Boiss. (Lamiaceae) and Summer savory, *Satureja hortensis* L. (Lamiaceae) were investigated on behavioral and reproductive activity and adult emergence of cowpea seed beetle, *Callosobruchus maculatus* at 28±2 °C and 60±5% R.H. in dark condition. The results indicated that the repellent activity of essential oils on beetles increased by increasing oil concentration. At the highest concentration (23.08 µl L<sup>-1</sup> air), the mean repellency percentages of fennel, Wall germander and Summer savory oils were 66.82, 84.93 and 95.92% on males and 59.28, 76.06 and 88.8 % on females, respectively. Males were more susceptible to repellent activity of oils than females. The essential oils of Summer savory and fennel had the most and the least repellent activity, respectively. The results indicated that reproductive activity of cowpea seed beetle decreased by increasing oil concentration. At the highest concentration (45.45 µl L<sup>-1</sup> air), oviposition deterrence of fennel, wall germander and summer savory oils were 70.89, 63.69 and 56.85%, respectively. At this concentration, the oils caused 76.16, 68.87 and 55.63% deterrence on F<sub>1</sub> adult emergence, respectively. The deterrence of fennel oil on oviposition and F<sub>1</sub> adult emergence was significantly higher than two other oils. The results suggested that the essential oils especially that of fennel had an adverse effect on embryonic and larval development, resulting in the reduction of oviposition and F<sub>1</sub> progeny production.

**Key words:** Essential oils, Oviposition deterrence, F<sub>1</sub> progeny deterrence, Repellency, Cowpea seed beetle

\* Corresponding Author, E-mail: [arezoo.heydarzade@hotmail.com](mailto:arezoo.heydarzade@hotmail.com)

Received: 26 Nov. 2011- Accepted: 13 Oct. 2012