

ارزیابی عملکرد d-limonene به عنوان حشره کش علیه سپردار شمشاد،

Unaspis euonymi Comstock (Hemiptera: Diaspididae)

Evaluation of the potential of d-limonene as an insecticide against the euonymus scale, *Unaspis euonymi* Comstock (Hemiptera: Diaspididae)

مژده قورچیان^۱، شیما رحمانی^{۲*} و اصغر صالح^۱

دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۱۹

پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۱۰

چکیده

سپردار شمشاد، *Unaspis euonymi* Comstock (Hem.: Diaspididae)، با پراکنش جهانی از جمله آفات مهم درختچه شمشاد، *Euonymus japonicus*، به شمار می آید. این حشره، گلخانه و فضای شهری را آلوده کرده و با تغذیه از شیر گیاهی، موجب از بین رفتن کلروپلاست و ایجاد لکه های رنگ پریده در سطح گیاه و ریزش برگ ها می شود. تراکم جمعیت این حشره در شاخه ها و برگ ها، زیبایی گیاه را به شدت کاهش می دهد. مدیریت این آفت در حال حاضر با استفاده از کلرپیریفوس مخلوط با روغن امولسیون شونده در زمان حضور مراحل حساس، پوره های متحرک و سنین اولیه انجام می گیرد. با توجه به اثرات نامطلوب زیست محیطی آفت کش های شیمیایی، معرفی راهکارهای جایگزین توصیه می شود. به همین منظور، اثرگذاری ترکیب دی-لیمونن به عنوان حشره کش زیست سازگار روی سپردار شمشاد بررسی شد. آزمایش ها با شش تیمار و پنج تکرار در شرایط آزمایشگاه انجام گرفت. شاخه های حدوداً ده سانتی متری آلوده به سپردار با غلظت های ۱۰۰، ۱۳۳، ۱۸۱، ۲۴۶ و ۳۳۳ گرم بر لیتر حلال (آب مقطر به همراه ۱۰۰ میکرولیتر توئین-۸۰) به کمک اسپری دستی کوچک تیمار شد. پس از شش ساعت، حشرات مرده شمارش و از افراد زنده تفکیک شدند. آنالیز پروبیت با استفاده از نرم افزار Polo-Plus انجام گرفت. مقادیر LC₂₅، LC₅₀، LC₇₅ و LC₉₅ به ترتیب ۱۹۶، ۲۴۷/۸، ۳۱۳ و ۴۳۸/۴ گرم بر لیتر برآورد شد. اگرچه دی-لیمونن پتانسیل حشره کشی علیه سپردار شمشاد را نشان می داد، اما مطالعات تکمیلی بیشتری از جمله بررسی اثرات سینرژیستی، استفاده از مواد همراه و مطالعاتی دقیق در حیطه نانوفناوری نیاز است تا این ترکیب را به عنوان یک حشره کش کارآمد برای *U. euonymi* معرفی کند.

واژگان کلیدی: سپردار *Unaspis euonymi*، درختچه شمشاد، اسانس، دی-لیمونن

مقدمه

شمشاد طلایی، *Euonymus japonicus*، Celastraceae، درختچه ای زینتی و همیشه سبز است که خواستگاه آن ژاپن می باشد. این درختچه که بلندای آن گاهی تا بیش از پنج متر می رسد (Ma and Funston, 2008)، به دلیل شاخه و برگ براق، متراکم و همیشه سبز و همچنین به خاطر سهولت در کشت (Serviss et al., 2017) به عنوان یکی از گیاهان زینتی غالب در فضای سبز به صورت پرچین و یا دیوار سبز کاشته شده و نیز توسط پرورش دهندگان گل و گیاه زینتی در اکثر مناطق ایران به صورت گلدانی به فروش می رسد.

سپردار شمشاد، *Unaspis euonymi*، Comstock (Hemiptera: Diaspididae)، یک آفت مهم روی شمشاد و سایر درختچه های زینتی است که در تمام مناطق جهان، به جز استرالیا، پراکنش دارد (Özyurt and Ülgentürk, 2007). این

