

اثرات زیستی اسانس پوست میوه چند گونه مرکبات روی شپشه‌ی آرد *Tribolium confusum* Duval (Coleoptera: Tenebrionidae)

مهدی کبیری رئیس آباد^۱ - محمود محمدی شریف^{۲*} - ملیحه کبیری نسب^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۱/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۹/۱۲

چکیده

در این تحقیق قابلیت تدخینی، اثرات دورکنندگی و دوام اثر حشره‌کشی اسانس بدست آمده از پوست پرتقال، نارنج و نارنگی رقمهای انشو، پیچ و یافا روی حشرات کامل شپشه آرد *Tribolium confusum* مورد بررسی قرار گرفت. اسانس بوسیله دستگاه کلونجر استخراج گردید. برای بررسی اثر تدخینی اسانس از ظروفی به حجم ۴۰ میلی لیتر و کاغذ صافی (Whatman, N°1) به عنوان منبع متصاعد کننده اسانس استفاده شد. جهت بررسی قابلیت تدخینی، مرگومیر ناشی از چهار غلظت متفاوت هر یک از اسانس‌ها پس از گذشت ۱، ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۲۴ ساعت از تیمار اندازه‌گیری شد. اثر دورکنندگی ناشی از چهار غلظت ۰/۱۸، ۰/۳۶، ۰/۷۲ و ۱/۴۵ میکرولیتر بر سانتیمتر مربع اسانس، از طریق مقایسه تعداد حشرات کامل در دو قسمت تیمار شده و تیمار نشده برآورد شد. نتایج بررسی قابلیت تدخینی نشان داد که مرگومیر با گذشت زمان افزایش یافت اما اسانس‌ها معمولاً طی ۱۲ ساعت اول بیشترین کارایی خود را اعمال کردند. مرگومیر ناشی از بالاترین غلظت (برای اسانس‌های ذکر شده بترتیب ۰/۳۲۵، ۰/۴۰۰، ۰/۳۵۰، ۰/۲۷۵ و ۰/۳۷۵ میکرولیتر بر لیتر هوا) پس از ۲۴ ساعت بیش از ۹۷ درصد بود. میانگین درصد دورکنندگی ناشی از چهار غلظت اسانس‌ها بترتیب ۳۲/۵، ۶۵، ۵۵ و ۳۷/۵ و ۴۰ درصد برآورد شد. میزان دوام از ۱۲ روز (اسانس انشو) تا ۲۲ روز (اسانس یافا) متغیر بود.

واژه‌های کلیدی: اسانس، *Tribolium confusum*، دورکنندگی، دوام اسانس

مقدمه

غلات و حیوانات از منابع غذایی مهم انباری بوده و کمترین خسارت و زیان وارده به آنها غیر قابل جبران است. شپشه آرد *T. confusum* یکی از آفات محصولات انباری است که ضمن تغذیه مستقیم، به علت افزایش سریع جمعیت، محصولات انباری را با فضولات و پوسته‌های لاروی خود آلوده کرده و از مرغوبیت آن می‌کاهد (۷).

امروزه استفاده از مواد شیمیایی مصنوعی برای کنترل حشرات آفت نگرانی‌های بسیاری را برای سلامت انسان‌ها و محیط زیست ایجاد کرده است (۱۲). استفاده مکرر از این ترکیبات، موجب بروز مشکلاتی از قبیل مسمومیت‌های حاد و مزمن، از بین بردن عوامل کنترل طبیعی و گسترش مقاومت آفات به حشره‌کش‌ها می‌شود (۲۹). متیل بروماید و فسفین دو ترکیب شیمیایی رایج برای کنترل آفات

