Archive of SID

گیاه پزشکی (مجله علمی کشاورزی)، جلد ۳۸ شماره ۴، زمستان ۹۴

ترکیبات شیمیایی و اثرات حشره‌کشی اسانس برگ نارنج *Citrus aurantium* L. بر سه آفت مهم انباری

شکوفه بنده‌بروجنی[۱]، نوشین زندی‌سوهانی[۲]* و لیلا رمضانی[۳]

۱- دانش‌آموخته‌ی کارشناسی ارشد حشره‌شناسی گروه گیاهپزشکی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

۲*- **نویسنده مسوول**: استادیار گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، (nzandisohani@yahoo.com)

۳- استادیار گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۴/۶/۷

چکیده

به منظور جایگزینی ترکیبات کم خطر برای سموم آفت‌کش، پژوهش‌های وسیعی روی اسانس‌های گیاهی انجام می‌شود. در این پژوهش سمیت تنفسی، تماسی و اثر دورکنندگی اسانس برگ نارنج *Citrus aurantium* L. روی سوسک‌کشیش *Rhyzopertha dominica* Fabricius، شپشه‌آرد *Tribolium castaneum* (Herbst) و شپشه‌دندانه‌دار غلات *Oryzaephilus surinamensis* L. مورد بررسی قرار گرفت. آزمایشات در قالب طرح کاملا تصادفی در دمای ۲±۲۷ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و شرایط تاریکی در ۵ تکرار انجام شد. به منظور شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس برگ نارنج، با استفاده از دستگاه کلونجر استخراج شده و بوسیله دستگاه GC-MS مورد آنالیز قرار گرفت. آزمایشات تنفسی در ظروف ۵۰ میلی‌لیتری درپوش‌دار و آزمایشات تماسی به روش پتری‌دیش و در ۵ غلظت انجام شد و مرگ و میر حشرات پس از ۲۴ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. اثر دورکنندگی با استفاده از آزمون انتخاب آزاد در پتری‌دیش و با ۵ غلظت مختلف و در زمانهای ۲ و ۴ ساعت مطالعه شد. آنالیز ترکیبات شیمیایی حاکی از مقادیر بالای مونوترپن در اسانس بوده و لینالول (۳۲/۴۱ ٪) بیشترین ترکیب اسانس بود. تجزیه‌ی پرویت داده‌ها نشان داد که مقدار LC_{50} اسانس درسمیت تنفسی ۲۶۲/۹۳ میکرولیتر بر لیتر هوا برای شپشه‌دندانه‌دار بود ولی برای سوسک‌کشیش و شپشه‌آرد سمیت تنفسی مشاهده نشد. نتایج آزمایشات نشان داد که سمیت تماسی اسانس برگ نارنج روی سوسک‌کشیش (LC_{50}=۰/۱۳ $\mu l/cm^2$) و شپشه‌دندانه‌دار (LC_{50}=۰/۱۱ $\mu l/cm^2$) بیشتر از شپشه‌آرد (LC_{50}=۱/۸۴$\mu l/cm^2$) بود. درصد دورکنندگی اسانس برگ نارنج برای سوسک‌کشیش، شپشه‌آرد و شپشه‌دندانه‌دار پس از ۲ ساعت قرارگیری در معرض اسانس دربالاترین غلظت استفاده شده ($۱/۱۹۴\times۱۰^{-۱}\mu L/cm^2$) به‌ترتیب ۴۸، ۹۰ و ۸۴ درصد بود.

کلید واژه‌ها: آفات انباری، سمیت تماسی، سمیت تنفسی، دورکنندگی، اسانس برگ نارنج

مقدمه

انبار کردن محصولات کشاورزی به منظور استفاده در سایر فصل‌های سال و یا جهت انتقال به سایر مناطق امری ضروری است. آمار و ارقام سازمان‌های رسمی بین‌المللی و محلی نشان می‌دهد که هر سال مقدار قابل توجهی از تولیدات کشاورزی در کشورهای در حال توسعه به وسیله‌ی آفات در انبارها از بین می‌رود و خسارت قابل توجهی به محصولات وارد می‌شود. حمله‌ی آفات انباری و کم‌توجهی به اصول نگهداری فرآورده‌های کشاورزی گاهی زیان‌های کیفی بسیار مهمی را به دنبال می‌آورد که سبب تغییر ترکیب شیمیایی، رنگ و مزه‌ی محصول شده و در نتیجه نه تنها ارزش تجاری و مرغوبیت آن به شدت کاهش یافته بلکه گاهی مشکلات بهداشتی و اختلالات گوارشی شدیدی

www.SID.ir

Archive of SID

در مصرف‌کنندگان، اعم از انسان، دام‌ها و طیور ایجاد کرده است (متیوس[1]، ۱۹۹۳).

برای حفظ کمیت و کیفیت غلات انبار شده، کاهش انبوهی جمعیت حشرات انباری ضروری است. با توجه به اهمیت اقتصادی آفات و مشکلات ناشی از به کارگیری حشره‌کش‌های شیمیایی تنفسی و ممنوعیت استفاده از آن‌ها (جانسون و همکاران[2]، ۱۹۹۸) جایگزین کردن روش‌های مناسب دیگر ضروری به نظر رسیده (آرتور[3]، ۱۹۹۹؛ لیسچ[4]، ۱۹۹۵) و تحقیق برای دسترسی به روش‌ها و ترکیب‌های کم خطر جهت کنترل آفات انباری اجتناب‌ناپذیر می‌باشد (تلوکدر و هوز[5]، ۱۹۹۳؛ تانک و همکاران[6]؛ ۲۰۰۰، حق و همکاران[7]، ۲۰۰۰).