۱- مرکز تحقیقات آموزش و مشاوره فضای سبز شهرداری منطقه ۱۷ تهران، ایران

۲- استادیار، گروه گیاه پزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

نویسنده مسئول مکاتبات: shrahmani@iau.ac.ir

سپردار، آفت اصلی گیاهان جنس *Euonymus* به شمار می‌رود و از روی واریته‌های مختلف *E. japonicus* گزارش شده است (Sadof and Raupp, 1991). این گونه، درختچه‌های شمشاد را در گلخانه و فضای شهری آلوده می‌کند و در اثر تراکم جمعیت، زیبایی گیاه را به شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد (Gill et al., 1982). طی چند سال اخیر این گونه با فراوانی بسیار روی شمشادهای کشت شده در ایران در هر دو فضای سبز و درون گلدانی گزارش شده است. این موضوع به‌ویژه در مناطقی از کشور مانند غرب استان مازندران که قلمه‌های شمشاد طلایی برای فروش به صورت گلدانی عرضه می‌شوند، از نظر اقتصادی حائز اهمیت بوده است (غلامزاده چیتگر و حیدری، ۱۴۰۰). این حشره در مناطق مختلف بین یک تا سه نسل در سال دارد. جنس‌های نر و ماده دارای دوشکلی جنسی و رفتاری هستند. جنس نر بیشتر روی برگ‌ها مستقر می‌شود؛ در حالی که جنس ماده روی شاخه‌ها فراوان‌تر است. در آلودگی‌های شدید تمامی بخش‌های هوایی گیاه شامل ساقه و سطح زیرین برگ‌ها کاملاً توسط سپردار پوشیده می‌شود. در اثر نفوذ قطعات دهانی میله‌ای شکل در بافت گیاه و تغذیه از شیر گیاهی، لکه‌های رنگ پریده در اثر از بین رفتن کلروپلاست در سطح گیاه ظاهر می‌گردد و برگ‌ها ریزش می‌کنند (Özyurt and Ülgentürk, 2007). مدیریت سپردار شمشاد در فضای سبز دشوار است؛ زیرا در ابتدای فعالیت مورد توجه قرار نمی‌گیرد، اما می‌تواند به سرعت جمعیت زیادی ایجاد کند. این جمعیت‌ها فتوسنتز را کاهش می‌دهند، باعث ریزش برگ، خشکیدگی شاخه‌ها و در بسیاری از موارد، مرگ گیاه میزبان می‌شوند (Cockfield and Potter, 1990؛ Sadof and Neal, 1993). از آنجایی که در نظر گرفتن حمله حشرات سپردار روی گیاهانی که به لحاظ اقتصادی واجد اهمیت هستند، با اهمیت تلقی می‌شود (Frank, 2012)، اتخاذ روش‌های مناسب برای کنترل آفت پیش از ایجاد خسارت‌های جبران‌ناپذیر ضروری خواهد بود.

کلرپیریفوس حشره‌کشی از گروه ترکیبات فسفره آلی و یکی از رایج‌ترین ترکیباتی است که جهت کنترل بسیاری از آفات از جمله سپردارها و شپشک‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. این حشره‌کش به صورت امولسیون ۴۰/۸ درصد به میزان ۲-۱/۵ در هزار، مخلوط با روغن جهت کنترل انواع سپردارها توصیه شده است (نوربخش، ۱۴۰۴). در مورد *U. euonymi*، استفاده از کلرپیریفوس با غلظت ۱/۵ در هزار مخلوط با روغن امولسیون شونده با غلظت ۵/۰ درصد در زمان حضور مراحل حساس، پوره‌های متحرک و سنین اولیه می‌تواند در برنامه‌های کنترل سپردار شمشاد اثربخش باشد. البته باید توجه داشت که حشره‌کش بایستی به‌طور یکنواخت در سطوح رویی و زیرین برگ، پاشش شود و از این‌رو استفاده از یک سمپاش اتوماپز با سر الکتروستاتیک برای سمپاشی توصیه شده است (غلامزاده چیتگر و حیدری، ۱۴۰۰). با این حال، اقدامات کنترلی با استفاده از ترکیبات شیمیایی به دلیل محدودیت در پوشش‌دهی و مدیریت زمان، ناکافی بوده است (Sadof and Sclar, 2000). از سوی دیگر، استفاده از ترکیبات شیمیایی از جمله حشره‌کش‌های ارگانوفسفره همواره مخاطراتی را برای محیط زیست به همراه داشته‌اند.

ترکیبات ارگانوفسفره بخش جدایی‌ناپذیر کشاورزی مدرن هستند؛ با این حال، به دلیل کاربرد بیش از حد، بقایای این آفت‌کش‌ها ضمن ورود و انباشته شدن در خاک، منجر به آلوده‌سازی آب‌های زیرزمینی و شیوع آلودگی در شبکه‌های غذایی می‌شود. قرار گرفتن در معرض این ترکیبات به صورت حاد می‌تواند باعث مسمومیت در انسان و موجودات غیرهدف شود. ترکیبات ارگانوفسفره به دلیل مهار کووالانسی آنزیم استیل کولین استراز در موجودات خشکی‌زی و آبرزی منجر به ناهنجاری‌های عصبی، تنفسی، تولیدمثلی و کبدی می‌شود. به علاوه، این ترکیبات در گیاهان، با مهار آنزیم‌های کلیدی، نفوذپذیری و انتشار از طریق کوتیکول که برای رشد گیاه بسیار مهم است، روند رشد را مختل می‌کنند. استفاده بیش از حد از ترکیبات آلی فسفره، با اثرگذاری مستقیم و غیرمستقیمی که بر سلامت انسان و محیط زیست دارند، نگرانی جهانی قابل توجهی را ایجاد کرده است. بنابراین، توسعه روش‌های ایمن، قابل اعتماد، اقتصادی و سازگار با محیط زیست برای حذف یا کاهش مصرف ترکیبات آلی آفت‌کش از محیط زیست ضروری به نظر می‌رسد (Ore et al., 2023؛ Mali et al., 2023).