انباری هستند. مصرف متیل بروماید به دلیل اثرات مخرب روی لایه ازون در بسیاری از کشورها تا سال ۲۰۱۵ متوقف خواهد شد. از طرفی مقاومت آفات به فسفین نیز تردیدهایی جدی در موثر بودن آن ایجاد کرده است (۸ و ۲۱). بنابراین نیاز به استفاده از ترکیباتی که ضمن کنترل موثر آفات حداقل خسارت را به محیط زیست و سلامتی انسان وارد کنند امری ضروری به نظر می‌رسد. تولیدات گیاهی می‌توانند جایگزین‌های مناسبی برای آفت‌کش‌های مصنوعی باشند، چرا که این ترکیبات برای انسان، محیط زیست و موجودات غیر هدف اثر نامطلوبی ندارند (۱۶). تحقیقات زیادی درباره‌ی اثرات زیستی اسانس‌های گیاهی صورت گرفته و مشخص شده است که این ترکیبات دارای اثرات حشره‌کشی (۱۵)، قارچ‌کشی (۱۰)، باکتری‌کشی (۲۷) و کنه‌کشی هستند (۱۸).

در تحقیقات مختلفی اثر اسانس‌های گیاهی روی شپشه آرد بررسی شده است. عبدالعزیز و ال سید (۷) اثر دورکنندگی شش اسانس گیاهی را روی حشرات کامل شپشه آرد *Tribolium confusum* (du val) بررسی کرده و نشان دادند اسانس آویشن، *Thymus vulgaris* L. با میانگین ۹۱/۵۶ درصد دورکنندگی،

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیار و دانشجوی کارشناسی ارشد گروه گیاه پزشکی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
* - نویسنده مسئول: (Email: msharif1353@yahoo.com)

تهیه اسانس

پرتقال رقم تامسون، نارنج و سه رقم نارنگی شامل پیچ، یافا و انشو مورد استفاده در این آزمایش از باغ‌های میوه سم‌پاشی نشده شهرستان ساری تهیه گردیدند. پوست میوه‌ها در دمای معمولی خشک شدند. در هر مرتبه اسانس‌گیری ۶۰ گرم پودر پوست میوه با ۶۰۰ میلی لیتر آب مقطر استفاده شد. اسانس‌گیری بوسیله دستگاه کلونجر^۵، در دمای ۱۰۰°C و به مدت ۳ ساعت (تا زمانیکه کلیه اسانس از نمونه خارج شود) انجام شد. سپس اسانس گرفته شده با حلال هگزان مخلوط (۱:۱) و با استفاده از کیف دکانتور جداسازی شد. مخلوط اسانس و هگزان با استفاده از سولفات سدیم (۱:۵) آگیری شده و حلال آن توسط دستگاه تبخیر کننده دورانی^۶ (ساخت شرکت Rikakikai ژاپن) در دمای ۴۰°C و ۹۰ rpm جداسازی شد. اسانس بدست آمده تا زمان استفاده در ظروف شیشه‌ای تیره با روپوش آلومینیومی در یخچال نگه داری شد.

سمیت تدخینی اسانس

ابتدا کاغذ صافی‌هایی (Whatman, N°1) به ابعاد ۱×۲ cm بوسیله میکروپیپت با غلظت‌های مختلف هر کدام از اسانس‌ها آغشته شده و به قسمت درونی درپوش ظروف شیشه‌ای استوانه‌ای شکل به حجم ۴۰ ml (قطر دهانه ۲ و ارتفاع ۸ سانتیمتر) متصل شدند. پس از انجام آزمایش‌های مقدماتی، غلظت پایین اسانس‌ها طوری انتخاب شد که پس از ۲۴ ساعت از تیمار مرگ‌ومیر صفر نباشد. با لحاظ غلظت‌های بالای آزمایش‌های زیست سنجی، سه غلظت دیگر به صورت ضریبی انتخاب شدند. غلظت‌های مورد استفاده بر حسب میکرولیتر بر لیتر هوا برای اسانس پرتقال؛ ۱۲۵، ۱۷۵، ۲۳۷/۵ و ۳۲۵، نارنج؛ ۱۲۵، ۲۰۰، ۲۸۷/۵ و ۴۰۰، نارنگی انشو؛ ۱۲۵، ۱۷۵، ۲۵۰ و ۳۵۰، نارنگی پیچ؛ ۱۲۵، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۷۵ و نارنگی یافا؛ ۱۲۵، ۱۷۵، ۲۲۵ و ۳۰۰ بودند. کاغذ صافی‌ها به وسیله تلق نازک بصورتی از درپوش ظروف آویزان شدند تا از تماس مستقیم حشرات کامل با آنها جلوگیری شود. برای تیمار شاهد از کاغذ صافی‌های بدون تیمار استفاده شد. در هر شیشه، ۱۲ عدد حشره کامل ۱-۲ روزه رها شده، درپوش شیشه‌ها محکم بسته و با پارافیلیم غیر قابل نفوذ گردیدند. تعداد حشرات مرده و زنده در ظروف شاهد و تیمار پس از گذشت ۱، ۳، ۶، ۹، ۱۲ و ۲۴ ساعت از تیمار، شمارش و ثبت شد. حشراتی که قادر به حرکت دادن پاها و شاخک خود در مقابل تحریک با سوزن نبودند مرده تلقی می‌شدند. برای این آزمایش‌ها سه تکرار در نظر گرفته شد.