استفاده از گیاهان، مواد گیاهی، عصاره خام گیاهان و اسانس‌ها برای حفاظت محصولات انباری در برابر حشرات آفت به اندازه حفاظت محصولات در مزرعه قدمت دارد. در واقع قبل از توسعه و موفقیت تجاری حشره‌کش‌های شیمیایی مصنوعی که از سال ۱۹۴۰ شروع شد، حشره‌کش‌های گیاهی مهم‌ترین سلاح در انبار کشاورزان علیه آفات بودند (ایسمان[8]، ۲۰۰۶). اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی از ترکیبات مناسب به عنوان جایگزین سموم شیمیایی سنتزی هستند که کمترین خطر را برای انسان و محیط زیست دارند. اسانس‌های استخراج شده از گیاهان معمولا در طبیعت زودتر تجزیه می‌شوند، بنابراین سمیت کمتری برای انسان و سایر پستانداران داشته و اثرهای مخرب کمتری در محیط زیست برجای می‌گذارند (رخشانی، ۱۳۸۱؛ ایسمان، ۲۰۰۰؛ پارک و همکاران[9]، ۲۰۰۲).

گونه‌های مرکبات به عنوان یک منبع گیاهی دارای خاصیت حشره‌کشی گزارش شده‌اند. اسانس پوست، برگ و بذر واریته‌های این گیاهان حاوی متابولیت‌های ثانویه هستند که دارای اثر حشره‌کشی روی راسته‌های مختلف حشرات می‌باشند (روی و صراف[10]، ۲۰۰۶). هدف از این پژوهش بررسی اثرحشره‌کشی و دورکنندگی اسانس برگ گیاه نارنج *Citrus aurantium* بر حشرات کامل سوسک کشیش *Rhyzopertha dominica* Fabricius، شپشه‌آرد *Tribolium castaneum* (Herbst) و شپشه‌دندانه‌دار *Oryzaephilus surinamensis* L. می‌باشد.

مواد و روش‌ها

پرورش آفات

جمعیت اولیه حشرات کامل از آزمایشگاه حشره‌شناسی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان تهیه گردید و پس از شناسایی سوسک‌کشیش روی گندم رقم چمران، شپشه‌ی آرد روی جوپرک و شپشه‌ی دندانه‌دار روی خرمای رقم دیری در ژرمیناتور در دمای ۲±۲۷ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۵ ٪ و در تاریکی پرورش داده شدند.

جمع آوری گیاهان و استخراج اسانس

برگ های مسن درخت نارنج از محل پردیس دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین دراستان خوزستان در اسفند ۱۳۹۲ جمع‌آوری شدند. پس از شست‌وشوی مختصر برگ‌ها با آب جهت رفع هرگونه گرد و غبار، اسانس آنها با روش تقطیر با آب به‌وسیله‌ی دستگاه کلونجر به مدت ۴ ساعت تهیه گردید. سپس اسانس در ظرف شیشه‌ای جمع‌آوری شد و به وسیله‌ی سولفات‌سدیم بی‌آب، آبگیری شد و برای جلوگیری از رسیدن نور تا زمان استفاده، دور ظرف با فویل آلومینیومی پوشانده شد و در یخچال در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری گردید.

1-Matthews
1- Johnson *et al.*
2- Arthur
3- Leesch
4- Talukder & Howse
5- Tunc *et al.*
6- Haque *et al.*
7- Isman
8- Park *et al.*
9- Roy & Saraf

www.SID.ir

Archive of SID

شناسایی ترکیبات شیمیایی

برای شناسایی ترکیبات فرار شیمیایی موجود در اسانس استخراج شده از برگ درخت نارنج، از دستگاه گاز کروماتوگرافی Shimadzu GC-17A, (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) متصل به طیف‌نگار جرمی (GC-MS QA 5050A) دارای ستون موئینه TRASCIL Meta X5 به طول ۳۰ متر، قطر داخلی و ضخامت ۲۵ میکرومتر موجود در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان استفاده شد.

آزمایشات زیست‌سنجی

سمیت تنفسی

آزمایش‌های بررسی سمیت تنفسی بر اساس روش زندی‌سوهانی و همکاران (زندی سوهانی و همکاران[1]، ۲۰۱۲) در ظروف پلاستیکی به حجم ۵۰ میلی‌لیتر و در ۵ تکرار انجام شد. تعداد ۵ غلظت از اسانس که بر اساس آزمایشات مقدماتی تلفاتی بین ۲۰ تا ۸۰ درصد ایجاد کردند، تعیین شد. در هر ظرف تعداد ۲۰ عدد حشره کامل نر و ماده که بین یک تا سه روز عمر داشتند، درمعرض ۵ غلظت مختلف اسانس (بین ۱۰۰ تا ۴۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر هوا) قرار داده شدند. کاغذ های صافی به قطر در ظروف برش داده شد و از داخل به در ظروف چسبانده شد. غلظت مورد نظر توسط سمپلر روی کاغذ صافی تزریق شد. به منظور جلوگیری از تماس مستقیم حشرات با کاغذ صافی، در حد فاصل ظرف و کاغذ صافی ازتوری استفاده شد. پس از مدت زمان ۲۴ ساعت تعداد حشرات مرده (که قادر به حرکت دادن پا و شاخک نبودند) در ظروف تیمار و شاهد شمارش و ثبت گردید.

سمیت تماسی

آزمایش‌های بررسی سمیت تماسی با استفاده از روش باقری و همکاران (۱۳۹۰) انجام شد. در این آزمایش از پتری‌دیش‌هایی به قطر ۹ سانتی‌متر استفاده شد. روی درپوش پتری سوراخ گردی به قطر یک سانتی متر ایجاد گردید و با توری پوشانده شد تا از ایجاد سمیت تدخینی جلوگیری گردد. پس از انجام آزمایشات مقدماتی، ۵ غلظت مختلف از اسانس با فواصل لگاریتمی برای هر گونه حشره به طور جداگانه تعیین گردید. کف پتری دیش ها به وسیله کاغذ صافی واتمن شماره یک پوشانده شد و غلظت های مختلف اسانس روی کاغذ صافی تزریق گردید. سپس تعداد ۲۰ حشره کامل نر و ماده یک تا سه روزه در پتری دیش ها رهاسازی گردید و در آنها بسته شد. آزمایشات تماسی در ۵ تکرار صورت گرفت. تعداد حشرات مرده پس از ۲۴ ساعت در ظروف تیمار و شاهد شمارش و ثبت گردید.

