مجله‌ی حشره شناسی گیاهان زراعی سال اول، شماره‌ی سوم، صفحه‌های ۱- ۸
شاپا:۷۴۴۸-۲۲۵۱

سمیت تنفسی اسانس سرو کوهی *Thuja orientalis* روی مراحل مختلف زیستی سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات *Callosobruchus maculatus* (Col.: Bruchidae)

منیره تأیید[۱]، رعنا پورایوبی[۲]، نورالدین شایسته [۳]و شهزاد ایرانی‌پور[۴*]

۱ - فرهیخته‌ی کارشناسی ارشد حشره‌شناسی کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز
۲ - گروه گیاه‌پزشکی دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز
۳ - گروه گیاه‌پزشکی دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مهاباد
۴ - * مسئول مکاتبات: گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده‌ی کشاورزی، دانشگاه تبریز
email: shiranipour@tabrizu.ac.ir
تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۹/۱۵، تاریخ پذیرش ۱۳۹۱/۱۰/۲۰

چکیده:

با توجه به سمیت بالای اسانس‌های گیاهی برای آفات انباری و سمیت پایین آن‌ها برای جانوران خون‌گرم، این مواد می‌توانند به‌عنوان جایگزین مناسبی برای سموم شیمیایی رایج باشند. در این تحقیق تأثیر اسانس سروکوهی، روی مراحل زیستی تخم، لارو و حشره‌ی کامل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات ارزیابی شد. برای این منظور، اسانس برگ‌های تازه‌ی این گیاه توسط دستگاه کلونجر و با روش تقطیر با آب استخراج گردید و سمیت تنفسی آن روی حشرات بالغ یک تا سه روزه، لاروهای یک تا هفت روزه و تخم‌های یک روزه در دمای ۱±۲۵ درجه‌ی سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۷۰ درصد با غلظت‌های مختلف ۵/۷ تا ۶۰ میکرولیتر بر لیتر هوا در چهار تکرار مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که این اسانس می‌تواند به‌عنوان جای‌گزینی مناسب برای آفت‌کش‌های شیمیایی معرفی گردد. مراحل مختلف زیستی سوسک چهارنقطه‌ای حساسیت متفاوتی نسبت به این اسانس داشتند و مرحله‌ی بالغ حشره، حساس‌تر از سایر مراحل بود. مقدار LC_{50} محاسبه شده دراین پژوهش در ۲۴ ساعت گازدهی حشرات بالغ، لاروها و تخم به‌ترتیب ۰/۶۵±۱۲/۰۵، ۱/۳۵±۳۹/۱۹ و ۰/۹۱±۲۲/۶۰ میکرولیتر بر لیتر هوا بود.

واژگان‌کلیدی: اسانس‌گیاهی، زیست‌سنجی، سمیت تنفسی، سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات، *Thuja orientalis*.

مقدمه

محصولات انباری در طول انبارداری به‌وسیله‌ی حشرات خسارت می‌بینند و گاهی در انبارهای سنتی خسارت به صددرصد می‌رسد (Modarres 2002). چندین گونه از سوسک‌های حبوبات (Bruchidae) در انبارهای غلات و حبوبات باعث ایجاد خسارت ۱۵-۱۰ درصدی و کاهش جوانه‌زنی حدود ۹۲-۵۰ درصد می‌شوند (Adugna 2006). در مناطق گرمسیری *Callosobruchus maculatus* یکی از آفات مهم و اصلی لوبیا چشم بلبلی انبار شده می‌باشد (Raja *et al.* 2007). کنترل این آفت در انبارها یکی از مهم‌ترین فاکتورهای نگهداری مواد غذایی از جمله حبوبات به‌شمار می‌رود (Dunkel and Sears 1998).

