دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اراک
شاپا ٤٦٦٨-٢٠٠٨
http://jer.iau-arak.ac.ir

فصلنامه تخصصی تحقیقات حشره‌شناسی
(علمی- پژوهشی)
جلد ۱۲، شماره۱، سال ۱۳۹۹، (۸۲-۷۱)

بررسی سمیت و شاخص‌های تغذیه‌ای اسانس‌های گیاهی دارچین، نعناع فلفلی و اکالیپتوس بر روی مراحل مختلف زیستی سوسک برگ‌خوار نارون *Xanthogaleruca luteola* (Coleoptera: Chrysomelidae) در شرایط آزمایشگاهی

ستاره مومن بیت اللهی[۱]، رضا وفایی شوشتری[۲]، زهرا رفیعی کرهرودی[۲]*

۱- دانشجوی دکتری، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک- دانشکده کشاورزی- گروه حشره شناسی
۲- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد اراک- دانشکده کشاورزی- گروه حشره شناسی

چکیده

سوسک برگ خوار نارون یکی از مهم‌ترین آفات درختان نارون در مرحله حشره کامل و به ویژه مراحل لاروی می‌باشد. در این تحقیق سمیت تماسی و شاخص‌های تغذیه‌ای اسانس گیاهان دارچین، نعناع فلفلی و اکالیپتوس مورد ارزیابی قرار گرفتند. آزمایش‌ها در ۵ غلظت و ۳ تکرار از هر اسانس برای هر مرحله از زندگی سوسک برگ خوار نارون با دمای ۱±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۰ درصد،۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در شرایط آزمایشگاه انجام شد. نتایج حاصل از زیست سنجی داده‌ها نشان داد که با افزایش غلظت اسانس‌ها، میزان مرگ و میر سوسک برگ خوار نارون در مراحل مختلف زندگی، در هر سه اسانس افزایش یافته است. بر اساس این نتایج اسانس دارچین با ایجاد ۸۰ درصد مرگ و میر نسبت به دو اسانس اکالیپتوس و نعناع فلفلی پس از ۲٤ ساعت بیش‌ترین تاثیر را در مراحل زیستی مختلف سوسک برگ خوار نارون داشت. همچنین با افزایش غلظت اسانس‌ها شاخص‌های تغذیه‌ای در مرحله لاروسن دوم نیز کاهش یافت، تجزیه واریانس آماری نشان داد که نرخ مصرف نسبی لارو سن دوم (PCR) در اسانس دارچین در سه غلظت LC_{25}، LC_{35} و LC_{50} با شاهد نسبت به دو اسانس دیگر اختلاف معنی دار بیش‌تری در سطح ۵ درصد دارد و بازدارنگی تغذیه در همه اسانس‌ها به خصوص اسانس دارچین مثبت بود. یافته های این پژوهش نشان می دهد اسانس گیاهی دارچین به نسبت اسانس‌های گیاهی نعناع فلفلی و اکالیپتوس می تواند گزینه مناسب تری برای کنترل این آفت باشد.

واژه‌های کلیدی: سوسک برگ‌خوار نارون، اسانس‌های گیاهی، سمیت تماسی، شاخص‌های تغذیه‌ای

* نویسنده رابط، پست الکترونیکی: *r-vafaei@iau-arak.ac.ir*
تاریخ دریافت مقاله:۹۸/٤/٦ - تاریخ پذیرش مقاله:۹۸/۱۱/۲۹

مقدمه

سوسک برگ‌خوار نارون *Xanthogaleruca luteola* (Coleoptera: Chrysomelidae) از مهم‌ترین آفات تک‌خوار درختان نارون (*Ulmus* spp.) در مناطق شهری و فضای سبز می‌باشد (Alford, 2012). این آفت در مرحله حشره کامل و به ویژه دوره لاروی با توری کردن برگ درختان نارون نه تنها موجب کاهش سطح فتوسنتز می‌شود بلکه سطح سایه‌اندازی را به شدت پایین می‌آورد، لذا در ادامه فعالیت شدید این آفت، راه را برای آفات و بیماری‌های دیگر و سایر عوامل استرس‌زا هموار می‌کند (Huerta *et al*., 2010). مبارزه با این آفت بیش‌تر به طریق شیمیایی انجام می‌گیرد، در ایران مانند بسیاری از کشورهای جهان، مصرف آفت کش‌ها به عنوان یکی از روش‌های اصلی کنترل آفات محسوب می‌شود لذا استفاده بی رویه از آن می‌تواند منشا مشکلات عدیده زیست محیطی شود (Heidari, 2013). در راستای جایگزینی سموم شیمیایی، اسانس‌های گیاهی استخراج شده از گیاهان معطر قابل استفاده است (Isman, 2000). لذا اسانس‌های گیاهی به عنوان یکی از کاندیدهای مناسب می‌توانند به عنوان جایگزین آفت‌کش‌های شیمیایی که در ترکیبات پیشنهاد شده کم ترین خطر را برای انسان و محیط زیست داشته اند مورد استفاده قرار گیرند Yaghout nejad (*et al*., 2013). در کشور ما گونه‌های مختلفی از گیاهان اسانس‌دار به صورت بومی وجود دارند که خاصیت حشره‌کشی بعضی از این گیاهان می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد. اسانس‌های گیاهی، کمپلکسی از ترکیبات فرار گیاهان بوده که توسط روش‌های فیزیکی از همه گیاه یا بخش‌هایی از گیاه به دست می‌آید (Burt, 2004; Shahnia & Khaksar, 2013). مکانیسم اثر اسانس گیاهان روی بسیاری از حشرات به صورت حشره کشی، دور کنندگی حشرات، بازدارندگی تغذیه‌ای و تخم ریزی مورد توجه جدی بشر می‌باشد (Isman, 2000.) این ترکیبات روی اغلب پارامترهای زیستی از جمله نرخ رشد، طول عمر و تولید مثل حشرات نیز اثر دارند(Cosimi *et al*., 2009). در این راستا تاثیر اسانس رزماری *Rosemarinus officinalis* L. بر مرگ و میر و فیزیولوژی سوسک برگ خوار نارون به اثبات رسیده است (امیرمحمدی و جلالی سندی، ۱۳۹۲). اثرات حشره کشی عصاره گندواش *Artemisia annua* L.، عصاره آقطی *Sambucus ebulus* L.، عصاره آویشن *Thymus vulgaris* L. و اسانس اسطوخدوس *Lavandula angustifolia* L. نیز بر روی سوسک برگ خوار نارون بررسی شده است .(Khosravi & Jalali sendi, 2013; Jalali sendi *et al*., 2005) همچنین اثر حشره کشی و ضدتغذیه ای عصاره برگ و میوه گیاه زیتون تلخ *Melia azedrach* L. روی سوسک برگ خوار نارون بررسی شده است (Defago *et al*., 2006).