اثر دور کنندگی

آزمایشات دورکنندگی با استفاده از روش زندی سوهانی و همکاران (۲۰۱۲) و در ۵ تکرار انجام شد. در این آزمایش از کاغذ واتمن شماره یک به قطر ۹ سانتی‌متر جهت تعیین خاصیت دورکنندگی اسانس‌های گیاهی اکالیپتوس و نارنج استفاده گردید. مقادیر مختلف اسانس در استون خالص حل شده و ۵ غلظت نهایی $۱/۱۹۴\times۱۰^{-۵}$، $۱/۱۹۴\times۱۰^{-۴}$، $۱/۱۹۴\times۱۰^{-۳}$، $۱/۱۹۴\times۱۰^{-۲}$ و $۱/۱۹۴\times۱۰^{-۱}$ میکرولیتر بر سانتی‌مترمربع مورد استفاده قرار گرفت. در این روش کاغذ صافی به دو نیمه تقسیم شد که نیمی از آن به ۳۰۰ میکرولیتر از هر یک از غلظت‌ها و نیمی دیگر به عنوان شاهد به ۳۰۰ میکرولیتر حلال استون آغشته گردید. پس از گذشت ۵ دقیقه و اطمینان از تبخیر حلال دو قسمت جدا شده‌ی کاغذ صافی در کنار هم قرار گرفته و با چسب نواری به هم متصل شده و در داخل پتری‌هایی با قطر ۹ سانتی‌متر قرار گرفتند. سپس ۲۰ حشره کامل در مرکز کاغذ صافی رهاسازی شد. تعداد حشرات روی قسمت تیمار شده و شاهد پس از ۲ ساعت و ۴ ساعت قرارگیری در معرض غلظت‌های مختلف اسانس مورد شمارش قرار گرفتند.

1- Zandi-Sohani *et al.*

www.SID.ir

Archive of SID

درصد دورکنندگی با استفاده از رابطه‌ی ۱۰۰× $PR^{1} = (N_C - N_T / N_C + N_T)]$ به دست آمد که در این فرمول N_C تعداد حشرات روی نیمه کاغذ صافی شاهد و N_T تعداد حشرات روی نیمه کاغذ صافی تیمار و PR درصد دورکنندگی است.

کلیه‌ی آزمایشات در ژرمیناتور با شرایط دمایی ۲±۲۷ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و در تاریکی انجام شد.

تجزیه تحلیل آماری

آزمایشات زیست‌سنجی در قالب طرح کاملا تصادفی و در ۵ تکرار همراه با شاهد انجام شد. در آزمایشات سمیت تنفسی و تماسی درصد مرگ‌ومیر اصلاح‌شده طبق روش ابوت[2] (۱۹۲۵) اصلاح شد. مقادیر LC_{50} و LC_{90} با کمک نرم‌افزار SAS 6.12 به دست آمد (سس، ۱۹۹۷). برای مقایسه‌ی اثر غلظت‌های مختلف، تجزیه واریانس[3] با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد و در صورت معنی‌دار بودن، داده‌ها با استفاده از آزمون توکی[4] در سطح ۵٪ مقایسه میانگین شدند. داده‌های آزمایشات دورکنندگی با استفاده از تجزیه واریانس یک طرفه[5] و برای مقایسات چندتایی و روش تی‌تست[6] برای مقایسات دوتایی در نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل شده و میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح ۵ درصد مقایسه آماری شدند.

نتایج و بحث

از اسانس برگ نارنج ۲۰ ترکیب مختلف که جمعا ۹۹/۳۸٪ کل ترکیبات را تشکیل داده‌اند شناسایی شد (جدول ۱). این اسانس ترکیبی از ۱۲/۳ ٪ مونوترپن‌های هیدروکربنه، ۶۸/۲۸ ٪ مونوترپن‌های اکسیژنه، ۱/۱۷ ٪ سسکوئی‌ترپن هیدروکربنه و ۰/۶۸٪ سسکوئی‌ترپن اکسیژنه بود. شناسایی ترکیبات نشان داد که ترکیبات اصلی تشکیل دهنده‌ی اسانس برگ نارنج لینالول (۳۲/۴۱ ٪)، آلفاترپینئول (۱۶/۵۱ ٪)، نرول (۱۶/۴۹ ٪)، ژرانیل-استات (۸/۳۱ ٪)، میرسین (۵/۳۲ ٪) و نریل‌استات (۵/۳۰ ٪) بودند که در این بین لینالول، آلفاترپینئول، نرول و میرسین مونوترپن بودند. ترکیب لینالول که ترکیب اصلی در اسانس برگ نارنج در این پژوهش می باشد به عنوان مهم ترین ترکیب اسانس برگ این گیاه در مطالعه ماخول و همکاران[7] (۲۰۱۲) و همچنین مصدق و همکاران (۱۳۸۳) شناسایی شد.

بررسی‌های سارو و همکاران[8] (۲۰۱۳) نشان داد که عمده ترکیبات اسانس برگ نارنج در برگ‌های جوان و پیر، به ترتیب لینالول (۵۸/۲۱ ٪ و ۳۶/۰۳ ٪)، آلفاترپینئول (۷/۱۱ ٪ و ۱۲/۸۹ ٪) و ژرانیل‌استات (۴/۴۹ ٪ و ۸/۷۰ ٪) بود. مقایسه‌ی نتایج سارو با نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که ترکیبات عمده‌ی دو اسانس شبیه هم بوده و درصد ترکیبات اسانس در این تحقیق به درصد ترکیبات اسانس برگ‌های مسن نارنج در بررسی سارو و همکاران شباهت بیشتری دارد. بر اساس نتایج به دست آمده توسط مصدق و همکاران (۱۳۸۳) عمده ترکیبات موجود در اسانس برگ نارنج (متعلق به اواخر تابستان و در منطقه‌ی شمالی کشور) را لینالول (۳۸/۷۲ ٪)، لینالیل‌استات (۳۶/۵۲ ٪)، آلفاترپینئول (۸/۶۸ ٪) و ژرانیل‌استات (۳/۸ ٪) تشکیل داد. نوع ترکیبات شناسایی شده با ترکیبات اسانس تحقیق حاضر مشابهت دارد ولی مقادیر آن‌ها متفاوت است. این اختلاف ممکن است به علت تفاوت مناطق جغرافیایی و هم‌چنین تفاوت فصول باشد.