استفاده از سموم تدخینی یکی از روش‌های اصلی کنترل شیمیایی آفات محصولات انباری در تمام دنیا می‌باشد و به دلیل تأثیر روی همه‌ی مراحل زندگی آفت، ارزان، سریع و با حداقل باقی‌مانده در محصولات می‌باشد (Van Someren Graver 2004)، ترکیباتی مثل فسفین و متیل برماید در سطح بسیارگسترده‌ای مصرف می‌شوند (Emekci 2010). استفاده‌ی بی‌رویه از این سموم موجب تأثیر نامطلوب روی ارگانیسم‌های غیر هدف، محیط زیست و نگرانی برای سلامتی بشر شده است (White and Leesch 1995). به‌عنوان مثال، متیل برماید یکی از عوامل تخریب لایه‌ی ازن بوده، طبق معاهده‌ی مونترآل، مصرف آن تا سال ۲۰۱۵ میلادی در سراسر جهان ممنوع خواهد شد (Anonymous 2003). در مورد ترکیبات دیگر هم، چنین

مسایلی وجود دارد، از آن جمله می‌توان به ایجاد مقاومت در آفات انباری و قیمت بالای آن‌ها اشاره کرد (Hosseinzadeh and Shayesteh 2012). این مسایل ایجاب می‌کند که دایماً به‌دنبال ترکیبات جدید، کم‌خطر و مؤثری برای کنترل این آفات باشیم.

بسیاری از متخصصین اعتقاد دارند که ترکیبات آلی گیاهی می‌توانند جای‌گزین مناسبی برای سموم شیمیایی جهت کنترل آفات باشند (Arnason *et al*. 1989). بنابراین تحقیقات برای جای‌گزین کردن مواد تدخینی امن‌تر برای محیط زیست وجود دارد. بسیاری از گونه‌های گیاهی دارای خاصیت تدخینی می‌باشند (Rice and Coats 1994, Regnault-Roger and Hamraoui 1995). دربین ترکیبات گیاهی اسانس‌ها با دارا بودن ترکیباتی از جمله ترپنوییدها، کربن‌های زنجیره‌ای ۷ تا ۳۷ کربنی و برخی ترکیبات متفرقه ازجمله نیتروژن، گوگرد، سولفید و سیانیدها دارای اثرات دورکنندگی، بازدارندگی تغذیه و تخم‌ریزی و کشندگی در آفات هستند. اسانس‌های گیاهی، متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که گیاهان برای نیازهای خود تولید می‌کنند و به‌طور معمول مخلوطی از ۶۰-۲۰ ترکیب معطر می‌باشند که موجب ایجاد طعم و بوی ویژه در برگ‌ها، گل‌ها، میوه‌ها، دانه‌ها، پوست و ریزوم‌های آن‌ها می‌شوند (Bakkali *et al*. 2008). اسانس‌ها یا ترکیبات روغنی فراردر طبیعت به‌سرعت تجزیه می‌شوند، حساسیت کمتری در انسان و دیگر پستانداران ایجاد می‌کنند و به‌طور کلی اثرات مخرب کمتری برای محیط زیست دارند (Arnason *et al*. 1989, Sahaf *et al*. 2007, Rozman *et al*. 2007). چندین اسانس گیاهی دارای خاصیت ضدانگلی، ضدباکتری، ضدویروسی، ضدقارچی و حشره‌کشی می‌باشند (Rajendran and Sriranjini 2008).

تحقیقات Tripathi *et al*. (2000) روی گیاهان جنس *Artemisia* و آفات انباری نشان داد که اسانس *A.annua* L. دارای سمیت تنفسی علیه سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات می‌باشد. تحقیقات Keita *et al*. (2000) نیز نشان دهنده‌ی افزایش مرگ و میر حشرات بالغ سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات با افزایش غلظت اسانس‌های مختلف می‌باشد. از نظر نحوه‌ی تأثیر اسانس‌های گیاهی گزارش‌های مختلفی وجود دارد. به‌نظر می‌رسد محل تأثیر این ترکیبات با هم متفاوت باشد. امکان دارد اختلال در فعالیت منواکسیژناز و مهار آنزیم استیل‌کلین‌استراز و یا دخالت در فعالیت اکتوپامین و گابا باعث مسمومیت حشرات شوند (Isman 2006). مطالعات دررابطه با چگونگی اثر اسانس‌ها روی آفات انباری نشان می‌دهد که سمیت اسانس‌های گیاهی مورد مطالعه فقط در ظروف دربسته باعث تلفات بالای آفت شد که نشان دهنده‌ی سمیت تنفسی این ترکیبات است (Kim *et al*. 2003).