بیشترین تاثیر را داشت. کارایی کشندگی اسانس سیر، *Allium sativum* L. (۱۴) و اسانس‌های اکالیپتوس، *Dehnhardt Eucalyptus camaldulensis* و شیشه‌شور، *Callistemon viminalis* (Gaertn.) (۲) نیز روی حشرات کامل این گونه بررسی شده است. در ایران اثر اسانس‌های دیگری همچون گل مکزیکی *Agastache foeniculu* (Pursh) Kuntze درمنه کوهی *Artemisia aucheri* Boiss درمنه *Artemisia sieberi* پرتقال *Citrus sinensis* L. اکالیپتوس *Eucalyptus globulus* Labill. اسطوخودوس *Rosmarinus L. Lavandula stoechas* رزماری *officinalis* مرزه *Satureja hortensis* L. و آویشن *Thymus persicus* Ronniger روی فراسنجه‌های زیستی شیشه آرد *Tribolium castaneum* Herbst) مورد بررسی قرار گرفته است (۹).

اسانس بدست آمده از پوست میوه مرکبات ویژگی حشره‌کشی قابل توجهی داشته و این خاصیت روی حشرات آفت محصولات انباری از جمله *Rhizopertha dominica* (Fab.) (L.)، *Sitophilus oryzae* (Fab.)، *T. confusum*، *Sitophilus granarius* و *Callosobruchus maculatus* (L.) به اثبات رسیده است (۱۹ و ۳۰). لیمونن^۱ اصلی ترین ترکیب در اسانس مرکبات است که بترتیب ۹۶/۶، ۹۶/۸ و ۹۲/۶ درصد از اسانس‌های پرتقال *C. sinensis* L.، نارنج *C. aurantium* L. و نارنگی *C. reticulata* Blanco را تشکیل می‌دهد (۱۳). در این تحقیق سمیت تدخینی، قابلیت دورکنندگی و دوام اثر حشره‌کشی اسانس پوست پرتقال *C. sinensis* L.، نارنج *C. aurantium* و نارنگی *C. reticulata* رقم‌های انشو^۲، پیچ^۳ و یافا^۴ روی حشرات کامل شیشه آرد مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

پرورش حشره

کلنی اولیه شیشه آرد *T. confusum* از آرد آلوده به این آفت جمع آوری شد. حشرات کامل در جعبه‌های پلاستیکی به ابعاد ۱۰×۱۵×۲۵ cm در دستگاه ژرمیناتور با دمای ۲۷±۲°C و رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد با استفاده از مخلوط آرد و مخمر (۱:۱۰) به عنوان منبع غذایی پرورش یافتند. تمامی آزمایش‌ها در همین شرایط محیطی انجام شدند.

1 - Limonene

2 - Satsuma

3 - Page

4 - Clemantin

5 - Clevenger

6 - Rotary evaporator

انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون LSD همین نرم افزار صورت گرفت. نمودارها به کمک نرم افزار EXCEL رسم شدند.