لیمونن (1-methyl-4-isopropenylcyclohex-1-ene) که dipentene نیز نامیده می‌شود، یک مونوترپن تک حلقه‌ای است که ایزومر راست گرد آن (D-limonene) بخش عمده‌ای (گاه تا ۸۰ درصد) از ترکیبات فرار پوسته مرکبات و برخی دیگر از میوه‌ها را تشکیل می‌دهد (Chen *et al.*, 2015). این متابولیت به تنهایی و همراه با سایر ترکیبات مؤثر، ویژگی‌های ضد-باکتری، ضدویروس، ضدقارچ، کرم‌کشی، حشره‌کشی، آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهاب نشان داده است (Lin *et al.*, 2024). فعالیت حشره‌کشی این ترکیب علیه آفات کشاورزی و بهداشتی متعددی گزارش شده است (Prado-Rebolledo *et al.*, 2017; Mohammed *et al.*, 2020; Theochari *et al.*, 2020; Fouad *et al.*, 2021). دی-لیمونن به‌طور کلی توسط سازمان غذا و داروی آمریکا (U.S. Food and Drugs Administration) و آژانس حفاظت از محیط زیست آمریکا (U. S. Environmental Protection Agency) ایمن شناخته شده است. نحوه عملکرد این مولکول گیاهی بدین ترتیب است که با حل کردن لایه محافظ مومی قرار گرفته روی اسکلت خارجی بندپایان باعث خفگی و مرگ آنها می‌شود؛ همین موضوع، این متابولیت با ارزش را به یک حشره‌کش طبیعی مؤثر تبدیل می‌کند (Abdallah *et al.*, 2017).

به دلیل ضرورت استفاده از ترکیبات زیست سازگار با پتانسیل مناسب حشره‌کشی، در این پژوهش اثر کشندگی حاد دی-لیمونن علیه سپردار شمشاد طی مدت زمان کوتاه شش ساعته ارزیابی شد. نتایج حاصل از این بررسی، امکان استفاده از این ترکیب به تنهایی و در ترکیب با سایر حشره‌کش‌ها را نشان می‌داد تا در مدیریت پایدار این آفت مورد بحث و بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در کلینیک گیاهپزشکی مرکز تحقیقات، آموزش و مشاوره فضای سبز معاونت خدمات شهری و محیط زیست منطقه ۱۷ شهرداری استان تهران، شهر تهران انجام گرفت. آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تیمار و پنج تکرار در محیط آزمایشگاه انجام گرفت. ترکیب دی-لیمونن (CAS 5989-27-5) با خلوص ۹۴ درصد، از شرکت فرسان شیمی خریداری شد. برای انجام آزمایش‌ها شاخه‌های به‌شدت آلوده شمشاد در اندازه‌های حدوداً ده سانتی‌متر از بوستان سلامت (مجموعه بهاران) (35°38'44.6"N, 51°21'22.3"E) چیده و به آزمایشگاه منتقل شدند. آزمایش‌ها در دمای ۲۷±۲ درجه سلسیوس، رطوبت ۶۰±۵ درصد و در روشنایی کامل انجام گرفت. پیش از انجام تست‌ها تعداد سپردارها در دو سانتی‌متر سرشاخه‌ها و دو سانتی‌متر مربع از سطح زیرین سه برگ در یک شاخه آلوده شمارش شد. برای سم‌پاشی از مه‌پاش دستی کوچک با مخزن ۵۰ میلی‌لیتری استفاده شد و تمامی سطوح شاخه و برگ‌ها به‌طور کامل مورد پاشش قرار گرفت (شکل ۱). مدت زمان آزمون‌های زیست‌سنجی شش ساعت در نظر گرفته شد. به این منظور، غلظت‌های مختلف از ترکیب دی-لیمونن در ۱۰۰ میکرولیتر توئین ۸۰ حل و با آب مقطر به حجم سه میلی‌لیتر رسانیده شد. به‌عنوان شاهد آزمایش، آب به همراه توئین ۸۰ به کار رفت. برای تعیین LC₅₀، ابتدا غلظت‌های کشنده ۲۰ و ۸۰ درصد از هر ترکیب ارزیابی شد. سپس آزمایش‌های اصلی با تعیین فواصل لگاریتمی به‌دست آمد و غلظت‌های ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۴۳، ۷۳۷ و ۱۰۰۰ میکرولیتر دی-لیمونن در حجم گفته شده (سه میلی‌لیتر آب مقطر به همراه توئین ۸۰) که به ترتیب معادل ۱۰۰، ۱۳۳، ۱۸۱، ۲۴۶ و ۳۳۳ گرم بر لیتر بودند، برای ارزیابی‌ها مورد استفاده قرار گرفتند. برای شمارش و تفکیک حشرات مرده از زنده، در زیر دستگاه بینوکولار ابتدا پوشش بدن هر حشره برداشته و در صورت مشاهده بدن تازه زیر سپر، افراد زنده مانده مشخص می‌شدند. در افراد مرده، بدن زیر سپر، خشک و به رنگ قهوه‌ای تیره در می‌آمد. مرگ و میر افراد با استفاده از فرمول هندرسون-تیلتون (Henderson and Tilton, 1995) تصحیح شد و آنالیزهای پروبیت با استفاده از نرم‌افزار Polo-Plus انجام گرفت.

