Archive of SID

تحقیقات آفات گیاهی
۷۲-۶۱: (۲) ۵- ۱۳۹۴

سمیت تنفسی و اثر دورکنندگی اسانس پوست میوه لیمو شیرین *Citrus Limetta* (L.) روی چهار آفت سخت بالپوش انباری

محمود محمدی شریف[1]* و مهدی کبیری رئیس آباد[1]
۱-گروه گیاه پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

(تاریخ دریافت: ۹۳/۵/۱ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۲/۲۳)

چکیده

در این تحقیق سمیت تنفسی و دورکنندگی اسانس پوست میوه لیمو شیرین *Citrus limetta* روی شپشه دندانه‌دار *Oryzaephilu ssurinamensis*، شپشه برنج *Sitophilus oryzae*، سوسک کشیش *Rhizopertha dominica* و شپشه آرد *Tribolium confusum* مورد بررسی قرار گرفت. در آزمایش‌های سمیت تنفسی علاوه بر زیست سنجی و تجزیه پروبیت اثر اسانس روی آفات، کارایی اسانس با مبنا قرار دادن دو شاخص غلظت و مرگ‌ومیر موثر نیز برآورد شد. در روش اول پایین‌ترین غلظت لازم برای ایجاد مرگ‌ومیر موثر (بیش از ۹۰ درصد) روی هر کدام از گونه‌ها بدست آمد. در روش دوم حساسیت متفاوت گونه‌ها از طریق مقایسه کارایی دو غلظت پایین (۵۰-۰ درصد مرگ‌ومیر) و بالا (۱۰۰-۵۰ درصد مرگ‌ومیر) آزمایش شد. قابلیت دورکنندگی اسانس با استفاده از چهار غلظت ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴۱ و ۰/۸۳µL/cm² برآورد شد. میزان LC_{50} اسانس برای آفات ذکر شده به‌ترتیب ۲۰۸/۹، ۲۴۸/۹۹، ۳۲۸/۶۶ و۲۵۷/۱۲ µl/L air برآورد شد که نشان دهنده حساسیت بیشتر شپشه دندانه‌دار بود. در آزمایش‌های شاخص غلظت، مقادیر بدست آمده بترتیب ۶۰۰ (۱۰۰٪ مرگ‌ومیر)، ۶۲۵ (۹۵٪ مرگ‌ومیر)، ۷۰۰ (۱۰۰٪ مرگ‌ومیر) و ۳۷۵ µl/L air (۹۲/۵٪ مرگ‌ومیر) بود. در آزمایش‌های شاخص مرگ‌ومیر، غلظت پایین (µl/L air۱۷۵) به‌ترتیب باعث ۱۳/۱±۴۲/۵، ۰±۲۰، ۶/۴±۱۵ و ۹/۴±۱۲/۵ درصد مرگ‌ومیر و غلظت بالا (µl/L air ۳۵۰) به‌ترتیب باعث ۴/۷±۷۲/۵، ۶/۵±۶۵، ۸/۵±۵۲/۵ و ۸/۵±۷۲/۵ درصد مرگ‌ومیر شدند. میانگین دورکنندگی ناشی از چهار غلظت در سه ساعت پس از تیمار برای آفات ذکر شده به‌ترتیب ۱۵/۹±۶۶/۶، ۹/۶±۴۹/۹، ۱/۶±۴۸/۳ و ۴/۱±۸۳/۳ درصد بود. نتایج این تحقیق نشان دهنده کارایی متوسط اسانس پوست میوه لیمو شیرین برای کنترل این سخت‌بالپوشان آفت محصولات انباری است.

واژه‌های کلیدی: آفات انباری، اسانس، دورکنندگی، سمیت تدخینی

*نویسنده مسئول: msharif1353@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

یکی از مسائل مهم در نگه‌داری محصولات انباری وجود آفات انباری است. پراکنش گسترده در جهان، قدرت تکثیر بالا و چند خوار بودن بسیاری از این آفات، علت عمده‌ی بروز خسارت بالای آنها بوده تا جایی که در انبارهای سنتی که روش‌های مبارزه کارایی چندانی ندارند، میزان خسارت ایجاد شده توسط آنها تا ۱۰۰ درصد نیز گزارش شده است (Arthur, 1992). برای کنترل آفات اغلب از سموم شیمیایی مصنوعی استفاده می‌شود. مصرف گسترده سموم شیمیایی مشکلاتی از جمله مقاومت حشرات به سموم، آلودگی محیط زیست به مواد شیمیایی پایدار و انتقال باقی مانده‌های سموم به مصرف کننده نهایی که بیشتر انسان است، پدید می‌آورد. محافظت از گیاهان و فراورده‌های گیاهی با در نظر گرفتن ملاحظات زیست محیطی نیاز به جستجوی نسل جدیدی از آفت‌کش‌ها را ضرورت بخشیده است.

یکی از منابع مهم برای تولید آفت‌کش‌های جدید، مواد تولید شده توسط گیاهان می‌باشند (Park *et al*., 2003). آفت‌کش‌های گرفته شده از گیاهان روی انواع آفات اثر دارند و تاثیر منفی آنها روی موجودات غیر هدف و محیط زیست بسیار کم است. این ترکیبات می‌توانند بدون ایجاد صدمات جانبی به محیط زیست و زنجیره غذایی انسان، طول مدت نگه‌داری مواد غذایی را افزایش دهند (Kim *et al*., 2003). آفت‌کش‌های گیاهی به راحتی در طبیعت تجزیه شده و به‌دلیل عدم استفاده آنها به صورت گسترده، خطر مقاومت آفات به آن‌ها کمتر وجود دارد (Isman, 2000). قسمت اعظم مواد معطر موجود در گیاهان را اسانس‌ها تشکیل می‌دهند (Hornok, 1992). این مواد اثرات کشندگی مختلفی روی آفات دارند. به‌عنوان مثال، ترپنوئید-ها دارای اثرات سمی یا بازدارندگی، تغذیه و تخمگذاری و نیز خاصیت دورکنندگی در حشرات گیاه‌خوار می‌باشند (Grainge and Ahmed, 1998).