در این تحقیق با هدف معرفی یک حشره‌کش تدخینی زیست‌سازگار برای کنترل سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات که درعین‌حال، به‌عنوان جای‌گزین ترکیبات رایج، کمک در به تعویق انداختن مقاومت نماید، از اسانس برگ درخت سروکوهی *Thuja orientals* L. (Cuppressaceae) به‌صورت تدخینی در ظروف دربسته استفاده گردید.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری برگ و تهیه‌ی اسانس

برگ‌های درخت سروکوهی از درختان موجود در محوطه‌ی دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مهاباد در تابستان سال ۱۳۹۰ تهیه و مورد استفاده قرار گرفت. برای تهیه‌ی اسانس، برگ‌های تازه‌ی درخت توسط آسیاب برقی خرد شد و به‌مقدار ۱۰۰ گرم همراه با ۷۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر با کمک دستگاه اسانس‌گیر شیشه‌ای مدل Clevenger در دمای ۱۰۰ درجه‌ی سلسیوس اسانس‌گیری شد. زمان اسانس‌گیری در هر مرحله۹۰ دقیقه بود. اسانس جمع‌آوری شده با دستگاه RotaEvaporator-Buch(R-3000) آب‌گیری شد و تا زمان استفاده در ظروف شیشه‌ای به‌حجم دو میلی‌لیتر به‌رنگ قهوه‌ای تند با روپوش آلومینیومی در یخچال نگهداری شد.

پرورش حشرات

سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات از بخش حشره‌شناسی گروه گیاه‌پزشکی دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه ارومیه تهیه و در دمای ۲±۲۸ درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد و تاریکی، در آزمایشگاه آفات انباری دانشگاه آزاد

اسلامی واحد مهاباد روی دانه‌های لوبیاچشم بلبلی نگهداری و پرورش داده شد.

آزمایش‌های زیست سنجی

به‌منظور بررسی سمیت تدخینی اسانس سروکوهی در تمامی آزمایش‌ها از ظروف پلاستیکی شفاف به‌حجم ۳۵۰ میلی‌لیتر با درپوش محکم به‌عنوان یک واحد آزمایشی استفاده شد. براساس آزمایش‌های مقدماتی، پنج غلظت از اسانس به‌عنوان غلظت‌های اصلی تعیین شدند و همراه با یک شاهد مورد آزمایش قرار گرفتند. غلظت های اصلی برای تخم ۴، ۶، ۸، ۱۱ و ۱۵، برای لارو ۸، ۱۰، ۱۳، ۱۶/۵ و ۲۱ و برای حشرات بالغ ۲، ۳/۵، ۵، ۸ و ۱۲ میکرولیتر بر ۳۵۰ میلی لیتر بود.

زیست‌سنجی مراحل مختلف

در این آزمایش از حشرات بالغ یک تا سه روزه، لاروهای یک تا هفت روزه و تخم‌های یک روزه در چهار تکرار جهت انجام عملیات تدخین استفاده شد. در هر تکرار ۲۰ حشره‌ی کامل، لارو یا تخم در داخل یک قوطی فیلم عکاسی (به‌ارتفاع ۵ و قطر ۲/۵ سانتی‌متر) قرار داده شد که یک طرف آن‌ها بریده و جهت جلوگیری از خروج حشرات، با پارچه‌ی توری پوشانیده شده بود. جهت جداسازی تخم این حشره تعداد ۵۰ جفت حشره‌ی کامل یک تا سه روزه‌ی سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات به‌طور تصادفی انتخاب و روی ۱۵۰ گرم لوبیای چشم بلبلی غیرآلوده رهاسازی شدند و اجازه داده شد تا به‌مدت یک روز تخم‌ریزی کنند. سپس حشرات بالغ به‌کمک آسپیراتور جمع‌آوری و دانه‌های لوبیای حاوی یک عدد تخم انتخاب و درصورت وجود تعداد بیشتری تخم، تخم‌های اضافی به‌کمک پنس آزمایشگاهی ظریف در زیر استریومیکروسکوپ حذف شدند. در مورد لاروها، دانه‌های لوبیایی که حاوی یک عدد تخم یک روزه بودند، در شرایط آزمایش قرار داده شدند و پس از پنج روز که همه‌ی تخم‌ها تفریخ شدند، ۲۰ عدد دانه‌ی حاوی لارو در هر غلظت تیمار شدند.

