دو فصلنامه تحقیقات نوین در گیاه‌پزشکی
دانشگاه آزاد اسلامی شیراز
۱۴۰۲ - ۱۲ (۱) : ۳۹-۵۱

سمیت تنفسی و اثر کشندگی اسانس گیاه سدابی *Haplophyllum tuberculatum* A. Juss روی حشرات کامل شپشه آرد *Tribolium castaneum* Herbst و شپشه برنج *Sitophilus oryzae* L.

راحیل اسدی

گروه گیاه‌پزشکی، واحد مرودشت، دانشگاه آزاد اسلامی، مرودشت، فارس، ایران

(*) rahil_asadi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۱۵ **تاریخ پذیرش:** ۱۴۰۲/۱۰/۲۲

چکیده

در این تحقیق، اثر سمیت تنفسی گیاه سدابی *Haplophyllum tuberculatum* A. Juss (Rutaceae) روی حشرات کامل شپشه آرد *Tribolium castaneum* Herbst و شپشه برنج *Sitophilus oryzae* L. بررسی شد. آزمایشها در دمای ۱±۲۷ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۰ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شد. اسانس از برگ و گل گیاه سدابی استخراج شد. نتایج حاصل از آزمایش ها نشان داد که این اسانس روی حشرات کامل شپشه آرد و شپشه برنج سمیت تنفسی بالایی دارد. مرگ و میر حشرات کامل ۱-۷ روزه در هر دو حشره با افزایش غلظت و مدت زمان اسانس‌دهی افزایش یافت. حشرات کامل شپشه برنج در مقایسه با شپشه آرد حساسیت بیشتری به سمیت تنفسی اسانس از خود بروز دادند. میزان LC_{50} اسانس سدابی پس از ۲۴ ساعت اسانس‌دهی برای حشرات کامل شپشه برنج ۱۴/۹ میکرولیتر بر لیتر هوا بود. میزان این شاخص برای حشرات کامل شپشه آرد ۲۳/۱۱ میکرولیتر بر لیتر هوا بود. نتایج این بررسی نشان داد که اسانس گیاه سدابی منبع بیولوژیک مؤثری است که می‌تواند برای حفاظت غلات انبار شده از آلودگی توسط شپشه برنج و شپشه آرد بکار برده شود.

واژه‌های کلیدی: *Haplophyllum tuberculatum*، سمیت تنفسی، دورکنندگی، نیمه عمر اسانس، حشرات محصولات انباری.

مقدمه

حشرات آفت بعد از برداشت و در طی دوره انبارداری غلات خسارت های شدیدی ایجاد می کنند، که باعث کاهش کمیت و کیفیت غلات می شوند (Madrid *et al*., 1990) . فعالیت شپشه آرد *Tribolium castaneum* Herbst در انبارهای آرد و افزایش سریع جمعیت آن، در مدت کوتاهی محصول با مدفوع و پوسته های لاروی و شفیرگی مخلوط و از مرغوبیت آن کاسته شود. شپشه برنج *Sitophilus oryzae* L. از دیگر آفات مهم انباری است که نه تنها به برنج بلکه به تمام غلات انباری مانند گندم، جو، ذرت، چاودار و غیره حمله می کند. میزان خسارت این آفت روی غلات مختلف در حال حاضر بسیار شدید است، بطوریکه در بعضی از کشورها تا ۷۵ درصد

به محصول خسارت وارد می کند. خسارت عمده این حشره در درجه اول مربوط به لارو است، ولی حشره کامل نیز در طول زندگی از دانه ها تغذیه می کند .(Hill, 1990)

کنترل آفات انباری به کاربرد مداوم حشره کش های گازی و مایع وابسته است (White and Leesch, 1995) . سمومی مانند متیل بروماید و فسفین مؤثرترین سموم برای حفاظت از محصولات انباری، مواد غذایی و دیگر محصولات کشاورزی هستند. اما به دلایلی مصرف این دو سم محدود شده است (Taylor, 1994) . کاربرد متیل بروماید در سال ۲۰۰۵ به دلیل اثرات مخرب برای لایه ازن ممنوع شد و در کشورهای در حال توسعه تا سال ۲۰۱۵ مصرف این گاز سمی باید متوقف شود (Haque *et al*., 2002) . علاوه بر این مقاومت حشرات به فسفین از بسیاری از کشورها گزارش شده است (Lee *et al*., 2001). این قبیل مسائل نیاز به توسعه انواع جدید ترکیبات انتخابی حشره کشی را سبب می شود (Champ and Dyte, 1976).

یکی از منابع بالقوه برای تولید آفت کش های جدید، مواد تولید شده به وسیله گیاهان می باشند، که اثرات سوء کمتری روی محیط زیست دارند (Park *et al*., 2002) . تعداد زیادی از گیاهان و متابولیت های ثانویه آنها دارای اثرات فیزیولوژیکی و رفتاری روی حشرات آفت از جمله آفات انباری می باشند. این اثرات شامل سمیت، دور کنندگی، جلب کنندگی و بازدارندگی تغذیه روی حشرات آفت می باشند (Keita *et al*., 2000; Enan, 2001).

آلکالوییدها، گلیکوزیدها و روغن های فرار یا اسانسها سه گروه مهم مواد موثره گیاهان را تشکیل می‌دهند. اسانسها از نظر ترکیبات شیمیایی همگن نیستند بلکه بصورت ترکیبات مختلفی مشاهده می‌شوند. اسانس های گیاهی معمولاً در طبیعت زودتر تجزیه می شوند، سمیت کمتری برای انسان و سایر پستانداران دارند و اثرات مخرب کمتری در محیط زیست برجای می گذارند (Isman, 2006). اسانس های گیاهی دارای مواد ترپنوئیدی هستند. معمولاً ترپن ها در مجاری رزینی و موهای غده ای جمع می شوند (Panda and Kush, 1995). مطالعات زیادی در رابطه با اثر ترپنوئیدها روی حشرات صورت گرفته است. این تحقیقات نشان می دهند که ترپنوئیدها به عنوان مواد سمی، بازدارنده تغذیه و یا بازدارنده تخم ریزی در حشرات عمل می کنند (Enan, 2001) . بنابراین به نظر می رسد این ترکیبات می‌توانند به عنوان جایگزین و یا مکمل حشره کش های شیمیایی جهت حفاظت محصولات کشاورزی و انباری از جمله غلات در آینده نزدیك به کار روند .