نتایج و بحث

اثر تدخینی

با افزایش زمان و همچنین افزایش غلظت اسانس‌ها مرگ‌ومیر افزایش یافت (جدول ۱). در یک ساعت پس از تیمار با غلظت پایین تمام اسانس‌ها (۱۲۵ میکرولیتر بر لیتر هوا) بجز اسانس نارنگی یافا، مرگ‌ومیری مشاهده نشد. شروع مرگ‌ومیر با غلظت ۱۲۵ میکرولیتر بر لیتر هوا در مورد اسانس‌های پرتقال، نارنج، انشو و نارنگی پیچ بترتیب در ۱۲، ۳، ۶ و ۹ ساعت پس از تیمار بود. غلظت بالای اسانس‌ها (۳۲۵، ۴۰۰، ۳۵۰ و ۲۷۵ میکرولیتر بر لیتر هوا، بترتیب برای اسانس‌های پرتقال، نارنج، انشو، پیچ و یافا) از همان ساعت اول پس از تیمار باعث مرگ‌ومیر شد و با افزایش زمان تیمار، مرگ‌ومیر نیز افزایش یافت. ارتباط میان افزایش زمان تیمار و افزایش مرگ‌ومیر توسط محققین دیگری نیز گزارش شده است. بعنوان مثال مرگ‌ومیر در حشرات کامل *Zabrotes Subfasciatus* (Boh.) تیمار شده با غلظت ۰/۷۵ g اسانس پوست میوه پرتقال با افزایش زمان از ۲۴ به ۹۶ ساعت از ۴۷/۸ به ۶۷/۴ درصد افزایش یافت (۳۲). بر اساس نتایج تحقیق حاضر برای کنترل ۵۰ درصد حشرات کامل با به کار بردن غلظت بالای اسانس‌ها، نیاز است که محیط تیمار حداقل ۶ ساعت بسته نگه داشته شود. اما از آنجایی که در کنترل آفات انباری مرگ‌ومیر بالا مورد نظر است بنابراین برای کنترل بیش از ۹۰ درصد حشرات کامل با استفاده از غلظت بالای اسانس‌ها (بجز اسانس نارنگی یافا)، محیط تیمار شده باید ۲۴ ساعت بسته نگه داشته شود. در مورد نارنگی یافا با ۱۲ ساعت بسته نگه داشتن محیط تیمار می‌توان به این سطح از کنترل دست یافت. در تحقیقی سمیت تدخینی اسانس پوست میوه پرتقال روی همین گونه بررسی و میزان LC_{50} اسانس، ۲۴ ساعت پس از تیمار، ۲۵۹ میکرولیتر بر لیتر هوا برآورد شد (۲۸). در تحقیق حاضر غلظت ۲۳۷/۵ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس پرتقال ۲۴ ساعت پس از تیمار ۴۷/۲۲ درصد مرگ‌ومیر ایجاد کرد. در تحقیق مروج و همکاران (۲۴) غلظت ۱۱۰ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس نارنگی *C. reticulate*، ۲۴ ساعت پس از تیمار در سوسک چهار نقطه‌ای *C. maculates*، ۹۸/۸۱ درصد مرگ‌ومیر ایجاد کرد. در تحقیق ما غلظت ۱۲۵ میکرولیتر بر لیتر هوا از هر سه رقم نارنگی، کمتر از ۴۰ درصد حشرات کامل شیشه آرد را از بین برد که نشان دهنده حساسیت بالاتر سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات نسبت به شیشه آرد در برابر این اسانس است. تفاوت حساسیت این دو گونه در برابر اسانس مرکبات در تحقیق دیگری گزارش شده است (۲۸). این محققین LC_{50} اسانس پوست میوه