قوطی‌های حاوی حشرات، در شیشه‌های ۳۵۰ میلی‌لیتری قرارداده شدند. غلظت‌های مورد نظر از اسانس، به‌وسیله‌ی میکروسمپلر از ظروف حاوی آن‌ها برداشته شدند و به‌دقت روی کاغذ صافی واتمن شماره یک به‌قطر هفت سانتی‌متر ریخته شدند که در داخل درپوش ظرف‌ها قرار داده شده بودند و درب شیشه‌ها بلافاصله گذاشته شدند و جهت بستن منافذ احتمالی با چسب نواری پنج سانتی‌متری پوشانده شدند. تیمارها پس از ۲۴ ساعت اسانس‌دهی به ظروف بدون اسانس و دارای تهویه‌ی مناسب منتقل شدند و مرگ و میر حشرات بعد از ۲۴ ساعت ثبت شد و تعداد حشرات مرده در تیمار و شاهد شمارش گردید. حشراتی که با نزدیک کردن سوزن به شاخک و پاهایشان حرکتی نمی‌کردند مرده تلقی شدند. تخم‌ها تا زمان تفریخ در محیط دارای تهویه‌ی مناسب و بدون اسانس نگه داشته شدند. لاروها نیز تا زمان خروج حشرات بالغ در ظروف دارای تهویه نگه داشته شدند تا مرگ و میر در بین تیمارها و شاهد مقایسه شوند.

تجزیه‌ی داده‌ها

درصد تلفات هر یک از مراحل زیستی با فرمول ابوت تصحیح شد. آماره‌های LC_{50} و LC_{95} نیز با استفاده از دستور Probit نرم افزار SAS برآورد و با Excel 2007 خطوط دز- اثر ترسیم شدند.

نتایج

مقادیر عرض از مبداء، شیب خط رگرسیون پروبیت درصد تلفات در لگاریتم غلظت‌های مصرفی، آماره‌های آزمون کای‌اسکوئر[1] و مقادیر LC_{50} و LC_{95} اسانس گیاه مورد بررسی روی مراحل مختلف رشدی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات در جدول۱ و خطوط دز-اثر در شکل ۱ نشان داده شده‌اند.

بحث

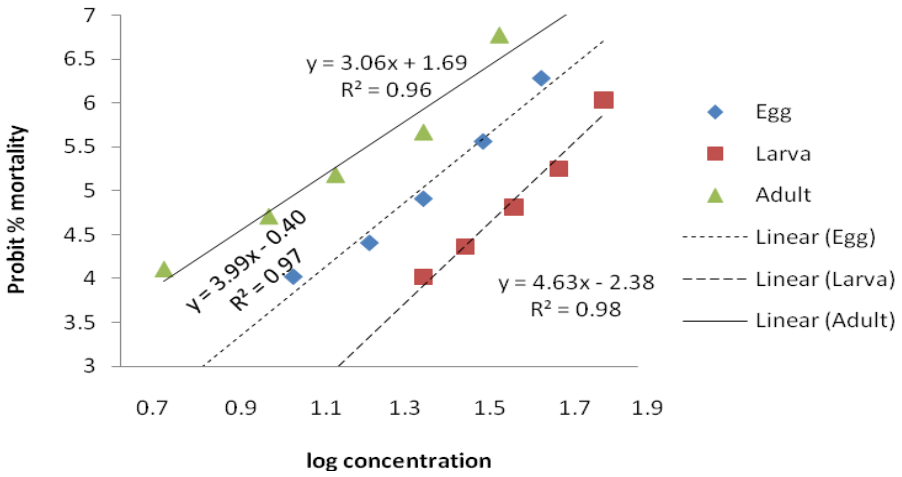
به‌نظر می‌رسد که اسانس‌های گیاهی دارای اثرات چهارگانه‌ی تخم‌کشی، دورکنندگی، کاهش میزان تولید مثل و کشندگی هستند، لذا اثرات حفاظتی روی دانه‌های انبار شده دارند. این ترکیبات دارای فشار بخار پایینی نسبت به روغن‌های گیاهی هستند بنابراین می‌توانند