سدابی (*Haplophyllum* A. Juss) یکی از جنس های اسانس دار خانواده Rutaceae محسوب می شود که بیشترین تنوع گونه‌ای آن در ایران، ترکیه و آسیای مرکزی می‌باشد. در ایران بیش از ۲۰ گونه از آن گزارش شده است. متابولیت‌های موجود در این جنس شامل آلکالوئیدهایRobastine ، Haplopine و Skimmianine است که در سایر جنس‌های خانواده Rutaceae دیده نشده است (Salvo *et al*., 2011). تعداد ۱۳ ترکیب در اسانس سه گونه سدابی بیابانی(*H. robustum* Bge) ، سدابی بی کرك (*H. glaberrimum* Bge & Boiss) و مورد کاذب(*H. perforatum* (M. B.) Kar. & Kir.) ، شناسایی شده که ترکیب های اصلی تشکیل دهنده اسانس، میرسن (۴۲/۹٪)، المول (۱۰/۶٪) و بتا-کاریوفیلن (۸/۹٪) بوده اند. قسمت اعظم ترکیب های تشکیل دهنده اسانس برگ های سدابی بیابانی و سدابی بی کرك، مونوترپن ها و بیشترین ترکیب های تشکیل دهنده اسانس برگ های مورد کاذب، سسکوئی ترپن ها بودند (Batooli and Bamoniri, 2011).

بر اساس نتایج حاصل از تحقیقات Acheuk *et al*. (2012) اسانس گیاه *Haplophyllum tuberculatum* منجر به تاخیر تخمگذاری و کاهش میزان باروری و بارآوری در ملخ صحرایی شده است. همچنین اثرات حشره‌کشی علیه پشه *Culex quinquefasciatus*. (Mohsen *et al*., 1989)، اثرات نماتد کشی(Onifade *et al*., 2008) ، اثرات قارچکشی و باکتری‌کشی (Al-Burtamni *et al*., 2005) گیاه سدابی ثابت شده است .

هدف از تحقیق حاضر نیز بررسی و دستیابی به این ترکیبات کم خطر جهت کنترل آفات انباری می باشند. گیاه سدابی از جمله این گیاهان می باشند که به صورت خودرو و یا زراعی در برخی رویش گاه های طبیعی رشد می نمایند و تاکنون تحقیقات چندانی در مورد اثرات حشره کشی آن صورت نگرفته است. خواص دارویی این گیاه و در نتیجه کم خطر بودن آنها برای انسان و محیط زیست باعث شد که به بررسی اثرات حشره کشی این گیاه روی آفات انباری برای اولین بار در ایران بپردازیم.

مواد و روش‌ها

* جمع آوری گیاه مورد مطالعه:

گونه گیاهی سدابی *Haplophyllum tuberculatum* از مناطق مختلف استان فارس (ارتفاعات زاگرس) در مرحله گلدهی جمع آوری گردید و یک نمونه برای تشخیص دقیق گونه و تایید نزد متخصصین گیاهشناسی ارسال شد. بخش های مورد مطالعه گیاه شامل برگ، گل و ساقه در شرایط سایه و دمای اتاق خشک شد و برای مراحل بعدی در پاکتهای کاغذی در فریزر و دمای ۲٤- درجه سلسیوس تا زمان تهیه اسانس نگهداری شدند.

* پرورش حشرات:

شپشه آرد *T. castaneum* شپشه برنج *S.* oryzae از روی محصولات انباری آلوده در شهر شیراز جمع آوری گردیدند و پس از شناسایی، در شرایط آزمایشگاهی به ترتیب روی آرد گندم همراه با مخمر (۱:۱۰)، ودانه های برنج تکثیر شدند. حشرات در شرایط دمای ۱ ± ۲۷ و رطوبت نسبی ۵ ± ۶۰ درصد و تاریکی در دستگاه ژرمیناتور پرورش داده شدند.

* تهیه اسانس گیاهی:

جهت اسانس گیری از گیاه سدابی ، برگ های این گیاه به کمک خرد کن برقی به صورت پودر در آمد. هر بار ۵۰ گرم از برگ های پودر شده همراه با ۶۰۰ میلی لیتر آب مقطر با کمک دستگاه اسانس گیر شیشه ای مدل Clevenger در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس اسانس گیری شد. زمان اسانس گیری ۱۸۰ دقیقه بود. اسانس های جمع آوری شده با کمک سولفات سدیم آبگیری شده و تا زمان استفاده در ظروف شیشه ای به حجم ۲ میلی لیتر با روپوش آلومینیومی در یخچال در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند. استخراج اسانس در آزمایشگاه مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی فارس انجام گرفت.

* آزمایش های زیست سنجی:

میزان سمیت بر اساس روش Keita *et al.* (2001) و درصد مرگ و میر اصلاح شده طبق فرمول Abbott (1925) محاسبه گردید. برای محاسبه LC_{50} از روش Finney (1997) و برنامه آماری SAS 6.12 استفاده شد. اثر دورکنندگی اسانس گیاهی طبق روش Fields *et al.* (2001) تعیین شد. سمیت تنفسی اسانس روی تخم و لارو سن اول شپشه آرد طبق روش Keita *et al.* (2001) ، Ketoh et al.(2002) و Negahban *et al.* (2006) انجام شد.

جهت تعیین دوام سمیت تنفسی اسانس، بالاترین غلظت اسانس روی حشرات کامل شپشه آرد و برنج مورد بررسی قرار گرفت. اسانس مورد نظر توسط میکروپیپت به داخل شیشه های مورد آزمایش ریخته و بعد هر دو روز یکبار به هر شیشه ۱۰ عدد حشره کامل ۱ تا ۷ روزه معرفی شده و تعداد افراد مرده پس از ۲۴ ساعت ارزیابی شد. این آزمایش تا زمان مرگ کامل حشرات ادامه یافت.