اسانس‌های گرفته شده از گونه‌های مختلف جنس *Citrus* به طور گسترده‌ای در ترکیبات دارویی همچنین به عنوان مکمل غذایی و مواد آرایشی کاربرد دارند (Kondo *et al*., 2000; Misharina and Samusenki, 2008). در بررسی اجزای شیمیایی اسانس لیمو شیرین *C. limetta* مشخص شد مجموع ۴۶ ترکیب در اسانس این گیاه وجود دارد که بیشترین درصد مربوط به ترکیبات لیمونن[1]، لینالول، سابینن[2] و برگامول[3] می‌باشد (María *et al*., 2012).

در میان راسته های مختلف حشرات، راسته‌ی سخت بالپوشان بیشترین فراوانی را دارند (Asemi *et al*., 2003). تحقیقات نشان داده که اسانس به‌دست آمده از پوست میوه مرکبات ویژگی حشره‌کشی داشته و این خاصیت روی حشرات آفت محصولات انباری از جمله سوسک کشیش *Rhizopertha dominica* (Fab.) (Col: Bostrichidae)، شپشه برنج *Sitophilus oryzae* (L.) (Col.: Cuculionidae)، شپشه آرد *Tribolium confusum* Du val (Col.: Tenebrionidae)، سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Col.: Bruchidae) و شپشه گندم *Sitophilus granarius* (L.) (Col.: Curculionidae) به اثبات رسیده است (Tripathi *et al*., 2003; Mahmoudvand *et al*., 2011). شپشه دندانه‌دار *Oryzaephilus surinamensis*L. (Col.: Silvanidae)، شپشه برنج *S.oryzae*، سوسک کشیش *R. dominica* و شپشه آرد *T. Confusum* چهارسخت بالپوش آفت انباری هستند که ضمن تغذیه از مواد انباری و به جا گذاشتن فضولات خود خسارت جبران ناپذیری را به محصولات وارد می‌کنند. در این تحقیق سمیت تدخینی و اثرات دورکنندگی اسانس بدست آمده از پوست میوه لیمو شیرین *C. Limetta* روی این چهار آفت انباری مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

پرورش حشرات

آفات انباری مورد آزمایش در این تحقیق، *O. surinamensis*، *S. oryzae*، *R.* dominica و *T.*

1.limonene
2.sabinene
3.bergamol

www.SID.ir

Archive of SID

confusum بودند. حشرات در دستگاه ژرمیناتور بادمای ۲۷±۲°C و رطوبت نسبی ۶۵±۵ درصد و تاریکی مطلق پرورش داده شدند. شپشه دندانه‌دار، شپشه برنج، سوسک کشیش و شپشه آرد به‌ترتیب با استفاده از مخلوط گندم و مخمر، دانه‌های برنج، مخلوط گندم و مخمر و مخلوط آرد سفید و مخمر (۱۰:۱)، به عنوان منبع غذایی در ظروف پلاستیکی شفاف به ابعاد ۸×۱۵×۲۰ cm پرورش یافتند.

تهیه اسانس

میوه لیمو شیرین مورد آزمایش از باغ‌های سم پاشی نشده استان مازندران تهیه شد. پس از انتقال به آزمایشگاه، پوست آن کنده شده و در دمای اتاق خشک شدند. در ادامه پوست‌های خشک شده بوسیله آسیاب برقی کاملاً پودر شدند. در هر مرتبه اسانس‌گیری، از ۶۰ گرم پودر با ۶۰۰ میلی لیتر آب مقطر استفاده شد. اسانس‌گیری به‌وسیله دستگاه کلونجر شیشه‌ای و در دمای ۱۰۰°C به مدت سه ساعت انجام شد. اسانس گرفته شده با استفاده از سولفات سدیم آب‌گیری شد و تا زمان استفاده در ظروف شیشه‌ای تیره با روپوش آلومینیومی در یخچال نگه داری شد.

آزمایش‌های زیست سنجی

آزمایش‌های زیست سنجی در شیشه‌هایی به حجم ۴۰ میلی لیتر انجام شد. از کاغذ صافی واتمن شماره ۱ [۱] با ابعاد ۱×۲ cm به عنوان منبع متصاعد کننده اسانس استفاده شد. در روش اول برای بررسی کارایی اسانس، پایین‌ترین غلظت لازم برای ایجاد مرگ‌ومیر موثر (بیش از ۹۰ درصد) برای هر کدام از آفات به‌دست آمد. در روش دوم دو غلظت ثابت پایین (۵۰-۰ درصد مرگ‌ومیر) و بالا (۱۰۰-۵۰ درصد مرگ‌ومیر) برای همه‌ی گونه‌ها به‌دست آمد تا از طریق مقایسه‌ی مرگ‌ومیر ناشی از غلظت‌های ثابت، امکان براورد حساسیت متفاوت احتمالی گونه‌ها امکان‌پذیر باشد. در آزمایش دیگری به منظور برآورد غلظت کشنده ۵۰ درصد اسانس، پس از انجام یکسری آزمایش مقدماتی ابتدا غلظت‌های بالا و پایین اسانس روی هر کدام از آفات به‌دست آمد و سپس سه غلظت بین این غلظت‌ها با فواصل لگاریتمی تهیه شد و آزمایش‌های اصلی با پنج غلظت و در نظر گرفتن تیمار شاهد انجام گرفت. به‌وسیله میکروپیپت کاغذ صافی با غلظت‌های مختلف اسانس‌آغشته شد و در قسمت درونی درب ظروف محکم شد. سپس برای هر کدام از غلظت‌ها، تعداد ۱۰ عدد حشره یک تا دو روزه از هر کدام از آفات درون شیشه‌ها قرار گرفته و درب ظروف با پارافیلم غیر قابل نفوذ شد. تعداد حشرات مرده و زنده پس از گذشت ۲۴ ساعت از تیمار شمرده و ثبت شد. این آزمایش‌ها چهار مرتبه تکرار شدند.