از تحقیقاتی که بر روی اسانس‌های گیاهی به منظور تاثیر بر روی آفات گیاهی انجام شده است می‌توان به اسانس نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)، که اثرات حشره کشی خوبی علیه آفاتی چون سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات (Shahkarami *et al*., 2004)، شته جالیز (Riazi *et al*., 2015) و کنه دو لکه‌ای (Sarraf Moayeri *et al*., 2013) نشان داده است اشاره کرد. همچنین تاثیر اسانس گونه‌های مختلف گیاه اکالیپتوس (*Eucalyptus*) روی برخی از آفات انباری (Hamzavi, 2011) مورد توجه قرار گرفته است. در تحقیقی که توسط فراشیانی و همکاران (Farshiani *et al*, 2015) انجام شده است، سمیت تنفسی اسانس ۵۳ گونه اکالیپتوس روی شپشه برنج (*S. oryzae*) بررسی شده است. آن‌ها توانستند گونه‌هایی از اسانس اکالیپتوس که بیش‌ترین سمیت تنفسی را روی شپشه برنج دارند معرفی کنند. رفیعی و همکاران (۱۳۸۹) خاصیت دور کنندگی و سمیت تنفسی ۱۸ گونه اسانس گیاهی را روی شب پره هندی بررسی کردند. نتایج این بررسی نشان داد اسانس دارچین به نسبت سایر اسانس های گیاهی در این تحقیق سمیت بیشتری دارد. علی رغم تحقیقات متعدد انجام شده در زمینه تاثیر فرمولاسیون اسانس‌های گیاهی روی آفات زراعی و انباری، از جمله

سوسک کلرادو سیب زمینی (نوری قنبلانی و همکاران، ۱۳۸۹)، لارو شب‌پره هندی (رفیعی کرهرودی و همکاران، ۱۳۸۸)، تاکنون مطالعات زیادی درباره اثر اسانس و عصاره گیاهی روی سوسک برگ خوار نارون انجام نشده است. لذا در این تحقیق اثر سه نوع اسانس دارچین، نعناع فلفلی و اکالیپتوس بر روی مراحل لاروی، شفیره و حشره کامل این آفت و شاخص‌های تغذیه‌ای لارو سن دوم بررسی شده است که نتایج آن می‌تواند در تحقیقات بعدی و تکمیلی مورد استفاده محققان قرار بگیرد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاهان مورد مطالعه

گیاهان نعناع فلفلی و اکالیپتوس از فضای سبز شهرداری منطقه هفت تهران جمع‌آوری و در محیط کاملا تاریک پس از شست و شو با آب مقطر خشک شدند. چوب دارچین نیز به صورت آماده خریداری و کمی قبل از انجام آزمایش با آسیاب برقی خرد و مصرف شد. در هر نوبت اسانس‌گیری، ۵۰ گرم پودر گیاهی همراه با ۶۰۰ میلی لیتر آب مقطر با استفاده از دستگاه کلونجر، طی مدت ۹۰ دقیقه از زمان جوش آمدن آب در دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس به روش تقطیر با آب اسانس گیری شد. اسانس‌های جمع‌آوری شده توسط دستگاه سانتریفیوژ به دو فاز آب و اسانس روغنی تفکیک شدند و تا زمان استفاده در ظروف شیشه‌ای تیره در یخچال در دمای ٤ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

پرورش حشرات

لاروهای سنین مختلف و شفیره‌های سوسک برگ‌خوار نارون از اطراف طوقه و تنه درختان نارون در تهران جمع‌آوری شد و در آزمایشگاه گیاه‌پزشکی شهرداری منطقه هفت با شرایط دمایی ۱±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۰ درصد و۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی روی برگ‌های نارون پرورش یافتند. لاروها و حشرات کامل داخل جعبه‌های پلاستیکی با سرپوش توری قرار داده شدند و جهت حفظ رطوبت از اسفنج‌های مرطوب در ته جعبه‌ها استفاده شد. برگ‌های درخت نارون به‌طور روزانه و به‌صورت تازه در اختیار لاروها و حشرات کامل قرار گرفتند.

آزمایش‌های زیست‌سنجی

آزمایش‌های زیست‌سنجی به روش Tapondjou (2005) با اندکی تغییرات در ظروف پتری دیش به قطر ۹ سانتی‌متر در شرایط دمای ۲±۲۵ سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۶۰درصد و۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در آزمایشگاه گیاه‌پزشکی شهرداری منطقه ۷ تهران انجام شد به منظور یافتن غلظت‌های لازم برای مرگ و میر ۲۰٪ و ۸۰٪ چند سری آزمایش‌های مقدماتی انجام گردید. سپس غلظت‌های مابین آن بر اساس فواصل لگاریتمی محاسبه شد. با استفاده از سمپلر مقادیر ۱۰-٦-۱۸-٥٦ و ۱۰۰ میکرولیتر اسانس دارچین برای مراحل حشره کامل و شفیره و مقادیر ۱-۰.۵-۲-٦ و ۱۰ میکرولیتر اسانس دارچین برای سنین مختلف لاروی، مقادیر ۱۰۰-۲۰۰-۳۹۰-۷٦۰و ۱۵۰۰ میکرولیتر اسانس نعناع فلفلی برای مراحل حشره کامل و شفیره، و مقادیر ۱۰۰-۱۷۰-۳۱۰-٥٦۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر اسانس نعناع فلفلی برای سنین مختلف لاروی و در نهایت مقادیر ۱۰۰۰-۱۱۰۰-۱۲۰۰-۱۳۵۰ و ۱۵۰۰ میکرولیتر اسانس اکالیپتوس برای مراحل حشره کامل و شفیره، و مقادیر ۱۰۰۰-۱۲۰۰-۱۵۰۰-۱۷۰۰ و ۲۰۰۰ میکرولیتر اسانس اکالیپتوس برای سنین مختلف

لاروی مورد بررسی قرار گرفت. در ظروف شاهد از آستون به تنهایی استفاده شد. آزمایش در ۵ غلظت با ۳ تکرار و هر تکرار با ده حشره انجام شد. در هر تکرار حشرات درون ظروف پتری با ۱/۵ میلی‌لیتر اسانس توسط میکروپیپیت محلول‌پاشی شدند. مقادیر LC_{50} برای حشرات مورد آزمایش در غلظت‌هایی که مرگ و میر بین ۸۰- ۲۰ درصد را داشتند با استفاده از نرم افزار SAS 6.12 و به روش Finney (1971) محاسبه شد.