1-Percentage repellency
2-Abbott
3 -ANOVA
4 -Tukey
5 -One-way ANOVA
6 -T-test

7 -Makhoul *et al*.
8 - Sarrou *et al*.

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی اسانس برگ نارنج *C. aurantium*

ردیف	ترکیبات فرار	زمان بازداری (دقیقه)	شاخص بازداری آزمایش	شاخص بازداری استاندارد	درصد ترکیب
۱	آلفاپینن (Alpha pinene)	۱۳/۷۰۰	۹۴۶	۹۴۴	۰/۳۰
۲	بتاپینن (Beta pinene)	۱۵/۰۲۵	۹۸۶	۹۸۹	۰/۵۵
۳	میرسین (Myrcene)	۱۵/۳۵۰	۹۹۶	۹۹۲	۵/۳۲
۴	دلتا ۳ کارن (Delta 3 carene)	۱۶/۱۲۵	۱۰۱۵	۱۰۱۱	۰/۱۴
۵	لیمونن (Limonene)	۱۷/۰۰۸	۱۰۴۲	۱۰۳۹	۱/۰۵
۶	ترنس‌بتااسیمن (Trans beta ocimene)	۱۷/۲۵۰	۱۰۴۷	۱۰۴۵	۰/۶۴
۷	سیس‌بتااسیمن (Cis beta ocimene)	۱۷/۶۰۰	۱۰۵۵	۱۰۵۴	۳/۲۷
۸	ترپینولن (Terpinolene)	۱۹/۶۵۰	۱۰۹۹	۱۰۹۸	۱/۰۳
۹	لینالول (Linalool)	۲۰/۲۱۰	۱۱۱۱	۱۱۰۹	۳۲/۴۱
۱۰	ترپینئول۴ (Terpineol 4)	۲۴/۴۰۷	۱۲۰۱	۱۲۰۱	۰/۴۰
۱۱	آلفاترپینئول (Alpha terpineol)	۲۴/۴۵۸	۱۲۰۲	۱۲۰۰	۱۶/۵۱
۱۲	نرول (Nerol)	۲۶/۰۱۸	۱۲۳۵	۱۲۲۸	۱۶/۴۹
۱۳	لینالیل‌استات (Linalyl acetate)	۲۷/۷۰۸	۱۲۷۱	۱۲۷۰	۳/۰۵
۱۴	ژرانیول (Geraniol)	۲۸/۱۰۵	۱۲۷۸	۱۲۷۷	۲/۴۷
۱۵	نریل‌استات (Neryl acetate)	۳۲/۳۰۰	۱۳۶۶	۱۳۶۶	۵/۳۰
۱۶	ژرانیل‌استات (Geranyl acetate)	۳۳/۳۸۷	۱۳۹۰	۱۳۹۰	۸/۳۱
۱۷	ترنس‌کاروفیلن (Trans caryophyllene)	۳۶/۱۰۰	۱۴۴۹	۱۴۵۱	۰/۸۸
۱۸	بی‌سیکلوجرماکرن (Bicyclogermacrene)	۳۸/۷۲۵	۱۵۰۷	۱۴۹۹	۰/۲۹
۱۹	نرولیدول (Nerolidol)	۴۱/۴۰۸	۱۵۶۶	۱۵۶۶	۰/۵۱
۲۰	کاریوفیلن‌اکسید (Caryophyllene oxide)	۴۳/۱۷۳	۱۶۰۵	۱۵۹۶	۰/۱۷
	مونوترپن				۸۰/۵۸
	سسکوئی‌ترپن				۱/۵۶
	سایر ترکیبات				۱۶/۹۵
	مجموع				۹۹/۳۸

www.SID.ir

Archive of SID

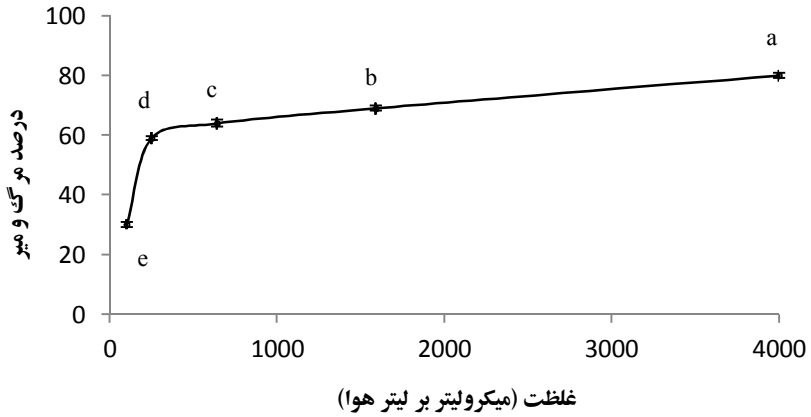
سمیت تنفسی اسانس برگ نارنج

پیش آزمایشات انجام شده روی شپشه‌آرد و سوسک کشیش نشان داد که تا غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر هوا مرگ‌ومیری در حشرات بالغ مشاهده نشد، لذا چنین نتیجه‌گیری شد که اسانس برگ نارنج برای حشرات مذکور سمیت تنفسی ندارد یا در صورت وجود نیاز به غلظت‌های بالاتر اسانس می‌باشد. مقدار LC_{50} محاسبه شده برای شپشه‌دندانه‌دار ۲۶۲/۹۳ میکرولیتر بر لیتر هوا بود (جدول ۲).

میانگین درصد مرگ ومیر حشرات کامل شپشه دندانه دار تحت تاثیر سمیت تنفسی اسانس نارنج در شکل ۱ نشان داده شده است (شکل ۱).