اثر دورکنندگی اسانس

اثر دورکنندگی اسانس مشابه روش تالوکدر و هوس (Talukder and Howse, 1994) بررسی شد. کاغذ صافی واتمن به قطر ۸ سانتی‌متر به دو بخش مساوی بریده شد. غلظت‌های مختلف اسانس در ۱۵۰ میکرولیتر استون حل شدند تا چهار غلظت نهایی ۰/۱، ۰/۲، ۰/۴۱ و ۰/۸۳μL/cm² به‌دست آید. نیمی از کاغذ صافی به غلظت-های مختلف اسانس و نیم دیگر به استون (شاهد) آغشته شد. پس از گذشت ۱۰ دقیقه و تبخیر کامل استون، دو قسمت کاغذ صافی به هم متصل شده و کف پتری به قطر دهانه ۸ و ارتفاع ۲ سانتیمتر قرار گرفتند. سپس برای هر غلظت، تعداد ۱۰ عدد حشره کامل یک تا دو روزه در مرکز کاغذ صافی رها شدند. در ادامه تعداد حشرات موجود در هر یک از دو قسمت پس از گذشت ۱، ۲ و ۳ ساعت شمرده و درصد دورکنندگی با استفاده از معادله $PR = \frac{Nc-Nt}{Nc+Nt} \times 100$ (Obeng-Ofori, 1995) به‌دست آمد. در این معادله Nc، تعداد حشرات روی سطح تیمار نشده و Nt، تعداد حشرات روی سطح تیمار شده است. بر اساس یک تقسیم‌بندی قراردادی (Viglaianco *et al.*, 2008)، میانگین درصد دورکنندگی به شش گروه 0-I-II-III-IV-V تقسیم می-شود. درصد دورکنندگی در این گروه‌ها به‌صورت زیر است: (0) ۰/۱-۰ ،>۰/۰۱ ،(I)۲۰-۰/۱ ،(II)۲۰/۱-۴۰ ،(III)۴۰/۱-۶۰ ،(IV)۶۰/۱-۸۰ و (V)۸۰/۱-۱۰۰. این آزمایش-

4.whatman N°1

www.SID.ir

Archive of SID

ها برای هر کدام از غلظت‌ها و هر کدام از آفات سه بار تکرار شدند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

در صورت وجود مرگ‌ومیر در شاهد، درصد مرگ-ومیر تیمارها با فرمول ابوت تصحیح شدند (Abbott, 1995). تجزیه پروبیت داده‌های زیست سنجی با استفاده از نرم افزار SPSS 16.0 انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون LSD همین نرم افزار صورت گرفت. نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel رسم شدند.

نتایج و بحث

سمیت تدخینی

هدف از اولین آزمایش‌ها تعیین حداقل غلظت‌ها برای ایجاد بالاترین میزان کنترل بود. نتایج نشان داد که برای از بین بردن بیش از ۹۰ درصد حشرات کامل شپشه دندانه‌دار، شپشه برنج، سوسک کشیش و شپشه آرد به‌ترتیب ۶۰۰، ۶۲۵، ۷۰۰ و ۳۷۵ µl/L air از اسانس لیمو مورد نیاز است (جدول ۱). جهت دست یافتن به این سطح از کنترل، کمترین و بیشترین غلظت مورد نیاز به‌ترتیب مربوط به شپشه آرد و سوسک کشیش بود.

در روش دوم، دو ثابت غلظت برای همه گونه‌ها در نظر گرفته شد تا از طریق مرگ‌ومیر ناشی از این غلظت‌ها مقایسه آماری حساسیت احتمالی گونه‌ها امکان پذیر باشد. پس از انجام آزمایش‌های مقدماتی، غلظت پایین، ۱۷۵ و غلظت بالا، ۳۵۰ میکرولیتر بر لیتر هوا انتخاب شد. مرگ-ومیر ناشی از غلظت پایین در گونه‌های ذکر شده به‌ترتیب ۴۲/۵، ۲۰، ۱۵ و ۱۲/۵٪ بود. نتایج نشان داد که کارایی غلظت پایین روی شپشه دندانه‌دار از سایر گونه‌ها بیشتر بوده و شپشه آرد کمترین حساسیت را داشت. با وجود تفاوت قابل توجه میزان مرگ‌ومیر (از لحاظ عددی) در شپشه دندانه‌دار و شپشه برنج، مرگ‌ومیر ناشی از غلظت پایین در مورد این دو گونه (از لحاظ آماری و در سطح ۵ درصد) معنی‌دار نبود (شکل ۱). مرگ‌ومیر ناشی از غلظت بالا روی این چهار گونه به‌ترتیب ۷۲/۵، ۶۵، ۵۲/۵ و ۷۲/۵٪ بود.

در این غلظت اسانس، حشرات کامل سوسک کشیش نسبت به سه گونه دیگر حساسیت کمتری نسبت به اسانس نشان دادند و بیشترین میزان مرگ‌ومیر در حشرات کامل شپشه دندانه‌دار و شپشه آرد مشاهده شد. با این حال میزان مرگ‌ومیر در هیچکدام از چهار گونه از لحاظ آماری با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشت. به‌نظر می‌رسد که حساسیت شپشه آرد وابستگی زیادی به غلظت مورد استفاده دارد چرا که با دو برابر شدن غلظت، میزان مرگ‌ومیر حشرات کامل این گونه ۵/۸ برابر شد. این شاخص برای سه گونه شپشه دندانه‌دار، شپشه برنج و سوسک کشیش به‌ترتیب ۱/۷، ۳/۲۵ و ۳/۵ برابر بود.