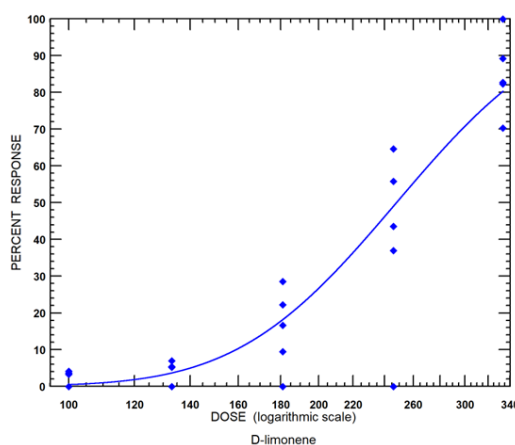


شکل ۱- مراحل انجام آزمایش زیست‌سنجی دی-لیمونن روی سپردار شمشاد در آزمایشگاه. (a) آماده‌سازی شاخ و برگ‌های آلوده به شمشاد، (b) قرار دادن شاخه‌های شمشاد درون ظرف آزمایش حاوی آب مقطر، (c و d) محلول‌سازی، (e) شاخه آلوده به سپردار شمشاد، (f و g) پاشش محلول روی شاخه‌های حاوی سپردار.

Fig. 1. Steps for performing a bioassay test for d-limonene on *Unaspis euonymi* in the laboratory conditions. a) Preparing the foliage infected with *Unaspis* scale, b) Putting the boxwood branches onto the experimental containers containing distilled water, c & d) Preparation of solutions, e) A branch infected with boxwood scale, f & g) Spraying the solution on the branches containing scale.

نتایج

نتایج مربوط به درصد مرگ‌میر سپردارهای تحت تأثیر غلظت‌های مختلف دی-لیمونن در نمودار لگاریتمی شکل ۲ نشان داده شده است. بر اساس آزمون زیست‌سنجی، پس از شش ساعت، $247/7$ گرم بر لیتر از ترکیب دی-لیمونن منجر به مرگ‌ومیر ۵۰ درصد افراد تحت تیمار شد (جدول ۱). میزان کشندگی دی-لیمونن تا غلظت ۱۴۰ گرم بر لیتر معنی‌دار نبود و تا غلظت حدود ۱۶۰ گرم بر لیتر، تنها ده درصد افراد دچار مرگ‌ومیر شدند. همچنین میزان غلظت لازم برای مرگ ۹۵ درصد از افراد $1/7$ برابر LC_{50} محاسبه شد. از آنجایی که بین LC_{25} و غلظت لازم برای ۵۰ درصد کشندگی نیز $1/2$ برابر فاصله وجود داشت، می‌توان نتیجه گرفت که دی-لیمونن طی مدت زمان شش ساعت، در یک بازه محدود از غلظت، بیشترین تأثیر خود را نشان می‌داد.



شکل ۲- نمودار لگاریتمی مربوط به ارزیابی درصد کشندگی دی-لیمونن بر *Unaspis euonymi* در شرایط آزمایشگاه

Fig. 1. Logarithmic scale of the lethality (%) of d-limonene against *Unaspis euonymi* in the laboratory conditions.

جدول ۱- سمیت حاد دی-لیمونن بر *Unaspis euonymi* در شرایط آزمایشگاهTable 1. Acute toxicity of d-limonene against *Unaspis euonymi* in the laboratory conditions.

ترکیب Compound	غلظت های کشنده [گرم بر لیتر (۹۵ درصد محدوده اطمینان)] Lethal concentration [g/L (95% CL)]				Slope $\pm$ SE	X ² (df)	ناهمگونی Heterogeneity
	LC ₂₅	LC ₅₀	LC ₇₅	LC ₉₅			
دی-لیمونن d-limonene	196 (177-212.4)	247.8 (229.8-268)	313 (287.6-350.7)	438.4 (384.9-532.8)	6.645 $\pm$ 0.415	70.820 (23)	3.0791

CL: Confidence of Limit

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که دی-لیمونن می تواند اثر کشنده روی سپردار شمشاد داشته باشد. در مطالعات قبلی نیز این ترکیب به عنوان یک جایگزین طبیعی مؤثر برای روغن های معدنی معرفی شده بود که می تواند برای از بین بردن حشراتی مانند شپشک های آردآلود، شپشک ها و سفیدبالک ها که بدن آنها پوشیده از موم است، استفاده شود (Hollingsworth, 2005). از سال ۱۹۹۴، لیمونن به عنوان ماده مؤثر برخی از آفت کش ها در محصولات متعددی برای استفاده علیه کنه های حیوانی و کک ها، به عنوان اسپری حشره کش، دافع سگ و گربه در فضای آزاد، به عنوان دورکننده حشرات از انسان و به عنوان کشنده لارو پشه ها مورد استفاده قرار گرفته است (EPA, 1994).