جدول ۲- سمیت تنفسی اسانس برگ *C. aurantium* روی حشرات کامل شپشه‌دندانه‌دار

آفت	تعداد	χ^2(df)	p-value	شیب± خطای استاندارد	LC_{50} (µL/L air) (حدود اطمینان ٪۹۵)	LC_{90} (µL/L air) (حدود اطمینان ٪۹۵)
شپشه دندانه‌دار	۶۰۰	۷/۰۸(۳)	۰/۰۶۹۳	۷۴۸۶۰±۰/۱۰	۲۶۲/۹۳ (۱۵۹/۱۱-۳۸۱/۲۱)	۱۳۵۴۶ (۶۳۵۴-۴۹۱۱۰)



شکل ۱- میانگین درصد مرگ و میر حشرات کامل شپشه‌دندانه‌دار در غلظت‌های مختلف اسانس برگ نارنج در آزمایشات تنفسی

الجابر[1] (۲۰۰۶) اثر تنفسی ۷ اسانس گیاهی مختلف را روی شپشه دندانه دار و شپشه آرد بررسی کرد و نتایج بررسی او نشان داد که شپشه دندانه دارحساسیت بیشتری به اسانس‌ها داشته و LC_{50} به دست آمده برای آن نسبت به شپشه آرد کمتر بود، که این نتایج با نتیجه‌ی تحقیق حاضر مشابهت دارد.

سمیت تماسی اسانس برگ نارنج

میزان LC_{50} محاسبه شده اسانس برگ نارنج برای شپشه‌دندانه‌دار، سوسک کشیش و شپشه‌آرد به ترتیب ۰/۱۱، ۰/۱۳ و ۱/۸۴ میکرولیتر بر سانتی‌مترمربع برآورد گردید. علیرغم وجود تفاوت در میزان LC_{50} حشرات، مقایسه‌ی حدود اطمینان مقادیر LC_{50} نشان داد که میزان LC_{50} محاسبه شده برای سوسک کشیش و شپشه دندانه دار تفاوت معنی‌داری باهم نداشت ولی مقدار LC_{50} اسانس برگ نارنج برای شپشه آرد بسیار بیشتر از دو حشره‌ی دیگر محاسبه شد و تفاوت معنی‌داری در این مقدار وجود داشت (جدول ۳).

1- Al-Jaber

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۳- سمیت تماسی اسانس برگ *C. aurantium* روی حشرات کامل سوسک کشیش، شپشه‌آرد و شپشه‌دندانه‌دار

حشره	تعداد	χ^2(df)	p-value	شیب±خطای استاندارد	LC_{50} (µL/cm^2) (حدود اطمینان ۹۵٪)	LC_{90} (µL/ cm^2) (حدود اطمینان ۹۵٪)
سوسک کشیش	۶۰۰	۱۳/۷۶(۳)	۰/۰۰۳۲	۴/۱۸±۰/۹۵	۰/۱۳ (۰/۰۹-۰/۱۹)	۰/۲۶ (۰/۱۸-۲/۱۰)
شپشه‌آرد	۶۰۰	۸/۳۱(۳)	۰/۰۳۹۹	۱/۷۱±۰/۲۹	۱/۸۴ (۱/۰۸-۳/۲۱)	۹/۳۸ (۴/۴-۱۱۲/۰۱)
شپشه‌دندانه‌دار	۶۰۰	۱۵/۹۶(۳)	۰/۰۰۱۲	۳/۶۳±۰/۹۳	۰/۱۱ (۰/۰۴-۰/۱۵)	۰/۲۶ (۰/۱۸-۵/۲۴)

مدکور و همکاران[1] (۲۰۱۳) نشان دادند که با افزایش غلظت اسانس های مورد مطالعه، تلفات شپشه دندانه دار افزایش یافت که مشابه روند ایجاد شده در این تحقیق است. در غلظت ۵۰۰ پی پی ام اسانس *Rhazya stricta* Decne.، *Lantana camara* L.، *Vernonia cinerea* Less ، *Withania somnifera* Dunal و *Argemone ochroleuca* Sweet. به ترتیب ۹۰، ۹۳/۳، ۸۵/۶، ۷۸/۹ و ۷۳/۳ درصد مرگ‌ومیر ایجاد کرد. در مقایسه‌ی بیشترین مرگ و میر ایجاد شده با *C. aurantium* (۹۳ درصد) در بالاترین غلظت (۰/۲۵ میکرولیتر بر سانتی‌مترمربع) برای شپشه‌دندانه‌دار با اسانس‌های به کار رفته در آزمایشات مدکور و همکاران در بالاترین غلظت می‌توان دریافت که سمیت این اسانس کمتر از اسانس‌های به کار رفته در آزمایشات آنها بود.

آزمون تجزیه واریانس نشان داد که بین میانگین مرگ‌ومیر تصحیح شده غلظت‌های مختلف اسانس برگ نارنج روی سوسک کشیش ($P<0/05$؛ $F=37/32$؛ $df=5$و۲۹)، شپشه‌آرد ($P<0/05$؛ $F=31/732$؛ $df=5$و۲۹) و شپشه‌دندانه‌دار ($P<0/05$؛ $F=18/424$؛ $df=5$و۲۹) اختلاف معنی‌داری وجود داشت. شکل ۲ روند مرگ‌ومیر سه آفت مورد آزمایش را در غلظت‌های مختلف اسانس برگ نارنج نشان می‌دهد. با افزایش غلظت اسانس درصد مرگ‌ومیر حشرات افزایش یافته و در بالاترین غلظت حداکثر میزان مرگ‌ومیر حشرات بالغ مشاهده شد.

دورکنندگی اسانس برگ نارنج

نتایج آزمایشات دورکنندگی اسانس برگ نارنج روی حشرات مورد آزمایش پس از ۲ و ۴ ساعت در جدول ۴ نشان داده شده است. این نتایج نشان داد که با افزایش غلظت، دورکنندگی افزایش یافت و بیش‌ترین میزان دورکنندگی مربوط به بالاترین غلظت بود.