ارزیابی اسانس‌های دارچین، نعناع فلفلی و اکالیپتوس بر روی شاخص‌های تغذیه‌ای

جهت ارزیابی اثر اسانس‌های گیاهی بر روی شاخص‌های تغذیه‌ای، از غلظت‌های زیرکشندگی LC_{50} استفاده گردید. آزمایش‌ها در قالب طرح کاملا تصادفی در ۵ تکرار و هر تکرار با ۵ عدد لارو سن دوم یک روزه انجام شد. برگ‌های نارون برای اسانس گیاهی دارچین در غلظت‌های ۰/۰٦ و ۰/۱۵ و ۰/۸۳ پی‌پی‌ام، برای اسانس نعناع فلفلی در غلظت‌های ۱۳۱/۵۳ و ۲۰٤/۵٦ و ٤۰۷/٤۰ پی‌پی‌ام، و برای اسانس اکالیپتوس در غلظت‌های ۱۱٦٦ و ۱۳۳۰ و ۱۵٤۷ پی‌پی‌ام فرو برده شدند و سپس به‌صورت روزانه در اختیار لاروها قرار گرفتند، برای شاهد فقط از آب استفاده شد. جهت تهویه هوا از توری نازک بر روی ظروف پتری دیش استفاده گردید. در انتهای هر روز وزن برگ جدید، برگ مورد تغذیه قرار گرفته، وزن فضولات و تعداد لارو زنده مانده با استفاده از ترازوی دقیق یک ده هزارم میلی‌گرم ثبت گردید. جهت بررسی و تجزیه و تحلیل از وزن خشک بر حسب میلی‌گرم استفاده شد که بدین منظور برگ‌های مورد تغذیه، فضولات و لاروها داخل آون ٦۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند. آزمایش به مدت ۳ روز ادامه یافت و پس از ثبت مشاهدات برای تعیین شاخص‌های تغذیه ای شامل کارایی تبدیل غذای خورده شده (ECI)، کارایی تبدیل غذای هضم شده (ECD)، نرخ رشد نسبی (PGR)، نرخ مصرف نسبی (PCR) و شاخص تقریبی هضم شوندگی (AD) از فرمول‌های ارائه شده توسط Scriber & Slansky (1981) استفاده شد. جهت تجزیه آماری از روش تجزیه واریانس یک طرفه one way ANOVA توسط نرم افزار SPSS 16.1 استفاده شد. اختلاف آماری میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۵٪ مورد بررسی قرار گرفت.

الف- نرخ رشد نسبی Relative Growth Rate (RGR)

$$RGR = \frac{(FW-IW)}{(IW\times T)}$$

وزن خشک لارو در انتهای آزمایش (mg) Final weight= FW

وزن خشک لارو در ابتدای آزمایش (mg) Initial weight= IW

مدت زمان آزمایش Time= T

ب- نرخ مصرف نسبی Relative Consumption Rate (RCR)

$$RCR = \frac{I}{(B\times T)}$$

وزن خشک کل غذای خورده شده به ازای هر لارو (mg) I = Ingested food

بیوماس لارو یا تفاوت وزن لارو در ابتدا و انتهای آزمایش (mg) B= Biomass (weight gain)

مدت زمان آزمایش Time= T

ج- کارایی تبدیل غذای خورده شده Efficiency of Conversion of ingested food (ECI)

$$ECI\ (\%) = \frac{B}{I} \times 100$$

د- کارایی تبدیل غذای هضم شده Efficiency of Conversion of digested food (ECD)

$$ECD\ (\%) = \frac{B}{I-F} \times 100$$

F = Frass وزن خشک کل فضولات تولید شده توسط هر لارو در هر تکرار (mg)

ه- شاخص تقریبی هضم شوندگی Approximate digestibility (AD)

$$AD\ (\%) = \frac{I-F}{I} \times 100$$

نتایج و بحث

بررسی سمیت تماسی اسانس‌ها

نتایج حاصل از زیست سنجی داده‌ها نشان داد که با افزایش غلظت اسانس‌ها، میزان مرگ و میر سوسک برگ خوار نارون در مراحل مختلف زندگی، در هر سه اسانس دارچین، اکالیپتوس و نعناع فلفلی افزایش یافته است (جداول ۱، ۲ و۳). اثر غلظت اسانس‌ها در سمیت تماسی در تحقیقات مختلف نیز بررسی شده است (Mahfuz & Khalequzzman, 2007; Owolabi *et al*., 2009).