1. Chi square test

جدول ۱- مقادیر LC_{50} و LC_{95} (میکرو لیتر بر لیتر هوا) اسانس سروکوهی روی مراحل مختلف زیستی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات.

Table 1. LC_{50} and LC_{95} values (µl/l air) of *Thuja orientalis* essence against different stages of *Callosobruchus maculatus*.

مرحله Stage	LC_{50}	LC_{95}	Chi-Square (df=3)	P-value	Slope±SE	Intercept+5
بالغ Adult	12.05±0.65	41.57±5.33	4.085	0.25	3.06±0.29	1.69
تخم Egg	22.60±0.91	58.44±6.16	3.535	0.32	3.99±0.38	-0.40
لارو Larva	39.19±1.35	88.78±9.18	2.468	0.48	4.63±0.49	-2.38



شکل ۱- منحنی دز-اثر اسانس سروکوهی روی مراحل رشدی مختلف سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات.

Figure 1. Dose-response line of *Thuja orientalis* on different stages of *Callosobruchus maculatus*.

تبخیر شوند (Ajayi and Olonisakin 2011). بخارات اسانس‌های گیاهی به‌ویژه در دزهای بالا سبب می‌شوند بیشتر تخم‌های گذاشته شده نتوانند زنده بمانند.

تاکنون محققین مختلفی اثر تخم‌کشی اسانس‌های گیاهی را بررسی و گزارش نموده‌اند که میزان مرگ و میر تخم بستگی به نوع اسانس، غلظت آن و زمان مصرف دارد (Triphathi *et al.* 2002 ،Shakarami *et al.* 2008). در این تحقیق نیز اسانس مورد بررسی، اثر تخم‌کشی روی تخم سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات داشت و با افزایش غلظت، درصد مرگ و میر افزایش پیدا کرد. به‌طور کلی ترکیبات موجود در اسانس‌های گیاهی سبب می‌شوند که جنین در داخل تخم باقی مانده و از آن خارج نشود (Tapondjou *et al.* 2002). هم‌چنین این ترکیبات موجب می‌شوند که فیزیولوژی و بیوشیمی تکامل جنین دچار اختلال شده و تفریخ تخم صورت نگیرد (Marimuthu *et al.* 1997). یکی ازمکانیسم‌های عمل اسانس‌های گیاهی توانایی نفوذ آن‌ها به کوریون تخم حشره است که از طریق خفه کردن و اختلال در سیستم عصبی حشره سبب مرگ جنین در حال تکامل می‌شوند (Papachristos & Stamopoulos 2002).

براساس این مطالعه درصد مرگ و میر حشرات بالغ درغلظت‌های مختلف با هم اختلاف معنی‌داری داشتند که با نتایج Keita *et al*. (2000)، Tripathi *et al*. (2002) و Mirkazemi *et al*. (2009) مبنی بر افزایش مرگ و میر حشرات سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات در اثر افزایش غلظت اسانس، مطابقت دارد.

در این تحقیق با افزایش غلظت، درصد تلفات لاروها نیز افزایش یافت. نتایج به‌دست آمده با نتایج Tapondjou *et al*. (2002) که اسانس گیاه *Chenopodium ambrosioides* L. بر مراحل لاروی سوسک چهارنقطه‌ای حبوبات داخل بذر تأثیر گذاشته، از خروج حشرات بالغ جلوگیری می‌کند مطابقت دارد. محققین مختلفی مثل Ajayi ،Keita *et al*. (2000)،Raja *et al*. (2007) و Ogunwolu and Odunlami and Lale (2001) (1996) گزارش نموده‌اند که اسانس‌های گیاهی مراحل لاروی سوسک‌های حبوبات را در داخل بذر ازبین می‌برند و نتایج حاصل از این آزمایش مطابق گزارش نام‌بردگان می‌باشد.