در سطح LC_{50} شپشه دندانه‌دار و سوسک کشیش به-ترتیب بیشترین و کمترین حساسیت را در برابر اسانس نشان دادند (جدول ۲). با لحاظ محدوده اطمینان ۹۵ درصد، شپشه دندانه‌دار و شپشه برنج حساسیت مشابهی داشتند. با این حال حساسیت شپشه آرد به‌طور معنی‌داری کمتر از گونه اول بود اما با گونه دوم اختلاف معنی‌داری نداشت.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۱- میانگین درصد مرگ‌ومیر ناشی از اسانس پوست میوه لیمو شیرین روی چهار سخت بالپوش آفت انباری

Table 1. Mean percentage mortality caused by essential oil of sweet lemon peels against four coleopteran stored product pests

Pest	Concentration (µl/L air)	Mortality%
Oryzaephilus surinamensis	600	90±5^{ns*}
Sitophilus oryzae	625	100±0
Rhyzopertha dominica	700	100±0
Tribolium confusum	375	100±0

*ns: No significant ($p<0.05$)

جدول ۲- تجزیه پروبیت سمیت تنفسی اسانس پوست میوه لیمو شیرین روی چهار سخت بالپوش آفت انباری

Table 2. Probit analysis of fumigant toxicity of sweet lemon essential oil toward four coleopteran stored product pests

Pest	Number	LC_{50}µl/L air (95% Confidence limits)	LC_{90}µl/L air (95% Confidence limits)	Slope (±SE)	χ^2 (df)	P-value
Oryzaephilus Surinamensis	240	208.29 (177.5-242.3)	563.31 (441.4-839.2)	2.96 (0.41)	0.71 (3)	0.87
Sitophilus oryzae	240	248.99 (207.6-258.3)	617.73 (500.2-900.4)	3.24 (0.53)	0.46 (3)	0.92
Rhyzopertha dominica	240	328.66 (293.3-362.6)	632.93 (542.1-818.8)	4.5 (0.66)	2.48 (3)	0.47
Tribolium confusum	240	257.12 (244.6-271)	358.37 (327.2-420.6)	8.88 (1.36)	2.16 (3)	0.54

کارایی اسانس روی چهارمین گونه یعنی سوسک کشیش از هر سه گونه دیگر به‌طور معنی‌داری کمتر بود. در سطح LC_{90} حساس‌ترین گونه شپشه آرد بود که میزان مرگ‌ومیر در این گونه به طور معنی‌داری بالاتر از سایر گونه‌ها بود. با این حال تفاوت معنی‌داری بین حساسیت سایر گونه‌ها قابل مشاهده نبود. نکته قابل توجه در این زمینه شیب خط بالای محاسبه شده برای شپشه آرد است که باعث شده حساس‌ترین گونه در سطح LC_{90} باشد. بنظر می‌رسد این گونه به غلظت‌های بالاتر پاسخ سریع‌تری نشان می‌دهد. در بیشتر تحقیقات حساسیت شپشه آرد کمتر از سایر گونه‌های سخت بالپوشان بوده است. در تحقیق حاضر نیز این گونه به همراه سوسک کشیش حساسیت کمتری داشتند. تحمل بالاتر شپشه آرد نسبت به سایر آفات انباری در تحقیقات دیگری نیز به اثبات رسیده است. به‌عنوان مثال، شایا و همکاران (Shaaya *et al*., 1997) گزارش نمودند شپشه آرد نسبت به شپشه برنج، سوسک کشیش و شپشه دندانه‌دار تحمل بالاتری در برابر اسانس گیاهان رزماری *Rosmarinus officinalis* L.، مرزنجوش *Origanum vulgare* L.، اسطوخودوس *Lavandula angustifolia* Mill و ریحان *Ocimum basilicum* L. دارد. همچنین در تحقیق نیکویی و محرمی پور (Nikooei and Moharramipour, 2010) نیز مشخص شد شپشه آرد تحمل بالاتری نسبت به سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات در برابر اسانس مریم گلی *Salvia mirzayanii* Rech دارد. در تحقیقات مختلف سمیت تدخینی اسانس‌های گیاهی روی آفات انباری بررسی شده است. شکری حبشی و همکاران (Shokri Habashi *et al*., 2011) تنفسی اسانس زنیان *Carium copticum* L. را روی شپشه دندانه

www.SID.ir

Archive of SID

دار بررسی کرده و نشان دادند LC_{50} اسانس ذکر شده برابر با ۱/۶۹ µl/L air می‌باشد. کائوبی (Chaubey, 2011) میزان LC_{50}اسانس زیره سبز *Cuminum cyminum* L. و فلفل سیاه *Piper nigrun* L. را روی شپشه برنج به‌ترتیب ۰/۶۷ و ۵۸۰ µl/L air براورد کرد. مقایسه نتایج نشان دهنده سمیت بالاتر اسانس پوست لیمو شیرین نسبت به اسانس *P. nigrum* و سمیت کمتر نسبت به دو گونه گیاهی دیگر، روی شپشه برنج است. در تحقیقی میزان LC_{50} اسانس پوست پرتقال روی حشرات کامل سوسک کشیش µl/L air ۱۲۴براورد شد (Tandorost and Karimpour, 2012). بر این اساس اسانس پوست پرتقال حدود ۲/۵ برابر سمیت تدخینی بالاتری نسبت به اسانس مورد استفاده در تحقیق حاضر دارد. در تحقیق دیگری میزان LC_{50} اسانس اکالیپتوس*Eucalyptus globulus* Labill. روی شپشه آرد *T. confusum*µl/L air ۱۱۲/۴ براورد شد (Bagheri *et al*., 2011). در تحقیق حاضر میزان LC_{50} اسانس پوست لیمو شیرین روی همین آفت µl/L air ۲۵۷/۱ برآورد شد که نشان دهنده سمیت پایین‌تر اسانس پوست لیمو شیرین نسبت به اسانس اکالیپتوس است. تفاوت سمیت اسانس‌های مختلف روی یک گونه آفت می‌تواند ناشی از تفاوت در دو گونه گیاهی باشد. حتی ممکن است اسانس-های استخراج شده از یک گونه گیاهی در محل‌های رویشی متفاوت یا فصول مختلف رویشی، اختلاف داشته باشند. به-عنوان مثال، برخی محققین نشان دادند کیفیت مواد استخراج شده از گیاهان و ترکیبات آن‌ها به شرایط آب و هوایی منطقه، ترکیب خاک و مرحله رشدی گیاه بستگی دارد (Masotti *et al*., 2003).