اثر دورکنندگی اسانس‌ها

آزمایش دورکنندگی اسانس‌ها مشابه روش جیلیانی و ساکسنا (۱۵) انجام شد. کاغذ صافی‌هایی به قطر ۸ سانتیمتر بریده شده و به دو قسمت تقسیم شدند. بر اساس نتایج مربوط به سمیت تدخینی اسانس‌ها، چهار غلظت نهایی طوری انتخاب شدند که بالاترین غلظت به کار برده شده ۳ ساعت پس از تیمار هیچ مرگ‌ومیری نداشته باشد. مقادیر مختلف اسانس در ۱۵۰ میکرولیتر استون حل شدند تا چهار غلظت نهایی ۰/۱۸، ۰/۳۶، ۰/۷۲ و ۱/۴۵ میکرولیتر بر سانتیمتر مربع بدست آید. نیمی از کاغذ صافی به غلظت‌های مختلف اسانس و نیم دیگر به استون (شاهد) آغشته شد. پس از گذشت ۱۰ دقیقه از زمان تیمار و تبخیر کامل استون، دو قسمت کاغذ صافی در کنار هم در کف ظروف پتری قرار گرفتند. سپس ۱۰ عدد حشره کامل یک تا دو روزه در مرکز کاغذ صافی رها شد. تعداد حشرات موجود در هر یک از دو قسمت پس از گذشت ۱، ۲ و ۳ ساعت شمارش شده و درصد دورکنندگی بر اساس فرمول $PR=[(Nc-Nt)/(Nc+Nt)] \times 100$ بدست آمد (۲۵). در این فرمول، Nc؛ تعداد حشرات روی سطح تیمار نشده و Nt؛ تعداد حشرات روی سطح تیمار شده است. میانگین درصد دورکنندگی در یکی از گروه‌های شش گانه 0-I-II-III-IV-V قرار گرفت. این آزمایش برای هر کدام از اسانس‌ها و هر کدام از غلظت‌ها ۳ بار تکرار شد.

بررسی دوام اسانس

هدف از این تحقیق بررسی غلظتی از اسانس بود که بتواند مدت زمان زیادی (بالاتر از ۱۰ روز) اثر کشندگی خود را حفظ کند. بر این اساس و با توجه به آزمایش‌های مقدماتی غلظت ۲۵۰۰ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس‌های فوق روی حشرات کامل یک تا دو روزه بررسی شد. مشابه شیوه‌های قبلی، ظروف با غلظت مورد نظر هر یک از اسانس‌ها تیمار شدند اما حشرات کامل ۲۴ ساعت پس از تیمار در شیشه‌های آزمایش قرار گرفتند. میزان مرگ‌ومیر ۲۴ ساعت پس از انتقال ثبت شد. این آزمایش هر ۲۴ ساعت یکبار تا حداکثر زمانی که پس از اسانس‌دهی مرگ‌ومیری مشاهده نشود، ادامه یافت. درپوش ظرف‌ها قبل از انتقال حشرات کامل بسته و با پارافیلیم غیر قابل نفوذ شدند. پس از انتقال حشرات کامل نیز دوباره بسته و در تمام طول آزمایش مسدود باقی ماندند. این آزمایش‌ها به همراه شاهد چهار بار تکرار شدند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

در صورت وجود مرگ‌ومیر در شاهد، درصد مرگ‌ومیر تیمارها با فرمول فینی تصحیح شدند (۱۱). تجزیه پروبیت داده‌های ثبت شده در آزمایش‌های زیست‌سنجی با استفاده از نرم افزار SPSS 16.0