LC_{50} مربوط به مرحله حشره کامل بر روی اسانس گیاهی دارچین بعد از ٢٤ ساعت، ١١/٥٧ میکرولیتر بر لیتر هوا، شفیره ١٧/٤٩ میکرولیتر بر لیتر هوا، مرحله لاروی سن اول١/٠١ میکرولیتر بر لیتر هوا، مرحله لاروی سن دوم ٠/٨٣ میکرولیتر بر لیتر هوا و مرحله سن سوم لاروی ٠/٨٤ میکرولیتر بر لیتر هوا می‌باشد (جدول١)، LC_{50} مربوط به مرحله حشره کامل اسانس گیاهی نعناع فلفلی بعد از ٢٤ ساعت، ٥٣٠/٦٩ میکرولیتر بر لیتر هوا، شفیره ٦٩٠/٥٧ میکرولیتر بر لیتر هوا، مرحله لاروی سن اول٣٩١/٧٠ میکرولیتر بر لیتر هوا، مرحله لاروی سن دوم ٤٠٧/٤٠ میکرولیتر بر لیتر هوا و مرحله سن سوم لاروی ٣٥٠/٨٩ میکرولیتر بر لیتر هوا می باشد (جدول٢) و در نهایت LC_{50} مربوط به مرحله حشره کامل اسانس گیاهی اکالیپتوس بعد از ٢٤ ساعت، ١٢٨٠ میکرولیتر بر لیتر هوا، شفیره ١٣٦٤ میکرولیتر بر لیتر هوا، مرحله لاروی سن اول١٦٢٤ میکرولیتر بر لیتر هوا، مرحله لاروی سن دوم ١٥٤٧میکرولیتر بر لیتر هوا و مرحله سن سوم لاروی ١٥٧٦ میکرولیتر بر لیتر هوا می‌باشد (جدول٣). طبق نتایج این بررسی اسانس گیاهی دارچین در مراحل مختلف زیستی سوسک برگ خوار نارون سمیت بیشتری ایجاد نمود. در تحقیقی که وهابی و همکاران (١٣٩٥) انجام دادند، با افزایش غلظت اسانس، میزان دورکنندگی در حشرات مورد مطالعه بیشتر شد. همچنین نتایج تحقیقات صراف معیری وهمکاران (١٣٩٢) نشان داده است که میزان دورکنندگی اسانس‌ها به غلظت آن‌ها بستگی دارد. در حال حاضر اسانس‌های گیاهی به عنوان عوامل طبیعی کنترل آفت توسط برخی از شرکت‌های بین المللی تولید کننده آفت‌کش‌ها مانند شرکت آکو اسمارت ثبت و تولید می‌شوند (ایسمان و ژنیرسن، ٢٠١٤).

بررسی درصد کشندگی اسانس‌های گیاهی بر روی مراحل مختلف سوسک برگ خوار نارون

بین اسانس‌های مورد مطالعه در این تحقیق از نظر درصد تلفات ایجاد شده روی مراحل شفیره، لارو سن١، لارو سن٢، لارو سن٣ و حشره کامل اختلاف معنی داری وجود داشت (نمودار١، ٢ و ٣). بر اساس این نتایج اسانس دارچین با ایجاد ٨٠ درصد مرگ و میر نسبت به دو اسانس اکالیپتوس و نعناع فلفلی پس از ٢٤ ساعت بیش‌ترین تاثیر را در تمام مراحل زیستی سوسک برگ خوار نارون داشت (نمودار١). میزان تلفات در اسانس اکالیپتوس و نعناع فلفلی در لارو سن ١ پس از ٢٤ ساعت ٨٠ درصد و در سایر مراحل زیستی ٦٥ درصد بود (نمودار٢ و ٣). در همه اسانس‌ها با افزایش

غلظت، درصد مرگ و میر افزایش یافت و بیشترین تلفات با بالاترین غلظت در اسانس دارچین ۸۰ درصد و کم‌ترین تلفات با پایین‌ترین غلظت ۲۰ درصد بود (نمودار۱). بیشترین تلفات با بالاترین غلظت در اسانس نعناع فلفلی و اکالیپتوس ۷۰ درصد و کم‌ترین تلفات با پایین‌ترین غلظت ۲۰ درصد بود (نمودار۱ و ۲). بررسی خاصیت حشره‌کشی اسانس‌های اکالیپتوس و چند اسانس دیگر روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات نشان داد که اسانس‌های گیاهی به‌طور معناداری موجب مرگ و میر آفت شدند (فرجی و همکاران، ۱۳۹٤). در تحقیقی دیگر اثرات دورکنندگی اسانس های گیاهی بررسی شده است، نتایج نشان می‌دهد که اسانس های مورد استفاده علاوه بر اینکه در دوزهای بالا دارای اثرات تخم کشی و لارو کشی هستند، در دوزهای زیر کشنده نیز می‌توانند منجر به اثر دورکنندگی و کاهش تغذیه شوند و در پی آن کاهش وزن لاروها و بوجود آمدن حشرات کامل ضعیف با قابلیت تولید تخم پایین را همراه داشته باشند (صراف معیری، ۱۳۹۲).

بر اساس نتایج حاصل اسانس دارچین میزان کشندگی بیش‌تری نسبت به دو اسانس دیگر دارد. با توجه به نتایج به دست آمده خاصیت حشره‌کشی قابل توجه اسانس دارچین، نعناع فلفلی و اکالیپتوس بر روی مراحل مختلف زیستی سوسک برگ خوار نارون و با درنظر گرفتن آثار مخرب سموم شیمیایی و کم‌خطر بودن اسانس‌های گیاهی بر روی انسان و محیط زیست به نظر می‌رسد از این ترکیبات می‌توان به عنوان جایگزین سموم شیمیایی استفاده کرد.