* سمیت تنفسی اسانس گیاهی:

بر اساس روش Rahman and Schmidt (1999) و Keita (2001) این آزمایش در ظروف شیشه ای درپوش دار به حجم ۲۷ میلی لیتر (به قطر ۲/۲ و ارتفاع ۷ سانتی متر) انجام شد. با کمک میکرو پیپت مقادیر۱، ۳، ۵، ۱۰میکرو لیتر اسانس گیاهان را روی یک قطعه

کاغذ صافی به قطر ۲ سانتیمتر ریخته و جهت پخش یکنواخت اسانس در فضای شیشه، کاغذ صافی داخل درپوش ظروف شیشه ای قرار داده شد. تعداد ۱۰ حشره کامل ۷-۱ روزه شپشه آرد و شپشه برنج به داخل ظروف شیشه ای رها سازی گردید و اطراف دهانه هر ظرف با نوار مخصوص محکم شد تا بخار اسانس به بیرون نفوذ نکند. طی آزمایش‌های جداگانه در زمان های مختلف، پس از ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۲۴ ساعت حشرات به ظروف عاری از اسانس منتقل شده و مرگ و میر بعد از ۴۸ ساعت ارزیابی شد. تعداد حشرات مرده در ظروف تیمار و شاهد شمارش گردید و در صد مرگ و میر اصلاح شده طبق فرمول Abbott محاسبه شد (Abbott, 1925). این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی در پنج تکرار همراه با شاهد در شرایط دمایی ۱ ± ۲۷ و رطوبت نسبی ۵ ± ۶۰ درصد و تاریکی انجام شد. داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS 11.5 تجزیه آماری شد.

* تعیین غلظت کشنده ۵۰ در صد (LC_{50}) روی حشرات کامل:

در بررسی روند مرگ و میر حشرات، سمیت اسانس به قدری زیاد بود که حتی در پایین ترین غلظت نیز در مدت زمانی کوتاه تلفات ایجاد می گردید. لذا جهت محاسبه غلظت کشنده ۵۰ درصد، غلظت های ۰/۵، ۰/۶، ۰/۷، ۰/۸ و ۰/۹ میکرولیتر اسانس در شیشه های ۲۸۰ میلی لیتری روی شپشه آرد، غلظت های۰/۳، ۰/۴،۵/۰، ۰/۶ و ۰/۷ میکرولیتر اسانس روی شپشه برنج مورد آزمایش قرار گرفت. حشرات ۲۴ ساعت پس از اسانس دهی به ظروف سالم عاری از اسانس منتقل شدند و پس از ۴۸ ساعت مرگ و میر آن ها ارزیابی شد. با استفاده از نرم افزار SAS 6.12 و به روش Finney (1971) غلظت کشنده ۵۰ درصد محاسبه گردید.

* بررسی دوام سمیت تنفسی اسانس گیاهی:

در این آزمایش جهت بررسی دوام سمیت اسانس گیاهی بالاترین غلظت دو اسانس ، ۱۰ میکرولیتر در حجم ۲۷ میلی لیتر، پس از ۲ روز از تزریق اسانس تا زمانیکه مرگ و میر حشرات به صفر رسید روی افراد ۷-۱ روزه شپشه آرد، شپشه برنج مورد آزمایش قرار گرفت. به کمک میکروپیپت اسانس به داخل شیشه های آزمایش ۲۷ میلی لیتری، مطابق آزمایش بررسی سمیت تنفسی، ریخته شد و سپس آزمایش سمیت تنفسی انجام شد، پس از ۲۴ ساعت حشرات به ظروف عاری از اسانس منتقل شده و پس از ۴۸ ساعت مرگ و میر ارزیابی شد .

* آزمایش اثر دورکنندگی اسانس گیاهی:

بر اساس روش Fields *et al.* (2001) با اندکی تغییرات در دو سمت یک ظرف پلاستیکی مکعبی شکل درپوش دار به حجم ۶۵ میلی لیتر سوراخی تعبیه شد و هر سوراخ با کمک یک لوله پلاستیکی به قطر ۳ میلی متر و طول ۲ سانتیمتر به ظرف پلاستیکی دیگر با همان ابعاد متصل گردید.

جهت بررسی ترجیح شپشه آرد و شپشه برنج به صورت زیر عمل شد. در هر دو ظرف که در دو طرف ظرف وسط تعبیه شده بود، ۴۰ دانه برنج و یا گندم ریخته شد. در ظرف شاهد روی این دانه ها فقط یك میلی لیتر استون ریخته شد. در ظرف تیمار روی دانه ها با کمك میکروپیپت مقادیر ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۳ میکرولیتر از هر اسانس در یك میلی لیتر استون ریخته شد. سپس تعداد ۵۰ حشره ۷-۱ روزه شپشه آرد، شپشه برنج که به مدت ۲۴ ساعت گرسنه نگهداری شده بودند، در ظرف وسطی رها شدند. درب ظروف در حین آزمایش باز و با توری پوشیده شده بود. پس از ۲۴ ساعت تعداد حشرات در هر ظرف شمارش و درصد دورکنندگی اسانس طبق فرمول (%R)= 2(X-50) که X درصد حشرات در ظرف شاهد می باشد محاسبه شد (Owusu, 2001). این آزمایش در قالب طرح فاکتوریل (فاکتور اول گونه های حشرات و فاکتور دوم غلظت های مختلف اسانس) در۳ تکرار در شرایط دمایی ۱ ± ۲۷ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵ ± ۶۰ درصد و تاریکی انجام شد. داده ها در صورت معنی دار شدن با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۵ درصد مقایسه آماری شدند. داده ها قبل از تجزیه آماری با تبدیل به Arc sin X/100 نرمال شدند.