پرتقال را برای شیشه آرد ۲۵۹ و برای سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات ۱۵۸/۵ میکرولیتر بر لیتر هوا برآورد نمودند. یکی از مسائل مورد توجه در کنترل آفات انباری مدت زمان بسته نگه داشتن محیط تیمار است. چنانچه به هر دلیلی امکان بسته نگه داشتن محیط تیمار شده بمدت زیادی وجود نداشته باشد، با به کار بردن غلظت بالای اسانس و زمان کمتر می‌توان به کنترل مناسب دست یافت. مثلاً با استفاده از غلظت بالای تمامی اسانس‌ها (۳۲۵، ۴۰۰، ۳۵۰، ۲۷۵ و ۳۰۰ میکرولیتر بر لیتر هوا، بترتیب برای اسانس‌های پرتقال، نارنج، انشو، پیچ و یافا) و بسته نگه داشتن محیط تیمار بمدت ۱۲ ساعت می‌توان بیش از ۸۰ درصد جمعیت آفت را کنترل نمود. چنانچه میزان اسانس مطرح باشد، بمنظور کنترل بیش از ۵۰ درصد این آفت می‌توان از غلظت‌های پایین تر اسانس استفاده نمود. مثلاً با به کار بردن غلظت‌های ۲۸۷/۵، ۱۷۵، ۲۰۰ و ۱۷۵ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس‌های نارنج، نارنگی ارقام انشو، پیچ و

یافا می‌توان به این سطح از کنترل دست یافت. مقایسه برخی غلظت‌های مشابه اسانس‌ها نشان داد که غلظت پایین اسانس نارنگی یافا با ۳۳/۳۳ درصد کنترل بیشترین تاثیر را دارد، اما غلظت بالای اسانس نارنگی پیچ با غلظتی پایین تر از سایر اسانس‌ها توانست ۱۰۰ درصد جمعیت آفت را کنترل کند.

در مقایسه کارایی اسانس مرکبات با سایر اسانس‌های گیاهی روی این آفت می‌توان به تحقیق حمزه‌وی و همکاران (۲) اشاره کرد که LC_{50} اسانس اکالیپتوس *E. camaldulensis* و بطری شور *C. viminalis* را روی این آفت بترتیب ۲۰/۸۸ و ۲۰/۰۶ میکرولیتر بر لیتر هوا برآورد نمودند. در تحقیق دیگری میزان LC_{50} اسانس اکالیپتوس *E. globules* روی این آفت ۱۱۲/۴ میکرولیتر بر لیتر هوا برآورد شد (۱). صفوی و مبکی میزان LC_{50} اسانس نارنگی را روی شیشه آرد *T. castaneum* پس از گذشت ۲۴ ساعت از تیمار ۳۸/۲ میکرولیتر بر لیتر هوا برآورد کردند (۲۶).

جدول ۱ - درصد مرگومیر حشرات کامل شیشه آرد تیمار شده با غلظت‌های مختلف اسانس مرکبات