تاثیر اسانس‌های گیاهی بر روی شاخص‌های تغذیه‌ای

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمایش تحت تاثیر اسانس‌های گیاهی روی پنج شاخص غذایی نشان داد که بین اثر اسانس‌های مختلف روی شاخص‌های نسبی در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری وجود دارد. همچنین با افزایش غلظت‌های زیر کشندگی اسانس‌ها میزان شاخص‌های تغذیه‌ای کاهش یافتند (جدول٤). تجزیه واریانس آماری نشان داد که نرخ مصرف نسبی لارو سن دوم (PCR) در اسانس دارچین در سه غلظت LC_{25}، LC_{35} و LC_{50} با شاهد نسبت به دو اسانس دیگر اختلاف معنی‌دار بیش‌تری در سطح ۵ درصد دارد به‌طوری‌که در غلظت LC_{25}، LC_{35} و LC_{50} بیش‌ترین میزان نرخ در تیمار شاهد (٤٤/٦٩) بود و کم‌ترین مقدار در تیمار اسانس دارچین به ترتیب ۱۲/٦٥، ۱/٦٥، ٥/٢٤ بود (جدول٤). نتایج نرخ رشد نسبی لارو سن دوم (PGR) در اسانس دارچین در سه غلظت LC_{25}، LC_{35} و LC_{50} با شاهد نسبت به دو اسانس دیگر اختلاف معنی‌دار بیش‌تری در سطح ۵ درصد داشت به‌طوری‌که در غلظت LC_{25}، LC_{35} و LC_{50} بیش‌ترین میزان نرخ در تیمار شاهد (۱/۸۱) بود و کم‌ترین مقدار در تیمار اسانس دارچین به ترتیب ۰/۲۸، ۰/۱۵، ۰/۰۵ بود (جدول٤). جانسون و گروت (Jansen & Groot, 2004) گزارش کردند که PGR کاهش یافته ممکن است به خاطر خسارت‌های جبران ناپذیر بر سلول‌های دیواره معده‌ی مسئول جذب مواد غذایی و غشای معده باشد. تاثیر اسانس‌های گیاهی روی کارایی تبدیل غذای خورده شده لارو سن دوم(ECI)، کارایی تبدیل غذای هضم شده (ECD)، شاخص تقریبی هضم شوندگی لارو سن دوم (AD) نیز همانند نتایج بالا در گیاه دارچین نسبت به دو اسانس دیگر با شاهد اختلاف معنی داری داشت. محققین زیادی روی سمیت اسانس گیاهان مطالعه کرده‌اند. کارایی تغذیه، توانایی گونه‌های حشره در استفاده از غذا برای تبدیل آن به مواد مورد نیاز بدن است. لذا اسانس دارچین توانست این شاخص را به طور قابل توجهی نسبت به دو اسانس دیگر کاهش دهد. در تحقیقی که در سال ۲۰۰٦ توسط سنتیل ناتان (Senthil Nathan, 2006) انجام شد نشان داد که در بررسی، *Cnaphalocoris medinalis* تیمار شده با سم آزادیراختین میزان رشد نسبی کاهش یافت که با این تحقیق همخوانی دارد و می‌تواند بیانگر این باشد که با کاهش این شاخص تغذیه‌ای می‌توان

از سایر روش‌های کنترلی به نحوه موثرتری استفاده کرد. با توجه به این تحقیق اسانس دارچین برای سوسک برگ خوار نارون اثر سمی و ضد تغذیه‌ای دارد. از این رو کاربرد حشره‌کش‌های گیاهی برای حفظ سلامت محیط پیشنهاد می‌شود.

سپاسگزاری

بدین وسیله از سرکار خانم مریم وهابی مشهور، دانشجوی مقطع دکتری دانشگاه تربیت مدرس و آقای مهندس سعیدرضا آذرآبادی دانش آموخته بیماری‌شناسی گیاهی دانشگاه آزاد ورامین به دلیل کمک‌های ارزنده‌شان سپاسگزاری می‌شود.

جدول۱- میزان مقادیر LC_{50} اسانس گیاهی دارچین بر روی مراحل مختلف لاروی، حشرات کامل و شفیرگی سوسک برگ خوار نارون

Table 1- The rate of the LC_{50} values of cinnamon essential oil on different stages of elm leaf beetle larvae, adult and pupa

Stage	N	X^2(df)	P-value	Slope±SE	LC_{50}(ppm)	95% confidence limits (ppm)
Adult	150	0.9492(3)	0.3558	0.8242±0.1605	11.57	(15.05- 6.19)
1st instar larvae	150	0.6353(3)	1.7073	0.8734±0.163	1.01	(1.29- 0.55)
2nd instar larvae	150	0.9374(3)	0.4135	0.8687±0.1624	0.83	(1.06- 0.44)
3rd instar larvae	150	0.8153(3)	0.9418	0.9123±0.1639	0.84	(1.06- 0.46)
Pupa	150	0.9102(3)	0.5390	0.7689±0.1588	17.49	(24.55- 9.22)

جدول ۲- میزان مقادیر LC_{50} اسانس گیاهی نعناع فلفلی بر روی مراحل مختلف لاروی، حشرات کامل و شفیرگی سوسک برگ خوار نارون.

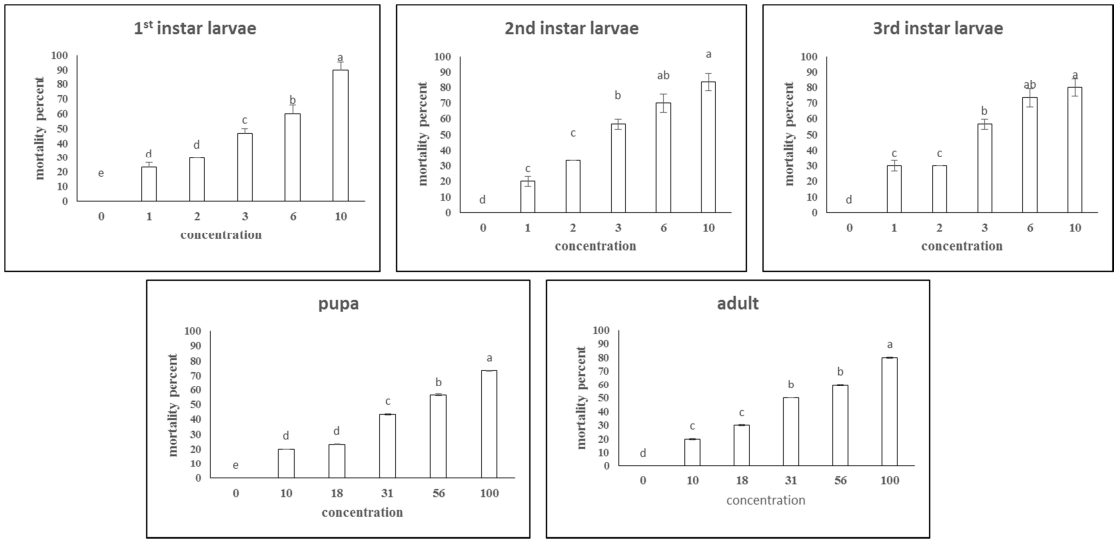
Table 2- The rate of the LC_{50} values of Mint essential oil on different stages of elm leaf beetle larvae, adult and pupa

Stage	N	X^2(df)	P-value	Slope±SE	LC_{50}(ppm)	95% confidence limits (ppm)
Adult	150	0.9620(3)	0.2896	1.1004±0.2651	530.69	(670.06- 339.94)
1st instar larvae	150	0.4277(3)	2.7747	1.7450±0.3242	391.70	(452.13- 294.03)
2nd instar larvae	150	0.9455(3)	0.3741	1.2758±0.3077	407.40	(498.36- 277.50)
3rd instar larvae	150	0.9669(3)	0.2623	1.5085±0.3136	350.89	(405.65- 250.36)
Pupa	150	0.9208(3)	0.4912	1.1238±0.2677	690.57	(947.34- 447.68)

جدول۳- میزان مقادیر LC_{50} اسانس گیاهی اکالیپتوس بر روی مراحل مختلف لاروی، حشرات کامل و شفیرگی سوسک برگ خوار نارون.