نتایج

* سمیت تنفسی اسانس گیاه *Haplophyllum tuberculatum* روی شپشه آرد:

بر اساس نتایج حاصل از آزمایشات سمیت تنفسی، با گذشت زمان و افزایش غلظت، میزان مرگ و میر حشرات افزایش یافت. بیشترین درصد مرگ و میر در بالاترین غلظت) (۱۰ میکرولیتر) بعد از ۱۲ ساعت، ۱۰۰ درصد بود در حالی که مرگ و میر ایجاد شده در پایین ترین غلظت (۱ میکرولیتر) بعد از ۱۲ ساعت، ۹۲ درصد بود و بعد از ۲۴ ساعت، ۱۰۰ درصد تلفات را داشت. همچنین نتایج نشان داد که با گذشت زمان درصد تلفات افزایش می یابد. بدین صورت که به عنوان مثال در پایین ترین غلظت (۱ میکرولیتر) بعد از ۳ ساعت، ۱۴ درصد تلفات و بعد از ۶ ساعت، ۴۶درصد تلفات ایجاد کرد و همچنین در بالا ترین غلظت (۱۰ میکرولیتر) بعد از ۳ ساعت، ۴۲ درصد تلفات و بعد از ۶ ساعت، ۷۰درصد تلفات ایجاد کرد (شکل ۱).

* سمیت تنفسی اسانس گیاه *Haplophyllum tuberculatum* روی شپشه برنج:

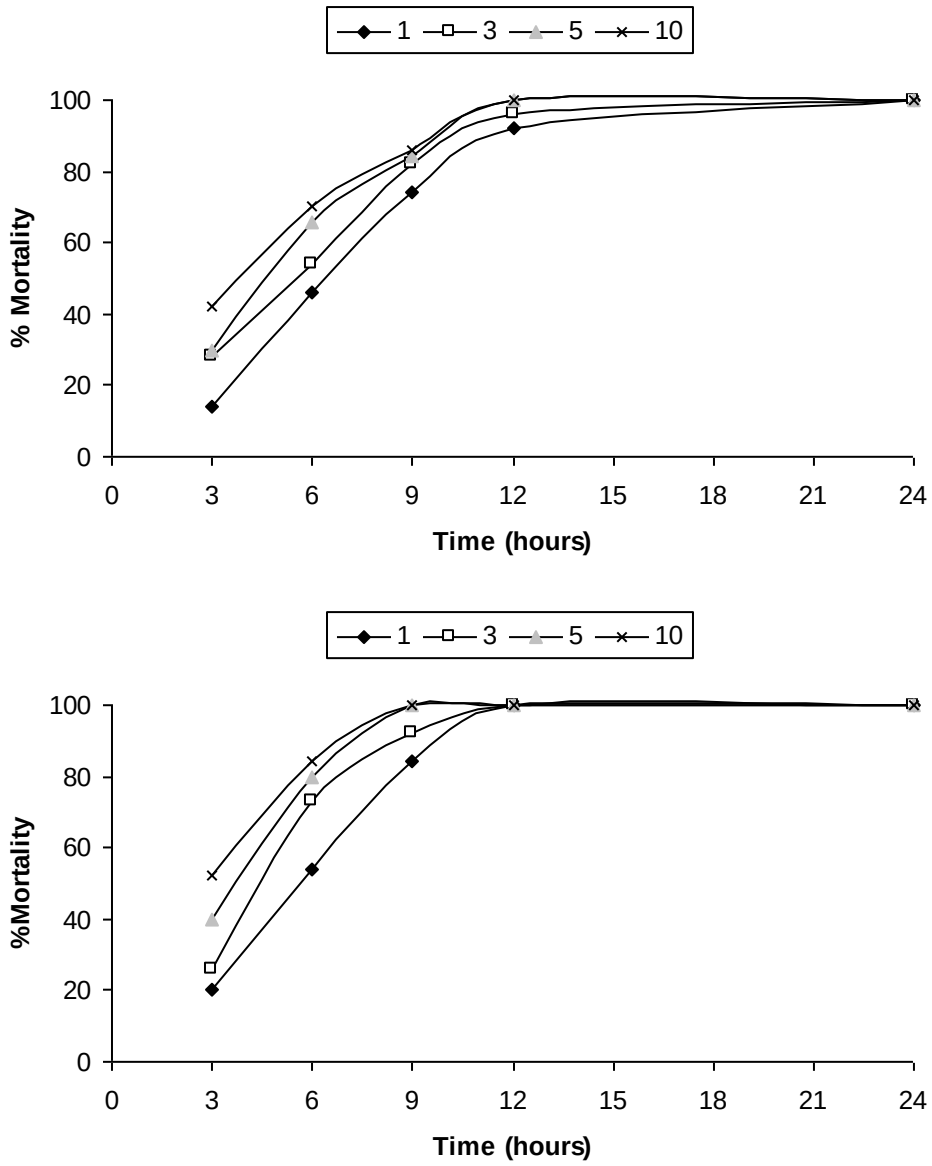
نتایج حاصل از آزمایشات سمیت تنفسی نشان داد که با گذشت زمان و افزایش غلظت، میزان مرگ و میر حشرات افزایش یافت. بیشترین درصد مرگ و میر در بالاترین غلظت) ۱۰ میکرولیتر) بعد از ۹ ساعت، ۱۰۰ درصد بود در حالی که مرگ و میر ایجاد شده در پایین ترین غلظت (۱ میکرولیتر) بعد از ۲۴ ساعت، ۱۰۰ درصد تلفات را داشت. همچنین نتایج نشان داد که با گذشت زمان درصد تلفات افزایش می یابد. بدین صورت که به عنوان مثال در پایین ترین غلظت (۱ میکرولیتر) بعد از ۳ ساعت، ۲۰ درصد تلفات و بعد از ۶ ساعت، ۵۴ درصد تلفات ایجاد کرد و همچنین در بالاترین غلظت (۱۰ میکرولیتر) بعد از ۳ ساعت، ۵۲ درصد تلفات بعد از ۶ ساعت، ۸۴ درصد تلفات ایجاد کرد (شکل ۱). بدین ترتیب روند مرگ و میر نشان می دهد که گذشت زمان و افزایش غلظت سبب افزایش مرگ و میر می شود.