اسانس	غلظت (میکرولیتر بر لیتر هوا)	ساعت پس از تیمار				
		۱	۳	۶	۹	۱۲
پرتقال	۱۲۵	.a*	.a	.a	.a	۸/۳۳ ^b
	۱۷۵	.a	.a	.a	۸/۳۳ ^b	۲۵ ^d
	۲۳۷/۵	۱۹/۴۴ ^a	۲۲/۲۲ ^a	۳۰/۵۵ ^b	۳۶/۱۱ ^b	۴۷/۲۲ ^c
	۳۲۵	۳۰/۵۵ ^a	۳۶/۱۱ ^a	۵۵/۵۵ ^b	۶۹/۴۴ ^c	۸۳/۳۳ ^d
نارنج	۱۲۵	.a	.a	۲/۷۷ ^{ab}	۲/۷۷ ^{ab}	۲/۷۷ ^{ab}
	۲۰۰	۱۱/۱۱ ^a	۲۲/۲۲ ^b	۲۲/۲۲ ^b	۳۳/۳۳ ^c	۳۳/۳۳ ^c
	۲۸۷/۵	۱۶/۶۶ ^a	۳۳/۳۳ ^b	۵۸/۳۳ ^c	۷۵ ^d	۷۷/۷۷ ^d
	۴۰۰	۱۶/۶۶ ^a	۴۱/۶۶ ^b	۶۱/۱۱ ^c	۷۵ ^d	۸۳/۳۳ ^e
نارنگی (انشو)	۱۲۵	.a	۲/۷۷ ^{ab}	۲/۷۷ ^{ab}	۲/۷۷ ^{ab}	۲/۷۷ ^{ab}
	۱۷۵	۸/۳۳ ^a	۱۶/۶۶ ^b	۲۲/۲۲ ^c	۳۳/۳۳ ^d	۴۴/۴۴ ^e
	۲۵۰	۱۱/۱۱ ^a	۱۳/۸۸ ^a	۲۵ ^b	۴۱/۶۶ ^c	۶۶/۶۶ ^d
	۳۵۰	۱۶/۶۶ ^a	۳۶/۱۱ ^b	۵۰ ^c	۶۶/۶۶ ^d	۸۸/۸۸ ^e
نارنگی (پیچ)	۱۲۵	.a	.a	.a	۲/۷۷ ^a	۲/۷۷ ^a
	۱۵۰	۲/۷۷ ^a	۵/۵۵ ^a	۸/۳۳ ^{ab}	۱۳/۸۸ ^b	۱۳/۸۸ ^b
	۲۰۰	۱۱/۱۱ ^a	۱۶/۶۶ ^b	۲۵ ^c	۳۰/۵۵ ^d	۳۶/۱۱ ^e
	۲۷۵	۲۷/۷۷ ^a	۴۱/۶۶ ^b	۶۹/۴۴ ^c	۷۷/۷۷ ^d	۸۸/۸۸ ^e
نارنگی (یافا)	۱۲۵	۸/۳۳ ^a	۱۱/۱۱ ^a	۲۵ ^b	۲۵ ^b	۲۷/۷۷ ^b
	۱۷۵	۱۳/۸۸ ^a	۳۰/۵۵ ^b	۵۰ ^c	۶۱/۱۱ ^d	۶۹/۴۴ ^e
	۲۲۵	۱۳/۸۸ ^a	۳۳/۳۳ ^b	۵۰ ^c	۶۶/۶۶ ^d	۷۷/۷۷ ^e
	۳۰۰	۲۲/۲۲ ^a	۴۴/۴۴ ^b	۶۹/۴۴ ^c	۸۰/۵۵ ^d	۹۱/۶۶ ^e

*- حروف غیر مشابه در هر ردیف اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ را نشان می‌دهد

از ۳ ساعت بیش از سایر اسانس‌ها بود، با این حال این قابلیت اسانس نارنج بطور معنی داری تنها از اسانس پرتقال بالاتر بود. اما اختلاف معنی داری با میانگین درصد دورکنندگی اسانس ارقام مختلف نارنگی نداشت. در تحقیق مشابهی میانگین درصد دورکنندگی غلظت‌های ۰/۱۵، ۰/۲۸، ۰/۵۲ و ۱/۵۷ میکرولیتر بر سانتیمتر مربع از اسانس *A. sativum* روی شیشه آرد *T. confusum*، ۸۰/۴۲ درصد برآورد شد (۷). نیکویی و محرمی پور (۶) نشان دادند میزان دورکنندگی غلظت‌های ۱ و ۳ میکرولیتر اسانس مریم گلی کارواندردی *Rech Salvia mirzayanii* روی حشرات کامل *T. confusum* بترتیب ۸۳/۳۳ و ۸۶/۶۶ درصد بود. مقایسه داده‌ها نشان دهنده کارایی قابل قبول اسانس مرکبات در مقایسه با اسانسهای ذکر شده است. در تحقیق دیگری میانگین درصد دورکنندگی چهار غلظت ۰/۰۱، ۰/۰۵، ۰/۱۵ و ۰/۲ درصد از اسانس نارنگی روی شیشه آرد *T. castaneum* پس از گذشت چهار ساعت از زمان تیمار، ۶۷/۹ درصد برآورد شد (۲۲). میانگین درصد دورکنندگی سه غلظت ۰/۰۱۲، ۰/۰۶ و ۰/۳g در ۱۰۰ گرم بذر تمار شده با اسانس پوست پرتقال *C. sinensis* روی *Z. subfasiatus* بترتیب ۳۳/۵، ۲۵/۷۵ و ۳۷/۸۷ درصد برآورد شد (۳۲). هر چند که محققین در دو پژوهش اخیر از اسانس مرکبات استفاده کرده‌اند اما تیمار متفاوت انجام شده در آن پژوهشها مانع مقایسه مستقیم نتایج می‌شود، با این حال بنظر می‌رسد قابلیت دورکنندگی مرکبات روی انواع مختلف آفات انباری در حد مناسبی است. در یک تقسیم بندی قراردادی میانگین درصد دورکنندگی به شش گروه تقسیم می‌شود. درصد دورکنندگی در این گروه‌ها بصورت زیر است: ۰/۱-۰/۰۱ (0)، ۰/۱-۰/۱ (I)، ۰/۱-۰/۱ (II)، ۰/۱-۰/۱ (III)، ۰/۱-۰/۱ (IV) و ۱۰۰-۸۰/۱ (V) (۳۱). با مبنا قرار دادن میانگین درصد دورکنندگی اسانس‌ها، این شاخص برای اسانس‌های پرتقال، نارنگی ارقام پیچ و یافا در گروه II، نارنگی رقم انشو در گروه III، و نارنج در گروه IV دسته بندی شد.