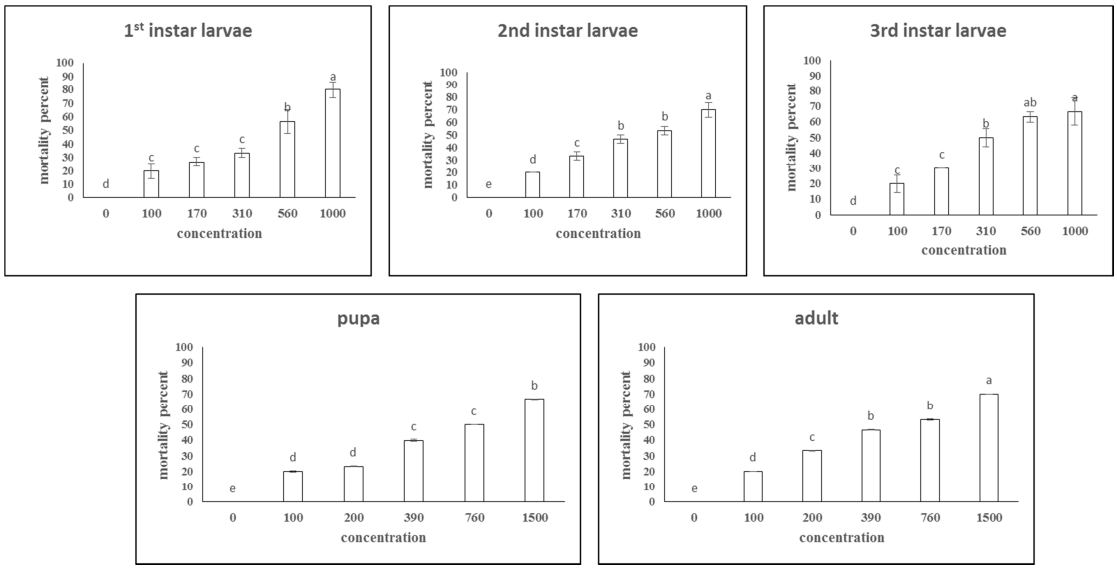
Table 3- The rate of the LC_{50} values of Eucalyptus essential oil on different stages of elm leaf beetle larvae, adult and pupa

Stage	N	X^2(df)	P-value	Slope±SE	LC_{50}(ppm)	95% confidence limits (ppm)
Adult	150	0.8508(3)	0.7943	8.4885±1.7986	1280	(1319- 1208)
1st instar larvae	150	0.2982(3)	3.6794	5.1469±1.0769	1624	(1727- 1475)
2nd instar larvae	150	0.9519(3)	0.3423	5.0696±1.0676	1547	(1625- 1403)
3rd instar larvae	150	0.9830(3)	0.1650	4.9494±1.0672	1576	(1665- 1428)
Pupa	150	0.7562(3)	1.1865	7.3850±1.7828	1364	(1449- 1275)



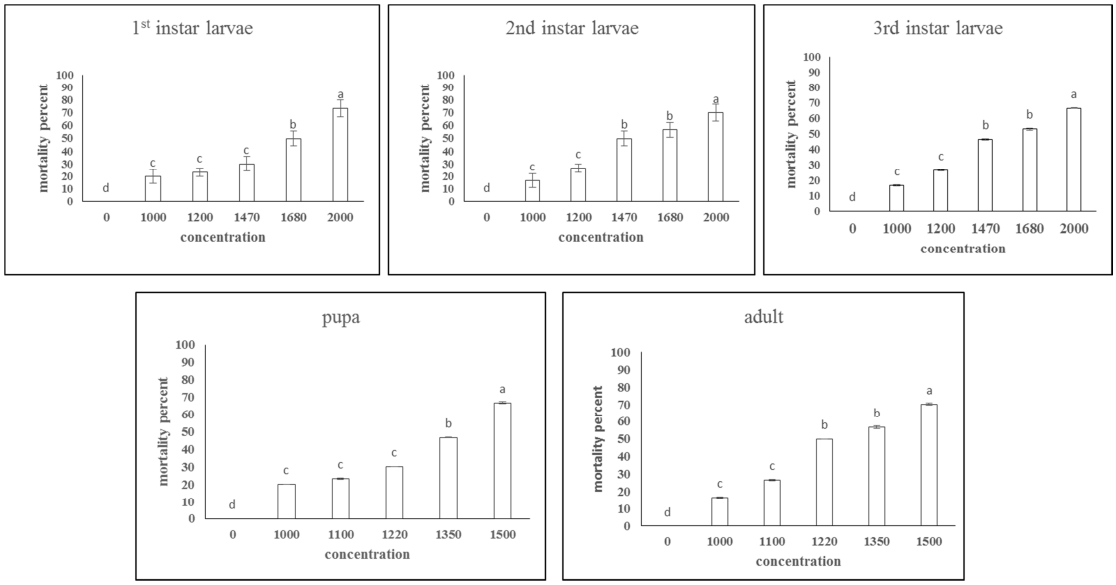
شکل۱- مقایسه درصد کشندگی اسانس دارچین در غلظت‌های مختلف در زمان ۲٤ ساعت درمراحل لاروی، شفیرگی و حشره کامل سوسک برگ خوار نارون

Fig 1- Comparison of mortality percent of Eucalyptus essential oil at different concentrations in 24 hours on different stages of elm leaf beetle larvae, adult and pupa.