* غلظت کشنده ۵۰ درصد (LC_{50}) اسانس گیاه *Haplophyllum tuberculatum*:

مقادیر LC_{50}محاسبه شده برای حشرات مورد مطالعه پس از ۲۴ ساعت از کاربرد اسانس نشان می دهد که مقدار LC50 مربوط به شپشه برنج حبوبات (۱۴/۹ میکرولیتر بر لیتر) و مقدار مربوط به شپشه آرد (۲۳/۱۱ میکرولیتر بر لیتر) می باشد. این آزمایش نشان می دهد که درصد تلفات شپشه آرد در طی زمان کمتر از شپشه برنج است، و مقدار LC50 محاسبه شده برای شپشه آرد پس از ۲۴ ساعت به طور معنی داری بسیار بیشتر از مقدار LC50 محاسبه شده برای شپشه برنج است. (جدول ۱).

* دوام اسانس گیاه *Haplophyllum tuberculatum* روی شپشه آرد و شپشه برنج:

نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان می دهد که بین زمان های مختلف استفاده از اسانس های گیاهی روی میزان مرگ و میر حشرات کامل شپشه آرد و شپشه برنج حبوبات اختلاف معنی داری وجود داشته و با گذشت زمان تاثیر اسانس کاهش یافته است، به طوری که در اسانس *Haplophyllum tuberculatum* به ترتیب بعد از ۷۴ و ۸۹ روز میزان مرگ و میر به ترتیب در شپشه آرد و شپشه برنج به صفر رسیده است (شکل ۲). در این آزمایش مشخص شد که نگهداری از اسانس *H. tuberculatum* به مدت۳۸ و ۴۸ روز باعث ۵۰ درصد مرگ و میر روی شپشه آرد و شپشه برنج می شود.LT50 محاسبه شده به منظور بررسی دوام اسانس *H. tuberculatum* روی شپشه آرد و شپشه برنج به ترتیب ۳۶/۱۸ و ۴۳/۲۲ روز تعیین شد.



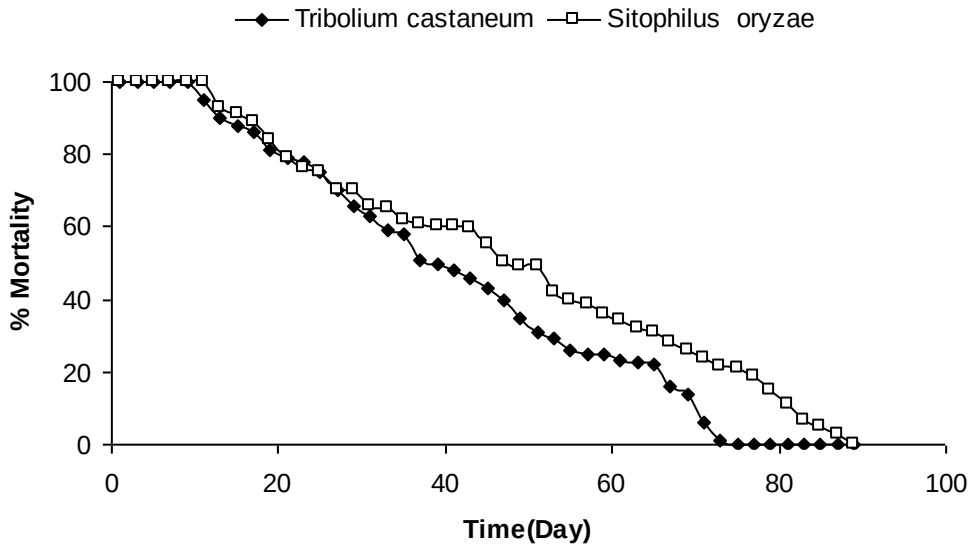
شکل ۱- درصد مرگ و میر توسط اسانس گیاه *H. tuberculatum* روی حشرات کامل شپشه آرد *T. castaneum* (بالا) و شپشه برنج *S. oryzae* (پایین) در غلظت های مختلف ۱، ۳، ۵ و ۱۰ میکرولیتر و زمان های متوالی

Figure1. Mortality percentage of essential oils of *H. tuberculatum* against *T. castaneum* (top) and *S. oryzae* (below) adults in different times and concentratin

جدول ۱- مقادیر LC_{50} محاسبه شده اسانس گیاه *H. tuberculatum* روی حشرات کامل شپشه آرد *T. castaneum* و شپشه برنج *S. oryzae* پس از ۲۴ ساعت

Table 1. LC_{50} of *H. tuberculatum* essential oils against *T. castaneum* and *S. oryzae* adults after 24h

species	Number of insect	X^2 (df)	LC_{50} (µl/l)	Confidence interval 95%	
				Upper limit	Lower limit
T. castaneum	150	0.96(3)	23.11	30.82	20.43
S. oryzae	150	3.22(4)	14.9	19.20	9.01



شکل ۲- سمیت تنفسی اسانس گیاه *H. tuberculatum* روی حشرات کامل شپشه آرد *T. castaneum* و شپشه برنج *S. oryzae*

Figure 2. Fumigant toxicity of *H. tuberculatum* essential oil on *T. castaneum* and *S. oryzae*

* اثر دورکنندگی اسانس *Haplophyllum tuberculatum* روی شپشه آرد و شپشه برنج:

نتایج حاصل از آزمایش اثر دورکنندگی اسانس *H. tuberculatum* نشان داد که بین درصد دورکنندگی این اسانس روی دو حشره در سطح ۱ درصد اختلاف معنی داری وجود دارد (جدول ۳)، به طوری که این اسانس روی شپشه آرد (۹۱/۲۵ درصد) بیشترین درصد دورکنندگی را نشان می دهد و شپشه برنج (۶۶/۲۲ درصد) حساسیت کمتری نشان می دهند (جدول ۳).