با توجه به نتایج حاصل، می‌توان این اسانس را به‌جهت دارا بودن پتانسیل تدخینی به‌عنوان یک تدخین‌شونده‌ی امن در کنترل آفات انباری به‌کار برد. هرچند تا جانشین نمودن اسانس‌های گیاهی به‌جای ترکیبات شیمیایی پرقدرت در کنترل آفات انباری راهی نسبتاً طولانی درپیش است، اما تحقیقات در این زمینه می‌تواند ما را در یافتن ترکیبات با قدرت حشره‌کشی قابل توجه که فاقد اثرات مخرب زیست محیطی باشد، یاری نماید.

References

Adugna H. 2006. On-farm storages studies in Eritrea. *African Journal of Biotechnology* 5(17): 1537-1544.

Ajayi FA, Lale NES. 2001. Susceptibility of unprotected seeds and seeds of local Bambara groundnut cultivars protected with insecticidal essential oils to infestation by *Callosobruchus maculatus* (F.) (Bruchidae). *Journal of Stored Product Research* 37: 47 - 62.

Ajayi FA, Olonisakin A. 2011. Bio-activity of three essential oils extracted from edible seeds on the rust-red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst.) infesting stored pearl millet. *Trakia Journal of Sciences* 9(1): 28-36**.**

Anonymous. 2003. Basic facts and data on the science and politics of ozone protection. http://www.unep. Org/ozone/pdf/Press-Backgrounder.pdf [Accessed on 7 September 2011]

Arnason JT, Philogene BJR, Morand P. 1989. *Insecticides of Plant Origin.* American Chemical Society, Washington, DC.

Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oils- a review. *Food and Chemical Toxicology* 46, 446-475.

Dunkel, FV, Sears LJ. 1998. Fumigant properties of physical preparations from *Artemisia tridentata* for stored grain insect. *Journal of Stored Products Research* 34:307-321.

Emekci M. 2010. Quo Vadis the fumigants. Proceedings of the 10th International Working Conference on Stored Product Protection. 27 June-2July 2010, Portugal, Lisbon. pp: 303-313.

Hosseinzadeh A, Shayesteh N. 2012. Effect of two beam gamma and beam electron on different life stages of *Plodia interpunctella* (Hubner), *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Oryzaephilus surinamensis* L. Ph.D. Thesis on Agricultural Entomology, University of Urmia, 287 pp.

Isman MB. 2006. Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and in an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology* 5:45-66.

Keita SM, Vincent C, Schmit, 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.

Kim M, Park C, Ohh M, Cho H, Ahn Y. 2003. Contact and fumigant activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae). *Journal of Stored Product Research* 37(3): 127-132.

MarimuthuS, Gurusubramaniam G, Krishna S. 1997. Effect of exposure of eggs to vapor from essential oils on egg mortality development and adult emergence in *Earias vittella* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae). *Biological Agriculture and Horticulture* 14: 303-307.

Mirkazemi F, Bandani A, Sabahi G. 2009. Fumigant toxicity of essential oils from five pharmaceutical plants on adults of *Callosobruchus maculatus* (F). and *Tribolium castaneum* (Herbest). *Scientific Journal of Agriculture* 32(2): 37-39.

Modarres S. 2002. Damage assessment of stored product pests of wheat and barley in Systan Region, Iran. Proceeding of the 15th Iranian Plant Protection Congress (Volume1- Pests), 6-10 September 2002, Kermanshah, Iran. P.144.

Ogunwolu EO, Odunlami AT. 1996. Suppression of seed bruchid *Callosobruchus maculatus* (F.) development and damage on cowpea *Vigna unguiculata* (L.) with *Zanthozylum zanthoxyloides* (Lam.) (Rutaceae) root bark powder when compared to neem seed powder and pirimiphos methyl. *Crop Protection* 15(7): 603–607.

Papachristos DP, Stamopoulos DC. 2002. Toxicity of vapors of three essential oils to the immature stage of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research* 38: 365-373.