اثرات دورکنندگی اسانس

درصد دورکنندگی با توجه به غلظت اسانس و زمان تیمار متغیر بود (جدول ۳). با افزایش غلظت اسانس از ۰/۱ به ۰/۸۳ میکرولیتر بر سانتیمتر مربع در مورد هر چهارگونه مورد آزمایش و در هر سه زمان ثبت نتایج، میزان دورکنندگی نیز افزایش یافت. انتظار می‌رود که افزایش غلظت باعث افزایش درصد دورکنندگی شود. میشرا و تریپاتی (Mishra and Tripathi, 2011) نشان دادند با افزایش غلظت اسانس پوست نارنگی *C. reticulate* از ۰/۰۵ به ۰/۲درصد، دورکنندگی روی شپشه برنج *S. oryzae* از ۴۸/۳ به ۷۸/۳ درصد و روی شپشه آرد *T. castaneum* (Herbst) از ۵۳/۳ به ۸۰ درصد افزایش یافت.

یک ساعت پس از تیمار، بیشترین دورکنندگی در غلظت بالای اسانس (۰/۸۳µL/cm²) و در مورد شپشه دندانه‌دار و شپشه آرد با ۸۶/۶۶ درصد مشاهده شد. با افزایش زمان تیمار، میزان دورکنندگی نیز افزایش یافت. سه ساعت پس از تیمار با غلظت بالای اسانس، دورکنندگی روی حشرات کامل این دو گونه ۱۰۰ درصد بود. میانگین درصد دورکنندگی ناشی از چهار غلظت مورد آزمایش سه ساعت پس از تیمار، برای شپشه دندانه‌دار، شپشه برنج، سوسک کشیش و شپشه آرد بترتیب ۶۱/۶۶، ۴۹/۹۹، ۴۸/۳۲ و ۸۳/۳۳ درصد براورد شد که به‌ترتیب در گروه‌های IV، III، III و V از گروه‌های شش گانه تقسیم بندی اثرات اسانس قرار گرفتند. در تحقیقات مختلفی اثرات دورکنندگی سایر اسانس‌های گیاهی روی این آفات بررسی شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۳- درصد دورکنندگی ناشی از اسانس پوست میوه لیمو شیرین روی چهار سخت بالپوش آفت انباری

Table 3. Percentage of the repellencies caused by sweet lemon peel essential oil against four coleopteran stored product pests

Test insect	Concentration ($\mu L/cm^2$)	Repellency (%) Time (h) 1	2	3	Mean repellency (3 h after treatment)	Repellency class
Oryzaephius surinamensis	0.1	26.6±6.6	26.6±6.6	26.6±6.6	61.6±15.9 [ab*]	IV
	0.2	46.6±13.3	46.6±13.3	46.6±13.3		
	0.41	66.6±6.66	73.3±6.66	73.3±13.3		
	0.83	86.6±13.3	93.3±6.6	100±0		
Sitophilus oryzae	0.1	13.3±6.6	13.3±6.66	33.3±13.3	49.9±9.6 [a]	III
	0.2	13.3±6.6	26.6±13.3	33.3±6.6		
	0.41	13.3±6.6	53.3±6.6	66.6±6.6		
	0.83	46.6±6.6	60±6.6	66.6±13.3		
Rhyzopertha dominica	0.1	40±0	40±0	46.6±6.6	48.3±1.6 [a]	III
	0.2	40±0	46.6±6.6	46.6±6.6		
	0.41	40±0	46.6±6.6	46.6±6.6		
	0.83	53.3±6.6	53.3±6.6	53.3±6.6		
Tribolium confusum	0.1	60±0	80±0	80±0	88.3±4.1 [b]	V
	0.2	80±0	86.6±6.6	86.6±6.6		
	0.41	86.6±13.3	86.6±13.3	86.6±13.3		
	0.83	86.6±6.6	86.6±6.6	100±0		

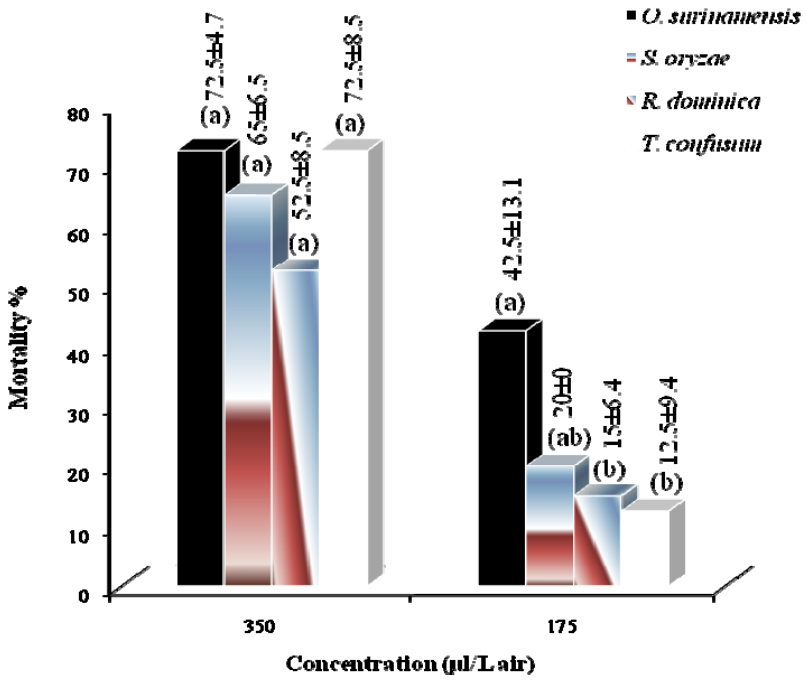
* حروف غیر مشابه اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ را نشان می‌دهند