همچنین نتایج نشان می دهد که اثرات متقابل درصد دورکنندگی اسانس روی حشرات با غلظت های مختلف اختلاف معنی داری دارد، و با افزایش غلظت، درصد دورکنندگی به طور معنی داری افزایش می یابد. بیشترین درصد دورکنندگی (۲/۹۲± ۹۱/۲۵ درصد) در بالاترین غلظت (۳ میکرولیتر در یك میلی لیتر استون) مشاهده گردید (جدول۳ و شکل ۳).

جدول ۲- میانگین درصد دورکنندگی اسانس *H. tuberculatum* روی حشرات کامل شپشه آرد *T. castaneum* و شپشه برنج *S. oryzae*

Table 2. Repellency mean of *H. tuberculatum* essential oils against *T. castaneum* and *S. oryzae* adults

species	Repllency%mean±SE
T. castaneum	91.25±2.92a
S. oryzae	66.22±1.02b

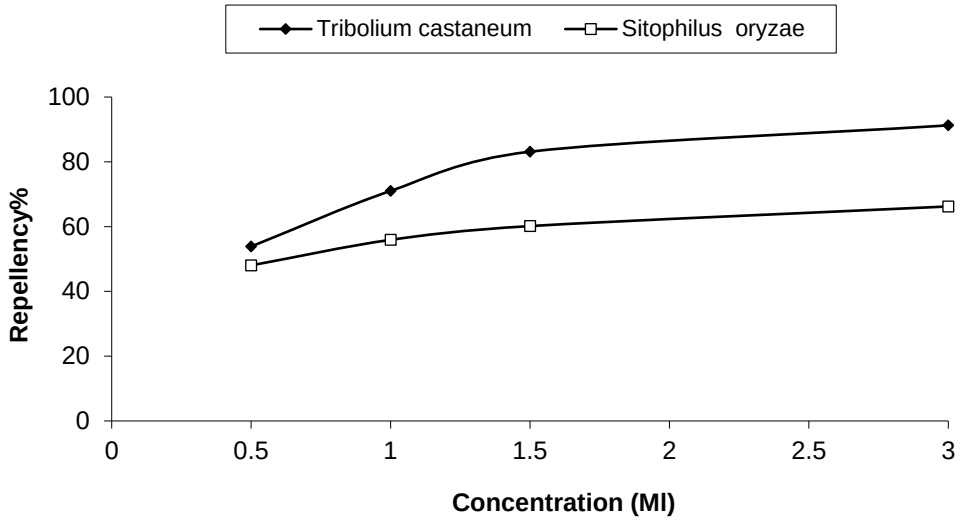
-Values in column with the same letters do not differ significantly (P<0.05)

جدول ۳- میانگین درصد دورکنندگی اسانس *H. tuberculatum* در غلظت های مختلف روی شپشه آرد

Table 3. Repellency mean of different concetration *H. tuberculatum* essential oils against *T. castaneum* adults

Concentration (Ml)	Repllency%mean ± SE
0.5	53.85±7.48d
1.0	71.01±3.11c
1.5	83.12±1.25b
3.0	91.25±2.92a

-Values in column with the same letters do not differ significantly (P<0.05)



شکل ۳- درصد دور کنندگی اسانس گیاه *H. tuberculatum* روی حشرات کامل شپشه آرد *T. castaneum* و شپشه برنج *S. oryzae*

Figure 3. Repellency percentage of essential oils of *H. tuberculatum* on *T. castaneum* and *S. oryzae* adults

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می دهد که اسانس گیاه *H. tuberculatum* روی شپشه آرد و شپشه برنج سمیت تنفسی ایجاد می کنند و گونه های حشرات مورد مطالعه حساسیت یکسانی در برابر اسانس ندارند. همچنین میزان سمیت تنفسی اسانس با توجه به گونه حشره، غلظت های مختلف اسانس و مدت زمان قرار گرفتن در معرض اسانس متفاوت است. اسانس گیاه *H. tuberculatum* سمیت تنفسی بالایی ایجاد می کند. به عنوان مثال میزان مرگ و میر در غلظت ۱ از اسانس بعد از ۱۲ ساعت قرار گرفتن در معرض اسانس در شپشه آرد ۹۲ درصد، در شپشه برنج ۱۰۰ درصد بود. علاوه بر این، نتایج نشان می دهد که شپشه آرد و شپشه برنج حساسیت یکسانی در برابر اسانس گیاهی نداشته اند و بیشترین درصد مرگ و میر در شپشه برنج و کمترین مرگ و میر در شپشه آرد مشاهده شده است. این نتایج با گزارش های Huang *et al.*(2002) و Liu and Ho (1999) و Tripathi *et al.*, (2002) مطابقت دارد. آنها گزارش کرده اند که افراد *T. castaneum* نسبت به *S. oryzae* در برابر اسانس های مورد آزمایش مقاومت بیشتری از خودشان نشان داده اند.

تحقیقات متعددی نیز بیان کننده این مطلب است که در بین حشرات انباری مطالعه شده مقاوم ترین حشره در برابر اسانس های گیاهی شپشه آرد می باشد .

بررسی‌های انجام شده نشان داد که افزایش غلظت اسانس های گیاهی باعث افزایش مرگ و میر در جمعیت هر دو گونه حشره شد. نتایج حاصل از آزمایش های Tripathi *et al*. (2002) و Huang *et al*. (2002) نیز موید این مطلب است که افزایش غلظت اسانس های مورد مطالعه باعث افزایش میزان مرگ و میر افراد می گردد .

نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان می دهد که با افزایش مدت زمان قرار گرفتن حشرات در معرض اسانس میزان مرگ و میر حشرات افزایش می یابد، به عبارتی بیشترین میزان مرگ و میر در جمعیت گونه های مختلف حشرات پس از ۲۴ ساعت از شروع اسانس دهی مشاهده می شودو بیشترین میزان مرگ و میر بعد از ۲۴ ساعت در هر دو گونه حشره مشاهده گردیده است. نتایج محققین مختلف نیز بیان کننده این مطلب است که با گذشت زمان، مرگ و میر افزایش می یابد و اسانس گیاهی می تواند تا مدتی اثر حشره کشی خود را حفظ نمایند. بررسی های مختلف نیز نشان می دهد که اسانس های گیاهی برای مدتی قدرت حشره کشی خود را حفظ خواهند نمود (; Shaaya *et al*., 1997; Keita *et al*., 2000; Kim *et al*., 2003).