دی-لیمونن در دهه گذشته به طور متوسط به میزان بیش از ۲۰ تن در سال، بیشترین استفاده را در کالیفرنیا به عنوان حشره کش گیاهی داشته است (Isman, 2020). کشندگی و سمیت ناشی از دی-لیمونن گاه به اثرات سیتوتوکسیک آن نسبت داده می شود (Caballero-Gallardo et al., 2022). همچنین، این ترکیب قادر به حل کردن لایه مومی کوتیکول بندپایان است و از همین رو سیستم تنفسی آنها را مختل می کند (Abdallah et al., 2017). از سوی دیگر، دی-لیمونن، به عنوان ترکیبی ایمن، جلب کننده *Aphytis melinus*، زنبور پارازیتوئید سپردار قرمز مرکبات، *Aonidiella aurantii* ارزیابی شد (Mohammed et al., 2020). همچنین، این متابولیت در گیاهان میمولوس (*Mimulus spp.*)، برای زنبور گرده افشان *Bombus vosnesenskii* جذاب (Byers et al., 2014) و در غلظت های پایین (۱۲/۵ میکرولیتر در لیتر) برای کفشدوزک شکارگر، *Harmonia axyridis*، جلب کننده بود (Song et al., 2017). دی-لیمونن با وجود این که دوره پس از تخمیزی کفشدوزک *Cryptolaemus montrouzieri* را کاهش داد، اما همچنان به عنوان ایمن ترین ترکیب در میان آفت کش های مورد آزمایش برای این شکارگر معرفی شد (El Aalaoui et al., 2021).

اگرچه در بررسی حاضر دی-لیمونن در غلظت هایی نه چندان پایین مرگومیر سپرداران را در پی داشت؛ اما مطالعات گذشته نشان دادند که این ترکیب می تواند در غلظت های ناچیز اثر کشندگی مناسبی را نشان دهد. برای مثال، LC₅₀ محاسبه شده برای حشرات بالغ *Sitophilus oryzae* برابر ۳۶/۸۵ میکرولیتر بر لیتر بود (Fouad et al., 2021). همچنین، درصد مرگومیر *Rhipicephalus sanguineus* تیمار شده با غلظت ۰/۱ میکرولیتر بر لیتر دی-لیمونن، ۸۲/۶ درصد برآورد شد (Prado-Rebolledo et al., 2017).

همراه با افزایش نگرانی ها در مورد حفاظت از محیط زیست، جستجوی یک ترکیب طبیعی بی خطر برای جایگزینی آفت کش های شیمیایی، توجه محققان را به خود جلب کرده است. تعداد زیادی از مطالعات به عنوان یک جایگزین بالقوه برای آفت کش های شیمیایی، توانایی دی-لیمونن را در مبارزه با طیف وسیعی از باکتری های بیماری زا و آفات نشان داده اند، اما استفاده از آن به دلیل خواصی مانند فراریت بالا، حلالیت کم و بی ثباتی حرارتی با چالش مواجه شده است. مشخص شده است که فناوری نانوکپسولاسیون می تواند بر این مشکلات غلبه کند و پایداری، محافظت، کنترل میزان رهایش و فراهمی زیستی بهتری را ایجاد نماید (Nunes et al., 2024).

در این ارتباط، مشخص شد نانولیپوزوم های دی-لیمونن در مقایسه با دی-لیمونن اثر لاروکشی قوی تری بر روی دو پشه *Anopheles stephensi* و *Culex quinquefasciatus* داشتند؛ به طوری که LC₅₀ ترکیبات نانوفناوری شده، ۱/۴ تا ۲/۵

برابر کاهش نشان داده بود (Sanei-Dehkordi *et al.*, 2022). بهبود عملکرد حشره‌کشی در این آزمایش و آزمایش‌های مشابه ممکن است به این دلیل باشد که نانوکپسولاسیون، تثبیت فیزیکی، نفوذ و انتشار دی-لیمون را افزایش می‌دهد (Lin *et al.*, 2024).

استفاده از مواد همراه نظیر سورفکتانت‌ها و امولسفايرها نیز می‌تواند عملکرد دی-لیمون را در پخشیدگی، پوشش‌دهی و نفوذ افزایش دهد و از گیاه‌سوزی بکاهد. برای مثال، کاربرد ترکیب APSA-80 (یک چسباننده/پخش‌کننده غیریونی متشکل از آلکیل آریل آلکوکسیلات + اسیدهای چرب روغن تال (TOFA)) به همراه دی-لیمون موجب شد برگ‌های گیاه گاردنیا هیچ آسیبی نبینند. افزون بر این، اضافه کردن مقدار کمی Silwet L-77 (هپتامتیل تری سیلوکسان اصلاح شده با پلی‌آلکیلن اکسید) با کاهش کشش سطحی، پوشاندگی بهتری روی بدن شپشک‌های آردآلود تیمار شده ایجاد می‌کند (Hollingsworth, 2005).