* Different letter showed significant difference ($P \leq 0.05$)

تاپانجو و همکاران (Tapondjou *et al*., 2005) میانگین درصد دورکنندگی چهار غلظت ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴µL/cm² اسانس سرو L. *Cupressus sempervirens* را روی Motschulsky (Col: Curculionidae) *Sitophilus zeamais* و *T. confusum* به‌ترتیب ۹۸ و ۹۰ درصد به‌دست آوردند. در تحقیق دیگری میانگین درصد دورکنندگی چهار غلظت ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ µL/cm² اسانس درمنه *Artemisia argyi* Lév & Vaniot روی حشرات کامل *O. surinamensis* جزو گروه IV طبقه‌بندی شد (Lu *et al*., 2011). هر چند روش مورد استفاده در تحقیق حاضر مشابه با روش مورد استفاده در تحقیق این محققین است اما عدم تشابه غلظت‌ها و همچنین زمان تیمار، مقایسه مستقیم نتایج را غیر ممکن می‌سازد. مقایسه میانگین نتایج دورکنندگی نشان داد که در همه تیمارهای غلظت-زمان (بجز غلظت ۰/۴۱ میکرولیتر بر سانتی‌متر مربع و سه ساعت پس از تیمار)، درصد دورکنندگی روی شپشه آرد به طور معنی‌داری بیش از دو گونه شپشه برنج و سوسک کشیش بود. سه ساعت پس از تیمار و در دو غلظت پایین، قابلیت دورکنندگی روی شپشه دندانه‌دار به طور معنی‌داری کمتر از گونه حساس یعنی شپشه آرد بود. نکته قابل توجه در مورد شپشه دندانه-دار، افزایش زیاد قابلیت دورکنندگی اسانس با افزایش غلظت است. چنانچه در بالاترین غلظت اسانس، درصد دورکنندگی در گونه اخیر و شپشه آرد مشابه بود (شکل ۲).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل۱- میزان مرگ‌ومیر حشرات کامل *Sitophilus oryzae*، *Oryzaephilus surinamensis*، *Rhyzopertha dominica* و *Tribolium confusum* تیمار شده با اسانس لیمو *Citrus Limetta*

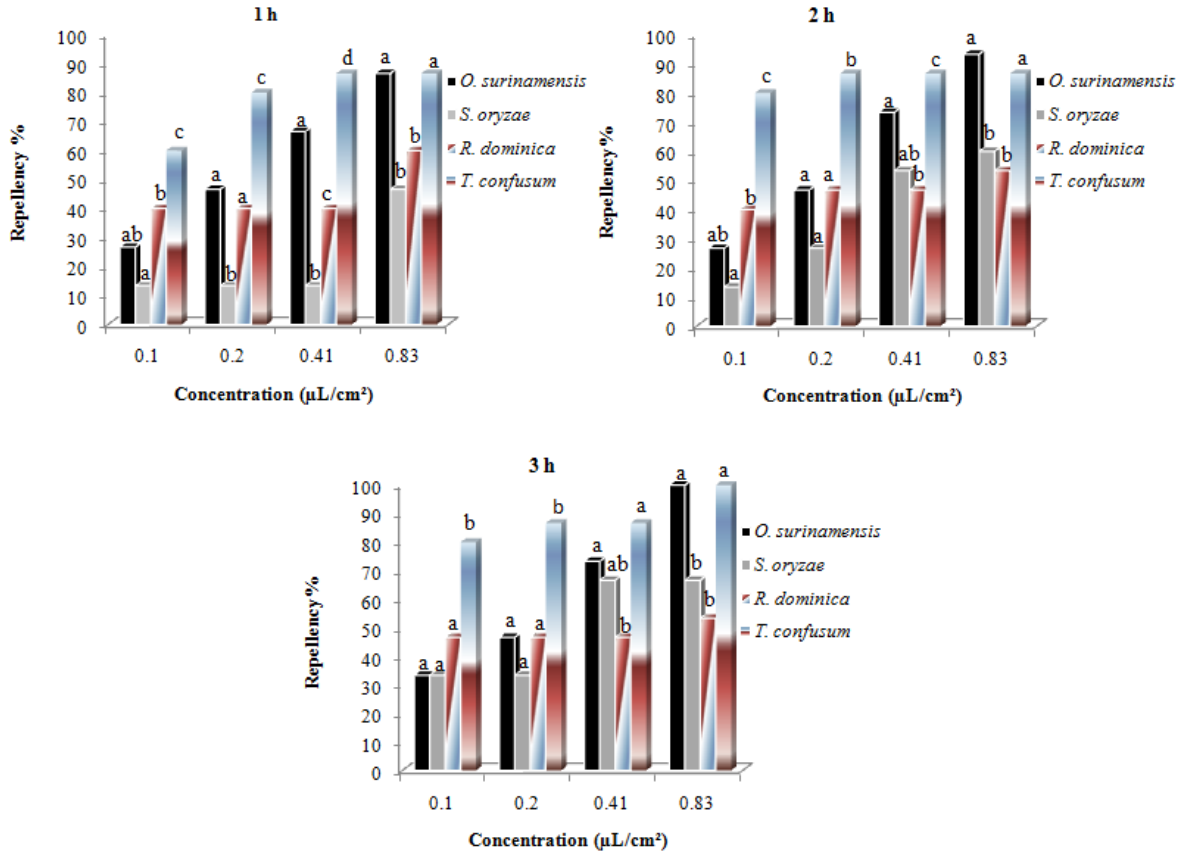
حروف غیر مشابه اختلاف معنی دار را نشان می‌دهند ($P\leq0.05$).