مقادیر LC_{50} محاسبه شده برای حشرات مورد مطالعه پس از ۲۴ ساعت از زمان کاربرد اسانس نشان می دهد که کمترین مقدار LC_{50} محاسبه شده مربوط به شپشه برنج (۱۴/۹) و بیشترین مقدار مربوط به شپشه آرد (۳۸/۲۱) می باشد .

در تحقیقات Shakarami, (2004) ، مقادیر LC_{50} به دست آمده از اسانس *A. aucheri* روی شپشه آرد، شپشه برنج و سوسک چهار نقطه ای حبوبات ۱۲۲/۱، ۱۲۷/۷ و ۱۰۷/۴ میکرولیتر بر لیتر به دست آمده است. بر این اساس اسانس های گیاه *H. tuberculatum* نسبت به اسانس *A. aucheri* سمیت تنفسی بیشتر و اثر حشره کشی قوی تری دارند.

همچنین این نتایج نشان می دهد که اثر اسانس گیاهی روی میزان مرگ و میر حشرات کامل شپشه آرد و شپشه برنج با گذشت زمان کاهش یافته است. به عنوان مثال میزان مرگ و میرایجاد شده توسط اسانس سدابی روی شپشه آرد و شپشه برنج به ترتیب بعد از ۷۵ و ۸۹ روز به صفر رسید. میزان دوام اسانس گیاهی با گذشت زمان کاهش یافت و اثر اسانس کم شد .

ترکیبات شناسایی شده موجود در اسانس ترکیبات مونوترپنوئیدها هستند (Coats *et al*., 1994; Regnault-Roger and Hamraoui, 1995, Ahn *et al*., 1998). مونو ترپنوئیدها ترکیبات فرار هستند که به داخل بدن حشرات نفوذ می کنند و باعث ایجاد اختلال در فعالیت های فیزیولوژیکی می گردند (Ahn *et al*., 2002) . به دلیل فرار بودن، این ترکیبات دوام زیادی در محیط ندارند و با گذشت زمان اثر آن ها کم می شود و از بین می رود .

در این تحقیق شپشه آرد حساسیت بیشتری نسبت به شپشه برنج به دورکنندگی اسانس سدابی نشان داد. طبق نظر برخی از محققین قدرت تحرک بالای شپشه آرد می تواند علت افزایش درصد دورکنندگی برای این حشره باشد(Tripathi *et al*., 2000) . این نتایج با نتایج حاصل از آزمایش های Shakarami *et al*. (2005) نیز مطابقت دارد. نتایج نشان می دهد که با افزایش غلظت اسانس درصد دورکنندگی هر دو گونه حشره افزایش می یابد، و بیشترین درصد دورکنندگی در بالاترین غلظت مشاهده می گردد. این نتایج توسط محققین مختلف نیز گزارش گردیده است.

سپاسگزاری

مراحل تهیه اسانس در آزمایشگاه مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس (بعثت) و آزمایشات در آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد مرودشت انجام شد. بدینوسیله نگارنده مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود از همکاری مسئولین مربوطه را اعلام می نماید.

منابع

Acheuk, F., Cusson M. & Doumandji-Mitiche B. 2012. Effects of a methanolic extract of the plant *Haplophyllum tuberculatum* and of teflubenzuron on female reproduction in the migratory locust, Locusta *migratoria* (Orthoptera: Oedipodinae). *Journal of Insect Physiology*, 58: 335–341

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

Al-Burtamani, S. K. S., Fatope, M. O., Marwah, R. G., Onifade, A. K. & Al-Saidi, S. H. 2005. Chemical composition, antibacterial and antifungal activities of the essential oil of Haplophyllum buberculatum from Oman. *Journal of Ethno pharmacology*, 96: 107–112.

Ahn, Y.J., Lee, S.B., Lee, H.S. & Kim, G.H. 1998. Insecticidal and acaricidal activity of caravacrol and β--thujaplicine derived from *Thujopsis dolabrata* var. *hondai* sawdust. *Journal of Chemical Ecology*, 24:81–90.

Batooli, H. & Bamoniri, A. 2011. Comparison of essential oil compounds of *Haplophyllum* A. Juss in Kashan. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 28(4):58.

Champ, B. R. & Dyte, C. E. 1976. FAO global survey of pesticide susceptibility of stored grain pests. FAO *Plant Protection Bulletin*, 25: 49-67.

Coats, J. R. 1994. Risks from natural versus synthetic insecticides. *Annual Review of Entomology*, 39: 489-515.

Enan, E. 2001. Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. Comparative *Biochemistry and Phisiology*, 130: 325-337.

Fields, P.G., Xie, Y.S. & Hou, X. 2001. Repellent effect of pea (*Pisum sativum*) fractions against stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, 37: 359-370.

Finney D. J. 1971. *Probit Analysis* (3rd ed.). UK: Cambridge University Press, Cambridge.

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

Hill, D. S. 1990. *Pests of Stored Products and Their Control*. Belhaven Press a division of Pineter Publishers, London.

Huang, Y., Ho, S. H., Lee, H. C. & Yap, Y. L. 2002. Insecticidal properties of eugenol, isoeugenol and methyl eugenol and their effects on nutrition of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Col: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* Herbst (Col: Tenebrionidae). *Journal of Stored Products Research*, 38: 403-412.

Keita, S M., Vincent, C., Schmidt, J. P. & Arnason, J. T. 2001. Insecticidal effects of *Thuja occidentalis* (Cupressaceae) essential oil on *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Canadian Journal of Plant Science*, 81(1): 173-177.