شکل۲- مقایسه درصد کشندگی اسانس نعناع فلفلی در غلظت‌های مختلف در زمان ۲٤ ساعت درمراحل لاروی، شفیرگی و حشره کامل سوسک برگ خوار نارون

Fig 2- Comparison of mortality percent of Mint essential oil at different concentrations in 24 hours on different stages of elm leaf beetle larvae, adult and pupa.



شکل۳- مقایسه درصد کشندگی اسانس اکالیپتوس در غلظت‌های مختلف در زمان ۲٤ ساعت درمراحل لاروی، شفیرگی و حشره کامل سوسک برگ خوار نارون

Fig 3- Comparison of mortality percent of Cinnamon essential oil at different concentrations in 24 hours on different stages of elm leaf beetle larvae, adult and pupa.

جدول٤- اثر اسانس های گیاهی دارچین، نعناع فلفلی و اکالیپتوس در غلظت های مختلف روی شاخص های تغذیه ای لارو سن دوم سوسک برگ خوار نارون

Table 4- The effect of Cinnamon, Mint and Eucalyptus essential oil at different concentrations on nutritional indices of *Xanthogaleruca luteola* 2nd instar larvae

Concentration (ppm)	Essential oil	RCR (mg/mg/day)[2]	RGR (mg/mg/day)[3]	ECI (%)[4]	ECD (%)[5]	AD (%)[6]
LC 25	Cinnamon	12.55d	0.28d	2.28d	2.36d	96.93c
	Mint	21.36c	0.63c	2.99c	3.06c	97.56b
	Eucalyptus	23.70b	0.81b	3.44b	3.52b	97.56b
	Control	44.69a	1.81a	4.06a	4.15a	97.81a
LC 35	Cinnamon	1.65d	0.15d	1.65d	1.71d	96.81d
	Mint	14.04c	0.38c	2.77c	2.85c	97.31c
	Eucalyptus	16.39b	0.56b	3.45b	3.56b	97.64b
	Control	44.69a	1.81a	4.06a	4.15a	97.81a
LC 50	Cinnamon	5.24d	0.05d	1.09d	1.14d	95.30c
	Mint	9.35c	0.23c	2.49c	2.56c	97.24b
	Eucalyptus	12.28b	0.35b	2.85b	2.93b	97.23b
	Control	44.69a	1.81a	4.06a	4.15a	97.81a

LC_{25}, LC_{35} and LC_{50} values of cinnamon are 0.06, 0.15 and 0.83 ppm and values for Mint are 131.53, 204.56 and 407.40 ppm and values of Eucalyptus are 1166, 1330 and 1547ppm, respectively.

[2] Relative Consumption Rate (RCR)

[3] Relative Growth Rate (RGR)

[4] Efficacy of Conversion of Ingested Food (ECI)

[5] Efficacy of Conversion of Digested Food (ECD)

[6] Approximately Digestibility (AD)

Means followed by the same letters in each column are not significantly different (Tukey s test, $P < 0.05$).

References

Alford, D. V. 2012. Pests of ornamental trees, shrubs and flowers: A colour handbook. CRC Press. P. 477.

Amirmohammadi, F. and Jalalisendi, J. 2013. The effect of essential oil of *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) on mortality and physiological parameters of *Xanthogaleruca luteola* Mull (Coleoptera: Chrysomelidae). Plant pest research. 3(3). (in farsi with English abstract).

Burt, S. 2004. Essential oils: Their anti bacterial and potential applications in foods. A review. Int J Food Microbiol, 94(3): 223-53

Cosimi, S., Rossi, E., Cioni, P. L. and Canale, A. 2009. Bioactivity and qualitative analysis of some essential oils from Mediterranean plant against stored-product pests: evaluation of repellency against *Sitophilus zeamaise* (Motschsky), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephenus) and *Tenebrio molitor* (L.). Journal of Stored Products Research, 45: 125-132.

Defago, M., Valladares, G., Banchio, E., Carpinella, C. and Palacios, S. 2006. Insecticide and antifeedant activity of different plant parts of *Melia azedarach* on *Xanthogaleruca luteola*. Journal of Fitoterapia. (77): 500-505.

Faraji, N., Sarraf Moayeri, H., Saber, M. and Kavousi, A. 2015. Insecticidal activity of essential oils from *Eucalyptus spp*., *Cuminum cyminum* and *Mentha piperita* on *Cowpea weevil*, *Callosobruchus maculatus*. Third National Conference on Biological Control in Agriculture and natural resources. Page: 136. (In Farsi with English abstract).

Farashiani, E. F., Awang, R. M., Assareh, M. H., Omar, D. and Rahmanim, M. 2015. Fumigant toxicity of 53 Iranian Eucalyptus essential oils against stored product insect, *Sitophilus oryzae* L. Iranian Journal of forest and Range Protection Research 13 (2): 132-139. (In Farsi with English abstract).

Finney, D. J. 1971. Probit analysis " 3d edition". Cambridge university press. Cambridge.

Hamzavi, F. 2011. Insecticidal effects of essential oil from *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh and *Bottlebrush Callistemon viminalis* Gaertn. on three species of stored-product bettles. M.Sc. Thesis, Faculty of Agriculture, Department of Agricultural Entomology, Tarbiat Modares University, 134 pp. (In Farsi with English abstract).

Heidari, A. 2013. A review on the position of the carcinogenic hazards of pesticides registered in Iran. Plant Protection Journal, 6 (1):1-16. (in Farsi with English abstract).

Huerta, A., Chiffelle, I., Puga, K., Azua, F. and Araya, J. E. 2010. Toxicity and repellence of aqueous and ethanolic extracts from *Schinus molle* on elm leaf beetle *Xanthogaleruca luteola*. *Crop Protection*, 29, 1118-1123.

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

Isman, M. B. and Grieneisen M. L. 2014. Botanical insecticide research: many publications, limited useful data. Trends Plants Science, 19: 140-145.

Jalali Sendi, J., Arbab, A. and Aliakbar, A. R. 2005. The efficacy of aqueous plant extracts of worm wood and dwarf elder against elm leaf beetle *Xanthogaleruca luteola* Mull. (Coleoptera: Chrysomelidae). Agricultural Knowledge. (15): 115–120.

Jansen, B. and Groot, A. 2004. Occurrence, biological activity and synthesis of drimane sesquiterpenoids. Natural Products Reports 21: 449-477.