از جمله موضوعات قابل بررسی در زمینه استفاده از دی-لیمون، کاربرد آن نه به‌عنوان یک آفت‌کش، بلکه به‌عنوان یک عامل فزاینده (سینرژيست) سمیت برخی از ترکیبات کشنده بیولوژیکی یا شیمیایی است. از آنجایی که در بحث کنترل آفات کلیدی و به‌ویژه در بحث مدیریت تلفیقی آفات، معمولاً آفت‌کش‌های شیمیایی حذف نمی‌شوند؛ بلکه تنها استفاده از آنها به طریقی مدیریت می‌شود، می‌توان از ترکیبات کم‌خطری مانند دی-لیمون در ترکیب با آفت‌کش‌های متداول استفاده کرد. در این صورت میزان استفاده از ترکیبات شیمیایی و به دنبال آن مخاطرات زیست محیطی کاهش می‌یابد. اثر سینرژيستی دی-لیمون زمانی آشکار شد که این ترکیب همراه با قارچ *Metarhizium anisopliae* و سایپرترین علیه کنه‌های *Rhipicephalus sanguineus* به کار رفت. در اثر استفاده این مواد، مرگ‌ومیر صد در صدی کنه‌ها اتفاق افتاد (Prado-Rebolledo *et al.*, 2017). به نظر می‌رسد که دی-لیمون مخلوط با سوسپانسیون قارچی، تعلیق کنیدی‌ها را بهبود بخشد و با تولید امولسیون روغنی و افزایش تراکم اسپورها چسبندگی کنیدی‌ها به کوتیکول لارو را تسهیل کرد و در نتیجه باعث مرگ‌ومیر بیشتری شد (Bateman *et al.*, 1993).

در مجموع، نتیجه‌گیری می‌شود که دی-لیمون قابلیت حشره‌کشی علیه سپردار شمشاد را داراست. توصیه می‌شود این ترکیب به همراه آفت‌کش‌های شیمیایی و روغن‌های امولسیون شونده نیز استفاده شود تا احتمال اثر سینرژيستی آن ارزیابی شود. این کار در صورتی که نتایج مثبتی عاید شود، می‌تواند منجر به کاهش استفاده از ترکیباتی گردد که زیست‌سازگاری کمتری دارند. افزون بر این، پیشنهاد می‌شود در زمان استفاده از دی-لیمون، مواد همراه متنوعی مورد آزمون و غربال‌گری قرار گیرند تا با مجموعه عملکردهایی نظیر کاهش کشش سطحی، خیس‌کنندگی، پخش‌کنندگی و غیره، پتانسیل حشره‌کشی آن افزایش پیدا کند. استفاده از نانوفناوری زیستی در کاربرد دی-لیمون می‌تواند فرمولاسیون‌هایی آرایه کند که پایداری و دوام بیشتری دارند و در غلظت کمتر عملکرد مؤثرتری در از بین بردن آفت را نشان می‌دهند.

سپاسگزاری

این مقاله، حاصل بخشی از مطالعاتی است که با همکاری شهرداری منطقه ۱۷ تهران بزرگ، استان تهران به انجام رسیده است.

References

منابع

غلامزاده چیتگر، م. و حیدری، ا. ۱۴۰۰. دستورالعمل فنی کنترل شیمیایی سپردار شمشاد، *Unaspis euonymi* (Hemiptera: Diaspididae). وزارت جهادکشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور. ۱۱ صفحه.