Keita, S. M., Vincent, C., Schmidt, J., Ramaswamy, S. & Belanger, A. 2000. Effect of various essential oils on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 36: 355-364.

Ketoh, G. K., Koumaglo, H. K. & Glitho, I. A. 2005. Inhibition of *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) development with essential oil extracted from *Cymbopogon schoenanthus* L. Spreng. (Poaceae), and the wasp *Dinarmus basalis* (Rondani) (Hymenoptera: Pteromalidae), *Journal of Stored Products Research*, 41: 363-371.

Kim, S. I., Roh, J. Y., Kim, D. H., Lee, H. S. & 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.

Lee, B. H., Annis, P. C., Tumaalii F. & Choi, W. S. 2004. Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1, 8-Cineole against 3 major stored grain insects. *Journal of Stored Products Research*, 40: 553-564.

Liu, Z. L. & Ho, H. L. 1999. Bioactivity of essential oils extracted from *Evodia rutaecarpa* Hook F. et Thomas against the grain storage insects, *Sitophilus zeamais* Motsch. and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Stored Products Research*, 35: 317-328.

Madrid, F. J., White, N. D. G. & Loschiavo, S. R. 1990. Insects in stored cereals, and their association with farming practices in southern Manitoba. *Canadian Entomologist*, 122: 515-523.

Mohsen, Z. H., Jaffer, H. J., Al-Saad, M. & Ali, Z. S. 1989. Insecticidal effects of *Haplophyllum tuberculatum* against *Culex quinquefasciatus*. *International Journal of Crude Drug Research* 27, 17–21.

Negahban, M., Moharramipour, S. & Sefidkon, F. 2006. Fumigant toxicity of essential oil from *Artemisia sieberi* Besser against three stored-product insects. *Journal of Stored Products Research* . 56, 34-45.

Onifade, A. K., Fatope, M. O., Deadman, M. L. & Al-Kindy, S. M. Z. 2008. Nematicidalactivity of *Haplophyllum tuberculatum* and *Plectranthus cylindraceus* oils against *Meloidogyne javanica*. *Biochemical Systematics and Ecology* 36, 679–683.

Owusu, E.O. 2001. Effect of some Ghanaian plant components on control of two stored product insect pests of cereals. *Journal of Stored Products Research*, 37 (1): 85-91

Park, B. S., Lee, S. E., Choi, W. S., Jeong, C. Y., Song, Ch. & 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.

Rahman, M. M. & Schmidt, G. H. 1999. Effect of *Acorus calamus* (L.) (Aceraceae) essential oil vapors from various origins on *Callosobruchus phaseoli* (Gyllenhal) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 35:285 – 295

Regnault-Roger, C., Philogene, B. J. R. & Vincent, C. 2005. *Biopesticides of Plant Origin*. Paris: Lavoisier.

Salvo, G., Manafzadeh, S., Ghahremaninejad, F., Tojibaev, K., Zeltner, L. & Conti, E. 2011. Phylogeny, morphology, and biogeography of *Haplophyllum* (Rutaceae), a species-rich genus of the Irano-Turanian floristic region. *Taxon*, 60: 513-527.

Shakarami, J., Kamali, K. & Moharamipour, S. 2005. Fumigant toxicity and repellency effect of essential oil of *Salvia bacteata* on four species of warehouse pests. *Journal of Entomological Society of Iran*, 24 (2): 35-50.

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

Taylor, R. W. D. 1994. Methyl bromide- Is there any future for this noteworthy fumigant? *Journal of Stored Products Research*, 30: 253-260.

Tripathi, A. K., Prajapati, V., Aggarwal, K. K., Khanuja, S. P. S. & Kumar, S. 2000. Repellency and toxicity of oil from *Artemisia annua* to certain stored-product beetles. *Journal of Economic Entomology*, 93(1): 43-47.

Tripathi, A. K., Prajapati, V., Verma, N., Bahl, J. L., Bansala, R. P. & Khanuja, S. 2002. Bioactivities of the leaf essential oil of *Curcuma longa* on three species of stored-product beetle (Coleoptera). *Journal of Economic Entomology*, 95(1): 183-189.

White, N. D. G. & Leesch, J. G. 1995. Chemical control, pp. 287-330, In: Subramanyam, B. & Hagstrum D. W. (Eds.). *Integrated Management of Insects in Stored Products*. Marcel Dekker, New York.

Journal of Novel Researches on Plant Protection
(Islamic Azad University, Shiraz Branch)
2023 – **12** (**1**): 39 - 51

Fumigant toxicity and lethal activity of essential oil from *Haplophyllum tuberculatum* to *Tribolium castaneum* and *Sitophilus oryzae*

Rahil Asadi

Department of Plant Protection, Marvdasht Branch, Islamic Azad University, Marvdash, Fars, Iran

rahil_asadi@yahoo.com

Abstract

In this study, fumigant activity of *Haplophyllum tuberculatum* (Forssk.) A. Juss (Rutaceae) essential oil was assessed against *Tribolium castaneum* Herbst and *Sitophilus oryzae* L. . The experiment was conducted at 27±1˚C, 60± 5 RH% in dark condition. Dry leaves and flowers were subjected to hydrodistulation using a modified Clevenger-type apparatus to obtain essential oil. The fumigant toxicity was studied against one to seven days old adult of T. *castaneum* and *S. oryzae* with four concentrations at several exposure times (3, 6, 9, 12 and 24h.). Results showed that *H. tuberculatum* oil was shown to be highly effective on adults of *T. castaneum* and *S. oryzae*. The mortality of 1-7 days old adults was found to be increased significantly as its concentration and time were increased. Analysis showed that *S. oryzae* (LC50= 14.9 µl.L-1) was more susceptible to *H. tuberculatum* than *T. castaneum* (LC50= 23.1 µl.L-1). The finding indicated the efficiency of *H. tuberculatum* oil to manage store product pests such as *T. castaneum* and *S. oryzae*.

Keywords: *Haplophyllum tuberculatum*, fumigant activity, repellency, half-life time, stored products insects.