Khosravi, R. and Jalali Sendi, J. 2013. Toxicity, development and physiological effect of *Thymus vulgaris* L. and *Lavandula angustifolia* L. Essential oils on *Xanthogaleruca luteolla* (Coleoptera: Chrysomelidae). Journal of King Saud University Science. (25): 349-355.

Mahfuz, I. and Khalequzzaman, M., 2007. Contact and fumigant toxicity of essential oils against *Callosobruchus maculatus*. Rajshahi University Journal of Zoology, 26: 63-66.

Nouri Ghanbalani, Gh., **Fathi, A. and Barmaki, M. 2010**. Effect of some herbal essential oils on laying behaviors and feeding behaviors of Colorado beetle *Leptinotarsa decemlineata* Say (Col.: Chrysomelidae). Journal of Plant Protection (Scientific journal of Agriculture). 33(2): 1-9. (In Farsi with English abstract).

Owolabi, M. S., Oladimeji, M. O., Lajide, L., Singh, G., Marimuthu, P. and Isidorov, V. A., 2009. Bioactivity of three plant derived essential oils against the maize weevils *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) and cowpea weevils *Callosobruchus maculatus* (Fabricus). Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry, 8(9): 828-835.

Rafiei Karahroudi, Z., Moharrami pour, S., Farazmand, H. and Karimzadeh- Esfahani, J. 2009. Effect of eighteen plant essential oils on nutritional indices of larvae *Plodia interpunctata* Hubner (Lep.,Pyralidae). Journal of entomological research, 1(3): 209-219. (In Farsi with English abstract).

Riazi, M., Khajehali, J. Poorjavad, N. and Bolandnazar, A. 2015. The Mortality and repellency effect of a formulation of spearmint essential oil on the cotton melon aphid under greenhouse conditions. Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture. 6(24): 169-179. (In Farsi with English abstract).

Scriber, J. M. and Slansky Jr, F., 1981. The nutritional ecology of immature insect. Annual Review of entomology, 26: 183-211.

Senthil Nathan, S. 2006. Effects of *Melia azedarach* on nutritional physiology and enzyme activities of the rice leaffolder *Cnaphalocrocis medinalis* (Gnenee) (Lepidoptera: Pyralidae), Pesticide Biochemistry and Physiology 84: 98–108.

Sarraf Moayeri, H. R., Pirayeshfar , F. and Kavousi, O. 2013. Repellency effect of three herbal essential oils on the two spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. Iranian Journal of Plant Protection Science. 44(1): 103-112. (In Farsi with English abstract).

Shahnia M, Khaksar R. 2013. Antimicrobial effects and determination of minimum inhibit ory concentration (MIC) methods of essential oils against pathogenic bacteria. Iran J Nut r Sci Food Technol. 7(5):949-54.

Shahkarami, J., Kamali, K., Moharrampour, S. and Meshkat-alsadat, M. H. 2004. Fumigant toxicity and repellent effect of essential oil of *Salvia bracteata* on four stored product pest. Journal of Entomological Society of Iran. 24(2): 33-50. (In Farsi with English abstract).

Tapondjou, A. L., Adler, C., Fontem, D. A., Bouda, H. and Reichmuth, C. 2005. Bioactivities of cymol and essential oils of Cupressussempervirens and *Tribolium confusum* du val. J Stored Prod Res. 41(1): 91-102.

Vahabi Mashhur, A., Moharrami pour, S. and Negahban, M. 2016.Antifeedant and repellent activity of nano- encapsulated for mulation of *Artemisiasieberi* essential oil on *xanthogaleruca luteola*, Scientific journal of agriculture, 39(1). (in farsi with English abstract).

Yaghoutnejad,F ., Radjabi, R. and Palvaneh, N. 2013. A review on evaluation of plant oils against pests in iran. Persian gulf crop protection, 2(4): 74-97. (in farsi with English abstract).

Journal of Entomological Research
Volume 12, Issue 1, pages:71-82

Islamic Azad University, Arak Branch
ISSN 2008-4668
http://jer.iau-arak.ac.ir

Study of toxicity and nutritive indicators of herbal essential oils of cinnamon, peppermint and Eucalyptus against different stages of Elm Leaf Beetle *Xanthogaleruca luteola* (Coleoptera*:*Chrysomelidae) in vivo

S. Momen Beitollahi[1], R. Vafaei Shoushtari[2*], Z. Rafiei Karahroudi[2]

1- Islamic Azad University, Arak Branch - Faculty of Agriculture, Department of Entomology
2- Assistant Professor, Azad University, Arak Branch - Faculty of Agriculture, Department of Entomology

Abstract

Elm leaf beetle is one of the most important pests of Elm trees at adult stage and especially at larval stages. In this research work, the contact toxicity and nutritive indicators of Cinnamon, Peppermint, and Eucalyptus have been investigated. The experiments were performed in five densities with three repetitions for each essential and for each life stage of the elm leaf beetle at 25±1C^0 and relative humidity of 60±5 percent for 16 hours in daylight and 8 hours in darkness in vitro. The results obtained from biometry data showed that with an increase in density of the essential oils, the mortality rate of elm leaf beetle at different stages of their life increased for all the three essential oils. Based on these results, the essential oil of Cinnamon proved to have the most effect at different stages of elm leaf insect by creating 80 percent mortality relative to the two essential oils of eucalyptus and peppermint after 24 hours. Furthermore, with an increase in the density of the essential oils, the nutritive indicators at the second instar larva were also reduced. Statistical analysis of variance showed that the relative rate of second instar larva (PCR) in cinnamon essential oil in three concentrations of LC25, LC35 and LC50 compared with the control group was more meaningful compared with the two other essential oils at 5 percent and nutrition inhibition was positive for all the essential oils especially for cinnamon essential oil. The findings indicate that Cinnamon essential oil compared to Peppermint, and Eucalyptus essential oils is a more suitable candidate to control this pest.

Keywords: Elm leaf beetle, Plant essential oils, Contact toxicity, Nutritive indicators

* Corresponding Author, E-mail*: r-vafaei@iau-arak.ac.ir*
Received:27 Jul. 2019 – Accepted: 18 Feb. 2020