- نوربخش، س. ۱۴۰۴. فهرست آفات، بیماری‌های و علف‌های هرز مهم محصولات عمده کشاورزی، آفت‌کش‌ها و روش‌های توصیه شده جهت کنترل آنها. وزارت جهاد کشاورزی، سازمان حفظ نباتات کشور، معاونت کنترل آفات، ۲۲۶ صفحه.
- Abdallah, M.S.I., Muhammad, I. and Warodi, F.A. 2017. Review on some plants as bio-pesticides. International Journal of Contemporary Research and Review 8(1): 20186–20191. <https://doi.org/10.15520/ijcrr/2017/8/07/203>.
- Bateman, R.F., Carey, M., Moore, D. and Prior, C. 1993. The enhanced infectivity of *Metarhizium flavoviride* in oil formulations to dessert locust at low humidities. Annals of Applied Biology 122: 145–152. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1993.tb04022.x>.
- Byers, K.J., Bradshaw Jr, H.D. and Riffell, J.A. 2014. Three floral volatiles contribute to differential pollinator attraction in monkeyflowers (*Mimulus*). Journal of Experimental Biology 217(4): 614–623. <https://doi.org/10.1242/jeb.092213>.
- Caballero-Gallardo, K., Fuentes-Lopez, K., Stashenko, E.E. and Olivero-Verbel, J. 2022. Chemical composition, repellent action, and toxicity of essential oils from *Lippia origanoides*, *Lippia. alba* chemotypes, and *Pogostemon cablin* on adults of *Ulomoides dermestoides* (Coleoptera: Tenebrionidae). Insects 14(1): 41. <https://doi.org/10.3390/insects14010041>.
- Chen, B., Liu, C., Shang, L., Guo, H., Qin, J., Ge, L., Jing, C.J., Feng, C. and Hayashi, K. 2020. Electric-field enhancement of molecularly imprinted sol-gel-coated Au nano-urchin sensors for vapor detection of plant biomarkers. Journal of Materials Chemistry C 8: 262–269. <https://doi.org/10.1039/c9tc05522c>.
- Cockfield, S.D. and Potter, D.A. 1990. Euonymus scale (Homoptera: Diaspididae) effects on plant growth and leaf abscission and implications for differential site selection by male and female scales. Journal of Economic Entomology 83(3): 995–1001. <https://doi.org/10.1093/jee/83.3.995>.
- El Aalaoui, M., El Bouhssini, M., Bouharroud, R. and Sbaghi, M. 2021. Lethal and sublethal effects of the insecticides d-limonene, mineral oil, and potassium salts of fatty acid on *Dactylopius opuntiae* potential predator *Cryptolaemus montrouzieri*. International Journal of Tropical Insect Science 41(4): 2897–2906. <https://doi.org/10.1007/s42690-021-00473-z>.
- Fouad, H.A., de Souza Tavares, W. and Zanuncio, J.C. 2021. Toxicity and repellent activity of monoterpene enantiomers to rice weevils (*Sitophilus oryzae*). Pest Management Science 77: 3500–3507. <https://doi.org/10.1002/ps.6403>.
- Frank, D. 2012. Reduced risk insecticides to control scale insects and protect natural enemies in the production and maintenance of urban landscape plants. Environmental Entomology 41(2): 377–386. <https://doi.org/10.1603/en11230>.
- Gill, S.A., Miller, D.R. and Davidson, J.A. 1982. Bionomics and taxonomy of the *Euonymus* scale, *Unaspis euonymi* (Comstock), and detail biological information on the scale in Maryland (Homoptera: Diaspididae). Miscellaneous Publication 969. Maryland/USA.
- Henderson, C.F. and Tilton, E.W. 1995. Tests with acaricides against the brown wheat mite. Journal of Economic Entomology 48(2): 157–161.
- Hollingsworth, R.G. 2005. Limonene, a citrus extract, for control of mealybugs and scale insects. Journal of Economic Entomology 98(3): 772–779. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-98.3.772>.
- Isman, M.B. 2020. Botanical insecticides in the twenty-first century-fulfilling their promise? Annual Review of Entomology 65: 233–249. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011019-025010>.
- Lin, H., Li, Z., Sun, Y., Zhang, Y., Wang, S., Zhang, Q., Cai, T., Xiang, W., Zeng, C. and Tang, J. 2024. D-Limonene: promising and sustainable natural bioactive compound. Applied Sciences 14(11): 4605. <https://doi.org/10.3390/app14114605>.
- Ma, J. and M. Funston. 2008. Euonymus. Pp. 440–460. In: Wu, Z.Y. and Raven P.H. (eds.). Flora of China. Vol. 11 (Oxalidaceae through Aceraceae). Science Press, Beijing, and Missouri Botanical Garden Press, St. Louis.
- Mali, H., Shah, C., Raghunandan, B.H., Prajapati, A.S., Patel, D.H., Trivedi, U. and Subramanian, R.B. 2023. Organophosphate pesticides an emerging environmental contaminant: Pollution, toxicity, bioremediation progress, and remaining challenges. Journal of Environmental Sciences 127: 234–250. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2022.04.023>.
- Mohammed, K., Agarwal, M., Li, B., Newman, J., Liu, T. and Ren, Y. 2020. Evaluation of d-Limonene and beta-Ocimene as Attractants of *Aphytis melinus* (Hymenoptera: Aphelinidae), a Parasitoid of *Aonidiella aurantii* (Hemiptera: Diaspididae) on *Citrus* spp. Insects 11: 44. <https://doi.org/10.3390/insects11010044>.