Figure 1. Mortality of *Sitophilus oryzae*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Rhyzopertha dominica* and *Tribolium confusum* treated with sweet lemon *Citrus limetta* essential oil
Different letter show significant difference ($P\leq0.05$)

بر اساس نتایج مربوط به آزمایش دورکنندگی مشخص شد اثر تدخینی و دورکنندگی این اسانس در یک راستا قرار نمی‌گیرند. چنانچه مشخص است کمترین سمیت تدخینی روی حشرات کامل شپشه آرد دیده شد، اما بیشترین میانگین درصد دورکنندگی در حشرات کامل همین آفت مشاهده شد. نیکویی و محرمی پور (Nikooei and Moharramipour, 2010) نیز نتایج مشابهی گزارش نمودند. آن‌ها اثر اسانس *Salvia mirzayanii* Rech را روی شپشه آرد و سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات بررسی کرده و نشان دادند گرچه این اسانس حتی در بالاترین غلظت مورد استفاده سمیتی برای شپشه آرد نداشت اما بیشترین درصد دورکنندگی مربوط به همین حشره بود.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل۲- مقایسه میانگین درصد دورکنندگی ناشی از اسانس پوست میوه لیمو شیرین روی چهار سخت بالپوش آفت انباری در یک، دو و سه ساعت پس از تیمار، حروف غیر مشابه اختلاف معنی‌دار را نشان می‌دهند (P≤0.05).

Figure 2. Comparison of the percentage of the repellencies caused by sweet lemon peel essential oil against four coleopteran stored product pests in1, 2 and 3 hours after treatment
Different letter indicate significant difference (P≤0.05)

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به کم خطر بودن ترکیبات گیاهی برای انسان و محیط زیست، اسانس پوست میوه لیمو شیرین می‌تواند جایگزین مناسبی برای سموم شیمیایی رایج باشد و در مدیریت تلفیقی آفات انباری به منظور کاهش مصرف سموم مورد استفاده قرار گیرد. البته این امر نیاز به بررسی‌های دقیق‌تر و وسیع‌تر در محیط انبار دارد تا بتوان با اطمینان بیشتری بر این مهم مدعی بود. از طرفی به دلیل پایین بودن مقدار اسانس در گیاهان معطر، بایستی تلاش‌هایی در زمینه رفع موانع موجود بر سر راه تجاری شدن و تولید انبوه این ترکیبات در مقیاس وسیع انجام گیرد.

www.SID.ir

Archive of SID

References

Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology** 18: 265–267.

Asemi, H., Bagheri Zenoz, E., Shojaei, M. and Jafari, M. E. 2003. A study on biology of *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) on five local rice cultivares of Iranian Mazandaran Province. **Applied Entomology and Phytopathology** 71(2): 107-120. (In Farsi)

Arthur, F. H. 1992. Residual efficacy of chlorpyriphos-methyl for control of maize weevils (Coleoptera: Curculionidae) and red flour beetles (Coleoptera: Tenebrionidae) in mixture of treated and untreated corn. **Journal of Economic Entomology** 85: 554-560.

Anwar, F., Naseer, R., Bhanger, M. I., Ashra, S., Talpur, F. N. and Aladeduny, F. A. 2008. Physico-chemical characteristics of citrus seedsand seed oils from Pakistan. **Journal of the American Oil ChemistsSociety** 85:321-330.

Bagheri, f., Mohammadi Sharif, M., Hadizadeh, A. and Amiri-Besheli, B. 2011. Biological effect of Eucalyptus, *Eucalyptus globulus* essential oil against flour bettle *Tribolium confusum*. **Journal of Herbal Drugs** 3:171- 178.

Chaubey, M. K. 2011. Fumigant toxicity of essential oils against rice weevil *Sitophilus oryzae* L. (Coleopteran: Curculionidae). **Journal of Biological Sciences** 11: 411-416.

Finney, D. J. 1971. Probit Analysis, 3rd Edition. Cambridge University Press, London, UK. 333 pp.

Grainge, M. and Ahmed, S. 1988. Handbook of plants with pest-control properties. Wiley Interscience, New York. 470 pp.

Hornok, L. 1992. Cultivation and processing of medicinal plants. Academic publisher, Buda pest. 336 pp.

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

Kim, S. I., Roh, J. Y., Kim, D. H., Lee, H. S. and Ahn, Y. J. 2003. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. **Journal of Stored Products Research** 39: 293-303.

Kondo, M., Goto, M., Kodama, A. and Hirose, T. 2000. Fractional extraction by super critical carbon dioxide for the deterpenation of bergamot oil. **Industrial and Engineering Chemistry Research** 39: 4745-4748

Lu, J., Wu, C. and Shi, Y. 2011. Toxicity of essential oil from *Artemisia argyi* against *Oryzaephilus surinamensis* (Linnaeus) (Coleoptera:Silvanidae). **African Journal of Microbiology Research** 5: 2816-2819.

Mahmoudvand, M., Abbasipour, H., Basij, M., Hosseinpour, M. H., Rastegar, F. and Nasir, M. B. 2011. Fumigant toxicity of some essential oils on adults of some stored-product pests. **Chilean Journal of Agricultural Research** 71: 83-89.

María, C., Rubria, E., Rubio-Núñez, R., Botello-Álvarez, J. E., Martínez-González1, G. M., Navarrete-Bolaños, J. L. and Jiménez-Islas1, H. 2012. Characterization of volatile compounds in the essential oil of sweet lime (*Citrus limetta* Risso). **Chilean Journal of Agricultural Research** 72 (2): 275-280.