غلظت‌های پایین این اسانس اثر دورکنندگی کمی داشتند به طوری که درصد دورکنندگی اسانس برگ نارنج پس از ۲ ساعت برای سوسک کشیش در غلظت‌های پایین‌تر از $1/194\times10^{-3}$ منفی بود و دورکنندگی مشاهده نشد (جدول ۴). بیش‌ترین دورکنندگی اسانس برگ نارنج روی شپشه‌آرد و پس از آن به ترتیب روی شپشه‌دندانه‌دار و سوسک کشیش مشاهده شد. نتایج آزمون تجزیه واریانس نشان داد که بین سه آفت مورد آزمایش از نظر دورکنندگی اسانس برگ نارنج برای هر دو زمان ۲ ساعت ($P<0/05$؛ $F=14/202$ ؛ $df=2$و۷۴) و ۴ ساعت ($P<0/05$ ؛ $F=4/304$ ؛ $df=2$و۷۴) اختلاف معنی‌داری وجود داشت. اگرچه میانگین دورکنندگی ایجاد شده در دو زمان ۲ و ۴ ساعت اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p=0/29$; $t=0/06$).

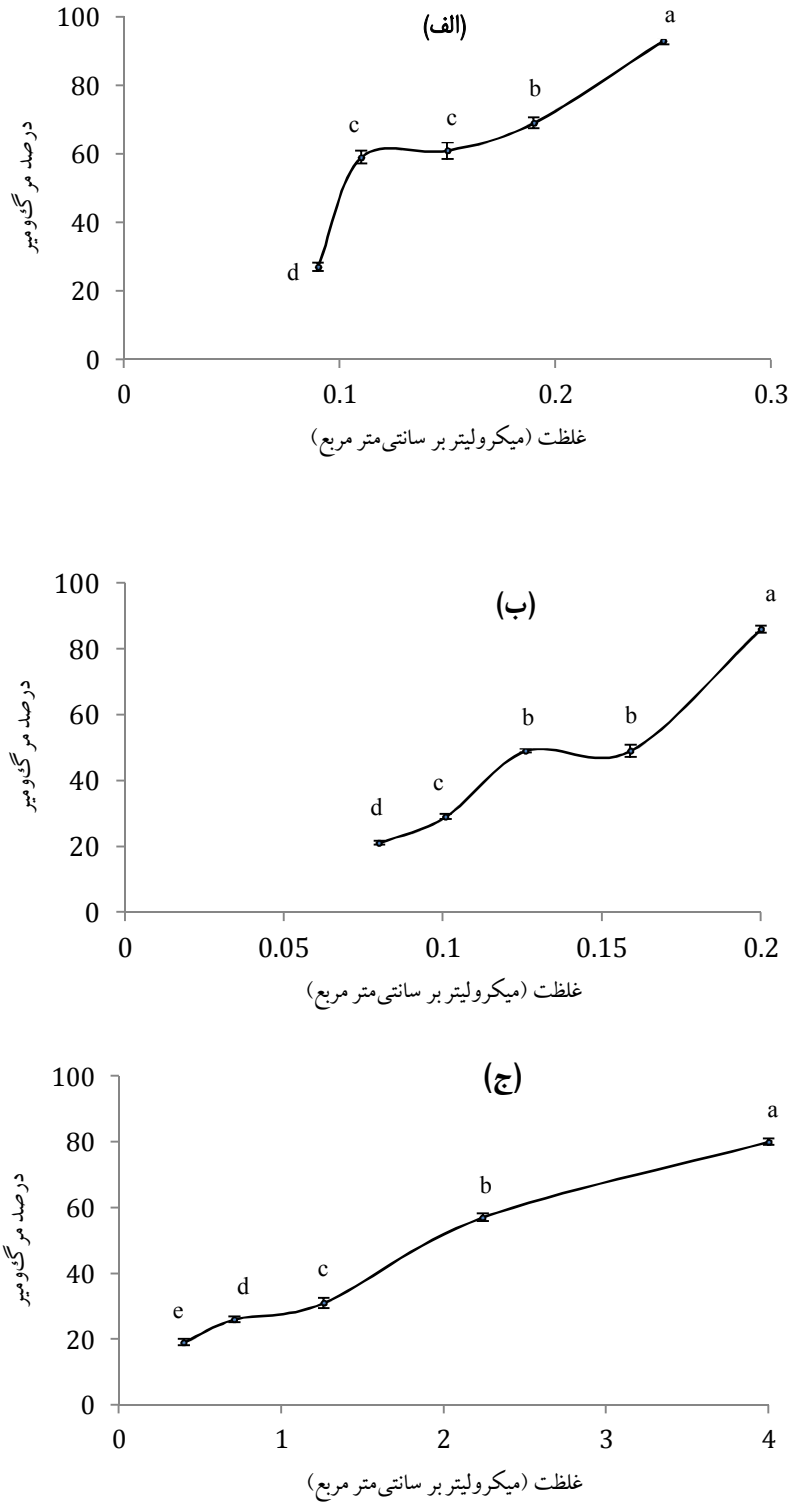
2- Madcour *et al.*

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲- میانگین درصد مرگ‌ومیر حشرات کامل شپشه دندانه دار(الف)، سوسک کشیش (ب) و شپشه‌آرد (ج) در غلظت‌های مختلف اسانس برگ نارنج در آزمایشات تماسی

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ٤- دورکنندگی اسانس برگ *C. aurantium* روی حشرات کامل سوسک کشیش، شپشه‌آرد و شپشه‌دندانه‌دار

غلظت ($\mu L/cm^2$)