Raja M, John William S, Jayakumar M. 2007. Repellent activity of plant extract against pluse beetle *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleopteran: Bruchidae). *Hexapoda* 14(2): 142-145.

Rajendran S, Sriranjini V. **2008.** Plant products as fumigants for stored product insect control. *Journal of Stored Products Research* 44:126-135.

Regnault-Roger C, Hamraoui A. 1995. Fumigant toxic activity and reproductive inhibition induced by monoterpenes on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera), a bruchid of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of stored Product Research* 31: 291-299.

Rice PJ, Coats JR. 1994. Insecticidal properties of several monoterpenoids to the house fly (Diptera: Muscidae), red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae), and Southern corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology* 87: 1172-1179.

Rozman V,Kalinovic I, Korunic Z. 2007. Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored products insects. *Journal of Stored Product Research* 43: 349-355.

Sahaf BZ, Moharramipour S, Meshkatalsadat MH. 2007. Chemical constituents and fumigant toxicity of essential oil from various origins on *Callosobruchus phaseoli* (Gyllenhal) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research* 35: 285-295.

Shakarami J, Pourhosseini L, Vafaee R, Goldasteh Sh. 2008. Ovicidial effect of essential oils from three plants *Anethum graveolens* L., *M. piperita*, L. *Mentha aquatica* L. against *Callosobruchus maculatus*. *Journal of Entomological Research* 3(1): 221-228.

Tapondjou LA, Adler C, Bouda H, Fontem DA. 2002. Efficacy of powder and essential oil from *Chenopodium ambrosioides* leaves as post-harvest grain protectants against six stored product beetles. *Journal of Stored Products Research* 38: 395-402.

Tripathi AK, Prajapati V, Aggarwal KK, Khanuja SPS, Kumar S. 2000. Repellency and toxicity of oil from *Artemisia annua* to certain stored product beetles. *Journal of Economic Entomology* 93: 43-47.

Tripathi AK, Prajapati V, Verma N, Bahl JL, Bansle RP, Khanuja SP. 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.

van Someren Graver JE. 2004. *Guide to Fumigation under Gas-Proof Sheets*. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome.

White ND, Leesch JG. 1995. Chemical control. *Integrated Management of Insects in Stored Products*. 287-330 pp.

Inhalation toxicity of *Thuja orientalis* essence on different life stages of *Callosobruchus maculatus* (Col.: Bruchidae)

Monireh Taeed [1] , Rana Pooraiiouby [2] , Nuraddin Shayesteh [3] and Shahzad Iranipour[4]*

1. Graduated Student of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran.
2. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran.
3. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Islamic Azad University, Mahabad Branch, Mahabad, Iran.
4. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

(*corresponding author, e-mail: iranipour@tabrizu.ac.ir)

Abstract:

Due to a high toxicity of the plant extracts on stored product pests and their low toxicity on homoiothermique animals, they might be appropriate alternatives for conventional chemicals. In the present research, inhalation toxicity of *Thuja orientalis* extract is evaluated against the eggs, larvae and adults of *Callosobruchus maculatus*. The essential oil of fresh leaves of *T. orientalis* was extracted using distillation method using a Clevenger apparatus. Toxicity of concentrations ranging 5.7-60 µl/l air were assayed in 4 replications on 1-3-day old adults, 1-7-day old larvae and 1-day old eggs of *C. maculatus* at 25±1°C, and 70±5% RH. Results showed that the extracts could be introduced as an alternative for chemicals tentatively. Moreover, our experiments revealed that the mortality rate increases considerably in higher concentrations and longer exposure periods. Additionally, different life stages of *C. maculatus* showed different susceptibilities to the extract since the adults were more susceptible in comparison with eggs and larvae to the extract. The estimated LC_{50} values in 24h exposure period were 12.05 ± 0.65, 39.19 ± 1.35 and 22.60 ± 0.91 µl/l air for adults, larvae and eggs, respectively.

Keywords: Essential oil, Bioassay, Inhalation toxicity, *Callosobruchus maculatus*, *Thuja orientalis*.