Masotti, V., Juteau, F. and Viano, J. M. 2003. Seasonal and phenological variations of the essential oils from the narrow endemic species *Artemisia molinieri*and its biological activities. **Journal of Agricultural Food Chemistry** 51: 7115-7121.

Misharina, T. A. and Samusenki, A. L. 2008. Antioxidant properties of essential oils from lemon, grapefruit, coriander, clove and their mixtures. **Applied Biochemistry and Microbiology** 45: 438-442.

Mishra, B. B. and Tripathi, S. P. 2011. Repellent activity of plant derived essential oils against *Sitophilus oryzae* (Linnaeus) and *Tribolium castaneum* (Herbst). **Singapore Journal of Scientific Research** 2: 173-178.

Mondello, L., Casilli, A., Tranchida, Q. P., Cicero, L., Dugo, P. and Dugo, G. 2003. Comparison of fast and conventional GC analysis for citrus essential oils**. Journal of Agriculture and Food Chemistry** 51: 5602-5606.

www.SID.ir

Archive of SID

Nikooei, M. and Moharramipour, S. 2010. Fumigant toxicity and repellency effects of essential oil of *Salvia mirzayanii* on *Callosobruchus maculatus* (Col.: Bruchidae) and *Tribolium confusum* (Col.: Tenebrionidae). **Journal of Entomological Society of Iran** 32(2): 17-30, (In Farsi).

Obeng-Ofori, D. 1995. Plant oils as grain protectants against infestations of *Cryptolestes pussilus* and *Rhyzopertha dominica* in stored grain. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 77:133-139.

Park, I. K., Lee, S. G., Choi, D. H., Park, J. D. and Ahn, Y. J. 2003. Insecticidal activities of constituents identified in the essential oil from leaves of *Chamaecyparisobtuse* against *Callosobruchus chinensis* (L.) and *Sitophilus oryzae* (L.). **Journal of Stored Products Research** 39: 375-384.

Paranagama, P. and Sujantha Ekkanayake, E. M. D. 2004. Repellant properties from essential oil of *Alpina calcarata* Rosc against the American cockroach *Peripelanata americana***. Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka**32:1-12.

Shaaya, E., Kostjukovski, M., Eilberg, J. and Sukprakarn, C. 1997. Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. **Journal of Stored Products Research** 33: 7-15.

Shokri Habashi, A., Safarzalizadeh, M. H. and Safavi, S. A. 2011. Fumigant toxicity of *Carium copticum* oil against *Tribolium confusum*, *Rhyzopertha dominica* and *Oryzaephilus surinamensis*. **Munis Entomology and Zoology** 6: 282-289.

Talukder, F. A.and Howse, P. E. 1994. Laboratory evaluation of toxic repellent properties of the pithraj tree, *Aphanamixis polystachya* against *Sitophilus oryzae* (L.). **International Journal of Pest Management** 40: 274-279.

Tandorost, R. and Karimpour, Y. 2012. Evaluation of fumigant toxicity of orange peel *Citrus sinensis* essential oil against three stored product insect in laboratory condition. **Munis Entomology and Zoology** 7 (1): 352-358.

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*. **Journal of Stored Products Research** 41:91-102.

Tripathi, A. K., Prajaoati, V., Khanuja, S. P. and Kumar, S. 2003. Effect of d-Lemonene on three stored product beetles. **Journal of Economic Entomology** 96: 990-995.

Viglaianco, A., Novo, R., Cragnolini, C., Nassetta, M. and Cavallo, A. 2008. Antifeedant and repellent effects of extracts of three plants from Cordoba (Argentina) against *Sitophilus oryzae* (L) (Coleoptera:Curculionidae). **Bio Assay** 3: 1-6.

www.SID.ir

Archive of SID

Plant Pests Research
2015- 5(2): 61-72

Fumigant toxicity and repellency of *Citrus limetta* (L.) peel essential oil on four coleopteran stored product pests

M. Mohammadi Sharif[1*] and M. Kabiri Raisabbad[1]
1. Department of Plant Protection, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources

(Received: July 23, 2014- Accepted: March 14, 2015)

Abstract

In this research, fumigant toxicity and repellency of essential oil of sweet lemon, *Citrus limetta* fruit peels were investigated against sawtoothed grain beetle *Oryzaephilus surinamensis*, rice weevil *Sitophilus oryzae*, lesser grain borer, *Rhizopertha dominica* and confused flour beetle, *Tribolium confusum*. In fumigant toxicity assays, in addition to common bioassays and probit analysis of the data, two indices of effective concentration and mortality were used for evaluating the essential oil efficacy. In the first method, the minimum concentrations that caused effective mortality (over 90%) were determined against the four pests. In the second one, two constant concentrations; low (0-50% mortality) and high (50-100% mortality) were tested to evaluate different susceptibility of these four insects. Repellency of the essential oil was estimated by applying four concentrations; 0.1, 0.2, 0.41 and 0.83 µl/cm^2. LC_{50} values were 208.9, 248.99, 328.66 and 257.212 µl/L air for the pests, respectively, demonstrating the more sensitivity of sawtoothed grain beetle. In the assays of the concentration as an index, estimated concentrations for the species were 600 (100% mortality), 625 (95% mortality), 700 (100% mortality) and 375 µl/L air (92.5% mortality), respectively. In the assays of the mortality as an index, the low concentration (175 µl/L air) caused 42.5±13.1, 20±0, 15±6.4 and 12.5±9.4% mortality and the high concentration (350 µl/L air) caused 72.5±4.7, 65±6.5, 52.5±8.5 and 72.5±8.5% mortality, respectively. The mean repellencies of four concentrations at three hours after treatment were 61.6±15.9, 49.9±9.6, 48.3±16 and 83.3±4.1%, respectively. The results of this research revealed the average efficacy of citrus lemon peels essential oil for controlling these coleopteran stored products pests.

Key words: Stored products pests, Essential oil, Repellency, Fumigant toxicity

*Corresponding author: msharif1353@yahoo.com

www.SID.ir