- Nunes, M.R., Agostinetto, L., da Rosa, C.G., Sganzerla, W.G., Pires, M.F., Munaretto, G.A., Rosar, C.R., Bertoldi, F.C., Barreto, P.L.M., Veeck, A.P.L. and Zinger F.D. 2024. Application of nanoparticles entrapped orange essential oil to inhibit the incidence of phytopathogenic fungi during storage of agroecological maize seeds. Food Research International 175: 113738. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113738>.
- Ore, O.T., Adeola, A.O., Bayode, A.A., Adedipe, D.T. and Nomngongo, P.N. 2023. Organophosphate pesticide residues in environmental and biological matrices: Occurrence, distribution and potential remedial approaches. Environmental Chemistry and Ecotoxicology 5: 9-23. <https://doi.org/10.1016/j.enceco.2022.10.004>.
- Özyurt, Ö. and Ülgentürk, S. 2007. Biology of the Euonymus scale *Unaspis euonymi* Hemiptera: Diaspididae in urban areas of Ankara, Turkey. Journal of Agricultural Sciences 13(01): 47-54.
- Prado-Rebolledo, O.F., Molina-Ochoa, J., Lezama-Gutiérrez, R., García-Márquez, L.J., Minchaca-Llerenas, Y.B., Morales-Barrera, E., Tellez, G., Hargis, B., Skoda, S.R. and Foster, J.E. 2017. Effect of *Metarhizium anisopliae* (Ascomycete), Cypermethrin, and D-limonene, alone and combined, on larval mortality of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae). Journal of Medical Entomology 54(5): 1323-1327. <https://doi.org/10.1093/jme/tjx092>.
- Sadof, C.S. and Neal, J.J. 1993. Use of host plant resources by the Euonymus scale, *Unaspis euonymi* (Homoptera: Diaspididae). Annals of the Entomological Society of America 86: 614-620.
- Sadof, C.S. and Raupp, M.J. 1991. Effect of variegation in *Euonymus japonica* var. *aureus* on two phloem feeding insects, *Unaspis euonymi* (Homoptera: Diaspididae) and *Aphis fabae* (Homoptera: Aphididae). Environmental Entomology 20: 83-89.
- Sadof, C.S. and Sclar, D.C. 2000. Effects of horticultural oil and foliar- or soil-applied systemic insecticides on euonymus scale in pachysandra. Journal of Arboriculture 26: 120-125.
- Sanei-Dehkordi, A., Moemenbellah-Fard, M.D., Saffari, M., Zarenezhad, E. and Osanloo, M. 2022. Nanoliposomes containing limonene and limonene-rich essential oils as novel larvicides against malaria and filariasis mosquito vectors. BMC Complementary Medicine and Therapies 22: 140. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-38284-6>.
- Serviss, B.E., Hardage, J.W., Olsen, B.L. and Peck, J.H. 2017. *Euonymus japonicus* (Celastraceae) new to the Arkansas flora. Phytoneuron 80: 1-3.
- Song, B., Liang, Y., Liu, S., Zhang, L., Tang, G., Ma, T. and Yao, Y. 2017. Behavioral responses of *Aphis citricola* (Hemiptera: Aphididae) and its natural enemy *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) to non-host plant volatiles. Florida Entomologist 100(2): 411-421. <https://doi.org/10.1653/024.100.0202>.
- Theochari, I., Giatropoulos, A., Papadimitriou, V., Karras, V., Balatsos, G., Papachristos, D. and Michaelakis, A. 2020. Physicochemical characteristics of four limonene-based nanoemulsions and their larvicidal properties against two mosquito species, *Aedes albopictus* and *Culex pipiens molestus*. Insects 11: 740. <https://doi.org/10.3390/insects11110740>.
- EPA, 1994. U.S. Environmental Protection Agency, Limonene. EPA-738-F-94-030, 1–5. <http://www.epa.gov/oppsrrd1/REDs/factsheets/3083fact.pdf>.

Evaluation of the potential of d-limonene as an insecticide against the euonymus scale, *Unaspis euonymi* Comstock (Hemiptera: Diaspididae)

M. Ghoorchian¹, Sh. Rahmani^{2*} and A. Saleh¹

Received: 8 Jan., 2025

Accepted: 28 Feb., 2025

ABSTRACT

The euonymus scale, *Unaspis euonymi* Comstock, is a major pest of the evergreen spindle, *Euonymus japonicus*, and is distributed worldwide. This member of the Diaspididae family infests greenhouses and urban areas. Feeding on plant sap, it destroys chloroplasts, causing pale spots on the plant surface and leaves to drop. The density of this insect population on the branches and leaves greatly reduces beauty of plant. Management of this pest is currently carried out using chlorpyrifos mixed with emulsifying oil when mobile nymphs and early instars as sensitive stages are present. Considering the adverse environmental effects of chemical pesticides, it is recommended to introduce alternative solutions. Aiming this purpose, the effectiveness of the compound d-limonene as a biocompatible insecticide on the euonymus scale was investigated in this study. Experiments were conducted in six treatments and five replications under laboratory conditions. Approximately ten-centimeter-long shoots infected with the pest were treated with concentrations equivalent to 100, 133, 181, 246 and 333 gL⁻¹ of solvent (distilled water + 100 µL of Tween-80) using a small hand sprayer. After six hours, dead insects were recognized from live ones and counted. Probit analysis was performed using the Polo-Plus software. The LC₂₅, LC₅₀, LC₇₅, and LC₉₅ values were evaluated as 196, 247.8, 313, and 438.4 gL⁻¹, respectively. Although d-limonene showed insecticidal potential against the euonymus scale, further studies, including the estimation of synergistic effects, the use of adjuvants, and deep research in the field of nanotechnology, are needed to introduce this compound as an effective insecticide for *U. euonymi*.

Key words: *Unaspis euonymi*, boxwood shrub, essential oil, d-limonene

1. Green Space Research, Education and Consulting Center, District 17 Municipality, Tehran, Iran

2. Assistant Professor, Department of Plant Protection, SR.C., Islamic Azad University, Tehran, Iran

Corresponding author: shrahmani@iau.ac.ir