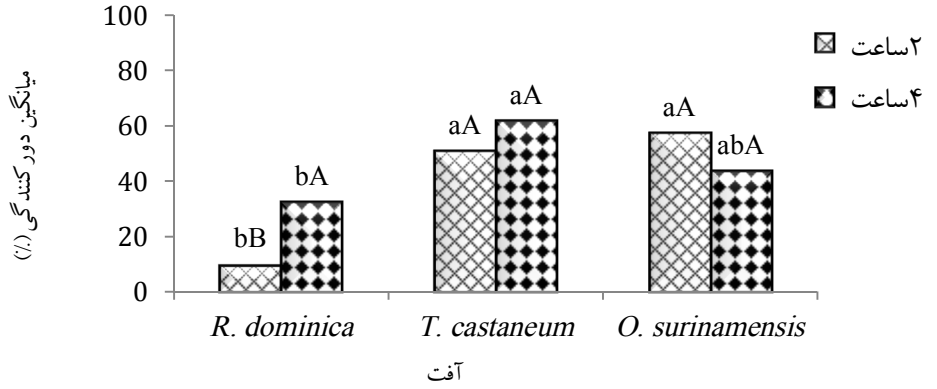
آفت	تعداد	زمان	۱/۱۹۴×۱۰$^{-۵}$	۱/۱۹۴×۱۰$^{-۴}$	۱/۱۹۴×۱۰$^{-۳}$	۱/۱۹۴×۱۰$^{-۲}$	۱/۱۹۴×۱۰$^{-۱}$
سوسک‌کشیش	۵۰۰	۲ساعت	-۱۲±۵/۸۳^{b}	-۸±۶/۶۳^{b}	-۶±۵/۰۹^{b}	۲۶±۵/۰۹^{a}	۴۸±۶/۶۳^{a}
		۴ساعت	۱۴±۲/۴۴^{b}	۲۰±۴/۴۷^{b}	۳۴±۵/۰۹^{ba}	۴۶±۵/۰۹^{a}	۴۸±۷/۹۹^{a}
شپشه‌آرد	۵۰۰	۲ساعت	-۲۶±۱۳/۶۳^{a}	۵۲±۴/۸۹^{b}	۵۴±۵/۰۹^{bc}	۸۴±۲/۴۴^{cd}	۹۰±۴/۴۷^{d}
		۴ساعت	-۱۴±۱۶/۹۱^{a}	۶۴±۵/۰۹^{b}	۶۶±۵/۰۹^{b}	۹۶±۲/۴۴^{b}	۹۶±۲/۴۴^{b}
شپشه‌دندانه‌دار	۵۰۰	۲ساعت	۲۴±۱۴/۳۵^{c}	۳۸±۵/۸^{cb}	۶۴±۵/۰۹^{ba}	۷۶±۵/۰۹^{a}	۸۴±۵/۰۹^{a}
		۴ساعت	-۴±۸/۱۲^{b}	۶±۵/۰۹^{b}	۶۲±۵/۸^{a}	۷۰±۷/۰۷^{a}	۸۴±۵/۰۹^{a}

حروف مشترک در هر سطر بر اساس آزمون توکی در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری باهم ندارند.

در غلظت ۱/۱۹۴×۱۰$^{-۱}$ به ترتیب برای شپشه‌آرد، شپشه‌دندانه‌دار و سوسک کشیش میزان دورکنندگی ۹۰، ۸۴ و ۴۸ درصد پس از ۲ ساعت، و ۹۶، ۸۴ و ۴۸ درصد پس از ۴ ساعت محاسبه شد.

بررسی کوکو و چاندرپایتا (۲۰۰۹) نشان داد که اثر دورکنندگی اسانس *L. cubeba* روی *S. zeamais* و *T. castaneum* با غلظت رابطه‌ی مستقیم دارد و *T. castaneum* در تمام غلظت‌ها واکنش بیشتری از خود نشان داد که مشابه نتایج حاصل از پژوهش حاضر می‌باشد.

شکل ۳ نشان می‌دهد پس از ۲ ساعت قرارگیری در معرض اسانس برگ نارنج اختلاف دورکنندگی ایجاد شده بین شپشه‌آرد و شپشه‌دندانه‌دار معنی‌دار نبود ولی دورکنندگی ایجاد شده برای سوسک کشیش به طور معناداری کمتر از دو آفت دیگر بود. پس از ۴ ساعت قرارگیری در معرض اسانس هم فقط بین سوسک کشیش و شپشه‌آرد تفاوت دورکنندگی، معنی‌دار بود. همین‌طور این شکل نشان می‌دهد که در هر دو زمان ۲ و ۴ ساعت بیشترین دورکنندگی مربوط به شپشه‌آرد بود.



شکل ۳- مقایسه دورکنندگی اسانس برگ نارنج برای سه آفت مدل بین دو زمان ۲ ساعت و ٤ ساعت (حروف کوچک: مقایسه معنی‌داری دورکنندگی بین حشرات مختلف در یک زمان، حروف بزرگ: مقایسه معنی‌داری دورکنندگی بین دو زمان روی یک آفت)

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID

بر اساس نتایج این تحقیق اسانس برگ نارنج علی‌رغم داشتن ترکیباتی چون لینالول و مونوترپن‌های دیگر با خواص حشره‌کشی بالا و اثبات شده، علیه سوسک کشیش و شپشه آرد سمیت تنفسی نداشت و روی شپشه دندانه دار سمیت کمی نشان داد. یک حجم از این اسانس می‌توانست ۵۰ درصد حشرات شپشه‌دندانه‌دار را در حجم تقریبا ۳۸۰۳ برابری از هوا کنترل کند که این آمار نمی‌تواند از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه باشد. این موضوع ممکن است به علت عدم وجود مونوترپن ۱و۸ سینئول، برهمکنش بین اجزای اسانس و یا تجزیه سریع ترکیبات موثر اسانس قبل از رسیدن به محل هدف باشد. اگرچه این اسانس می‌تواند جهت محافظت محصولات انباری در برابر سوسک کشیش، شپشه‌آرد و شپشه‌دندانه‌دار از طریق اثرات تماسی و دورکنندگی مورد توجه قرار گیرد.

سپاس‌گزاری

بدین وسیله از مدیریت امور پژوهشی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان به خاطر حمایت‌های مالی جهت انجام این طرح پژوهشی و همچنین از جناب آقای دکتر محمد حجتی عضو محترم هیات علمی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین به خاطرکمک در شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس برگ نارنج تشکر و قدردانی می گردد.

منابع

۱. باقری، ف.، محمدی‌شریف، م.، هادی‌زاده، ع. و امیری‌بشلی، ب. ۱۳۹۰. اثرات زیستی اسانس اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*) روی شپشه آرد. فصل‌نامه‌ی داروهای گیاهی،۳: ۱۷۱-۱۷۸.

۲. رخشانی، ۱۳۸۱. اصول سم‌شناسی (آفت‌کش‌ها). انتشارات فرهنگ، ۳۷۶ ص.

۳. مصدق، م.، کمالی‌نژاد، م.، دهموبد شریف‌آبادی، آ. و اصفهانی، ب. ۱۳۸۳. بررسی و مقایسه روغن فرار حاصل از برگ سه گیاه نارنج، لیموترش و نارنگی. فصلنامه‌ی گیاهان دارویی، ۱۱: ۲۵-۳۰.

4. Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology, 35: 159-166.

5. Al-Jabr, A. 2006. Toxicity and repellency of seven plant essential oils to *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrioidae). Scientific Journal of King Faisal University (Basic and Applied Sciences), 7(1):1427-1432.

6. Arthur, F.H. 1999. Evaluation of an encapsulated formulation of cyfluthrin to control *Sitophilus oryzae* L. on stored wheat. Journal of Stored Product Research, 35: 159- 166.

7. Haque, M.A., Nakakita, H., Ikenaga, H., and Sota, N. 2000. Development inhibiting activity of some tropical plants against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Col.: Curculionidae). Journal of Stored Products Research, 36: 281-287.

8. IBM Corp. Released. 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp.

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

www.SID.ir

Archive of SID

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

11. Johnson, J.A., Vail, P.V., Soderstrom, E.L., Curtis, C.E., Brandl, D.G., Tebbets, J.S., and Valero, K.A. 1998. Integration of nonchemical postharvest treatments for control of navel orangeworm (Lep.: Pyralidae) and Indian meal moth (Lep.: Pyralidae) in walnuts. Journal of Economic Entomology, 91: 1437-1444.

12. Ko Ko, J.W., and Chandrapatya, A. 2009. Repellency, fumigant and contact toxicities of *Litsea cubeba* (Lour.) Persoon against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). Kasetsart Journal: Natural Science, 43: 56-63.

13. Leesch, J.G. 1995. Fumigant action of acrolein on stored product insects. Journal of Economic Entomology, 88(2): 326-330.

14. Madkour, M.H., Zaitoun, A.A., and Singer, F.A. 2013. Repellent and toxicity of crude plant extracts on saw-toothed grain beetle (*Oryzaephilus surinamensis* L.). Journal of Food, Agriculture and Environment, 11(2): 381-384.

15. Makhoul, S., Bakkour, Y.El., Nakat, H., and El-Oman, F. 2012. The Lebanese *Citrus aurantium*: a promising future in medicinal phytochemistry. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry, 1(4): 63-66.

16. Matthews, G.A. 1993. Insecticide application in stores. Application Technology for Crop Protection. 1: 49-53.

17. Park, B.S., Lee, S.E., Choi, W.S., Jeong, C.Y., Song, Ch., and Cho, K.Y. 2002. Insecticidal and acaricidal activity of piperonaline and piperoctadecalidine derived from dried fruits of *Piper longum* L. Crop Protection, 21: 249-251.

18. Roy, A., and Saraf, S. 2006. Limonoids: Overview of significant bioactive triteroenes distributed in plants kingdom. Biological and Pharmaceutical Bulletin, 29:191-201.

19. Sarrou, E., Chatzopoulou, P., Dimassi-Theriou, K., and Therios, I. 2013. Volatile constituents and antioxidant activity of peel, flowers and leaf oils of *Citrus aurantium* L. growing in Greece. Molecules, 18: 10639-10647.

20. SAS Institute. 1997. SAS/STAT software: changes and enhancements through release 6.12. SAS Institute Inc, Cary.

21. Talukder, F.A., and Howse, P.E. 1993. Deterrent and insecticidal effects of extracts of pithraj, *Aphanamixis polystachya* (Meliaceae), against *Tribolium castaneum* in storage. Journal of Chemical Ecology, 19: 2463-2471.

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

23. Zandi-Sohani, N., Hojjati, M., and Carbonell-Barrachina, A.A. 2012. Insecticidal and repellent activities of the essential oil of *Callistemon citrinus* (Myrtaceae) against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). Journal of Neotropical Entomology, 42(1): 89-94.

www.SID.ir

Archive of SID

Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture), 38(4), Winter, 2016

Chemical composition and insecticidal effects of essential oil from *Citrus aurantium* L. leaves on three major stored product pests

Sh. Bande-Borujeni[1]*, N. Zandi-Sohani[2], and L. Ramezani[3]

1. Former M.Sc. student of Entomology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran.
2. ***Corresponding Author:** Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran (nzandisohani@yahoo.com).
3. Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran.

Received: 4 May, 2015 Accepted: 29 August, 2015

Abstract

In order to replace pesticides with less hazardous compounds, plant essential oils are widely investigated. In this study, the effects of essential oil of *Citrus aurantium* L. leaves was tested for fumigant, contact and repellent effects against adults of *Rhyzopertha dominica*, *Tribolium castaneum* and *Oryzaephilus surinamensis*. The experiments were conducted in a completely randomized design with 5 replications in 27 ±2°C, 65±5% R.H. and dark conditions. The essential oil was extracted using Clevenger-type apparatus and analyzed by GC-MS. Fumigant toxicity was studied in 50 mL containers and contact toxicity experiments were performed using petri-dish method and five different concentrations and the mortality was investigated after 24 h. Repellency of the oils was studied using the choice bioassay system in petri-dish with five concentrations, at 2 and 4 h exposure times. Analysis of chemical compositions showed high amounts of monoterpenes in essential oil, mainly linalool (32.41 %). Probit analysis showed that the LC_{50} of *C. aurantium* essential oil against *O. surinamensis* was 262.93 µL/L air but there was no fumigant toxicity against *R. dominica* and *O. surinamensis*. Results of contact toxicity showed that *C. aurantium* had more toxicity for *R. dominica* (LC_{50}=0.13 µl/cm^2) and *O. surinamensis* (LC_{50}=0.11 µl/cm^2) than *T. castaneum* (LC_{50}=1.84µL/cm^2). The percentage of repellency (PR) increased with increasing exposure time and concentration of the essential oils. After 2h exposure time, the PR of *C. aurantium* oil was 48, 90 and 84 % at the highest concentration of essential oil (1.194×10^{-1} µL/cm^2) for *R. dominica, T. castaneum* and *O. surinamensis,* respectively.

Keywords: Stored product pests, Fumigant toxicity, Contact toxicity, Repellency, Leaf essential oil of Citrus aurantium

www.SID.ir