با مبنا قرار دادن غلظت کشنده ۵۰ درصد، سمیت تنفسی اسانس پوست میوه مرکبات پایین تر از اسانس‌های ذکر شده است. این تفاوت می‌تواند ناشی از تفاوت در دو گونه گیاهی باشد. حتی ممکن است اسانس‌های استخراج شده از یک گونه گیاهی در محل‌های رویشی متفاوت یا فصول مختلف رویشی، اختلاف داشته باشند. بعنوان مثال برخی محققین نشان دادند کیفیت مواد استخراج شده از گیاهان و ترکیبات آن‌ها به شرایط آب و هوایی منطقه، ترکیب خاک و مرحله رشدی گیاه بستگی دارد (۲۰). با توجه به سمیت تنفسی قابل قبول اسانس‌ها روی این آفت و دسترسی آسان‌تر و بازده مناسب، بنظر می‌رسد اسانس مرکبات می‌تواند بعنوان یکی از گزینه‌های کنترلی این آفت مطرح باشد.

قابلیت دورکنندگی اسانس

با افزایش غلظت اسانس درصد دورکنندگی افزایش پیدا کرد (جدول ۲). ارتباط درصد دورکنندگی با افزایش غلظت اسانس در بررسی‌های دیگری گزارش شده است. در تحقیق ملایی و همکاران (۲۳)، با افزایش غلظت اسانس *S. hortensis* از ۰/۱۶ به ۰/۴ میکرولیتر بر لیتر هوا، میزان دورکنندگی اسانس روی شیشه آرد *T. castaneum* از ۳۲/۵ به ۹۲/۵ درصد افزایش یافت. میشرا و تریپاتی (۲۲) نیز نشان دادند با افزایش غلظت اسانس پوست نارنگی *C. reticulate* از ۰/۰۵ به ۰/۲ درصد، اثر دورکنندگی روی شیشه برنج *S. oryzae* از ۴۸/۳ به ۷۸/۳ درصد و روی شیشه آرد *T. castaneum* از ۵۳/۳ به ۸۰ درصد افزایش یافت. در تحقیق حاضر غلظت پایین (۰/۱۸ میکرولیتر بر سانتیمتر مربع) اسانس‌های پرتقال، نارنج، نارنگی‌های رقم انشو، پیچ و یافا پس از سه ساعت بترتیب صفر، ۶۰، ۴۰، ۲۰ و ۳۰ درصد دورکنندگی داشتند. با افزایش غلظت اسانس به ۱/۴۵ میکرولیتر بر سانتیمتر مربع، میزان دورکنندگی اسانس‌های ذکر شده بترتیب به ۶۰، ۸۰، ۹۰، ۶۰ و ۶۰ درصد افزایش یافت. در بین اسانس‌ها، میانگین درصد دورکنندگی اسانس نارنج پس

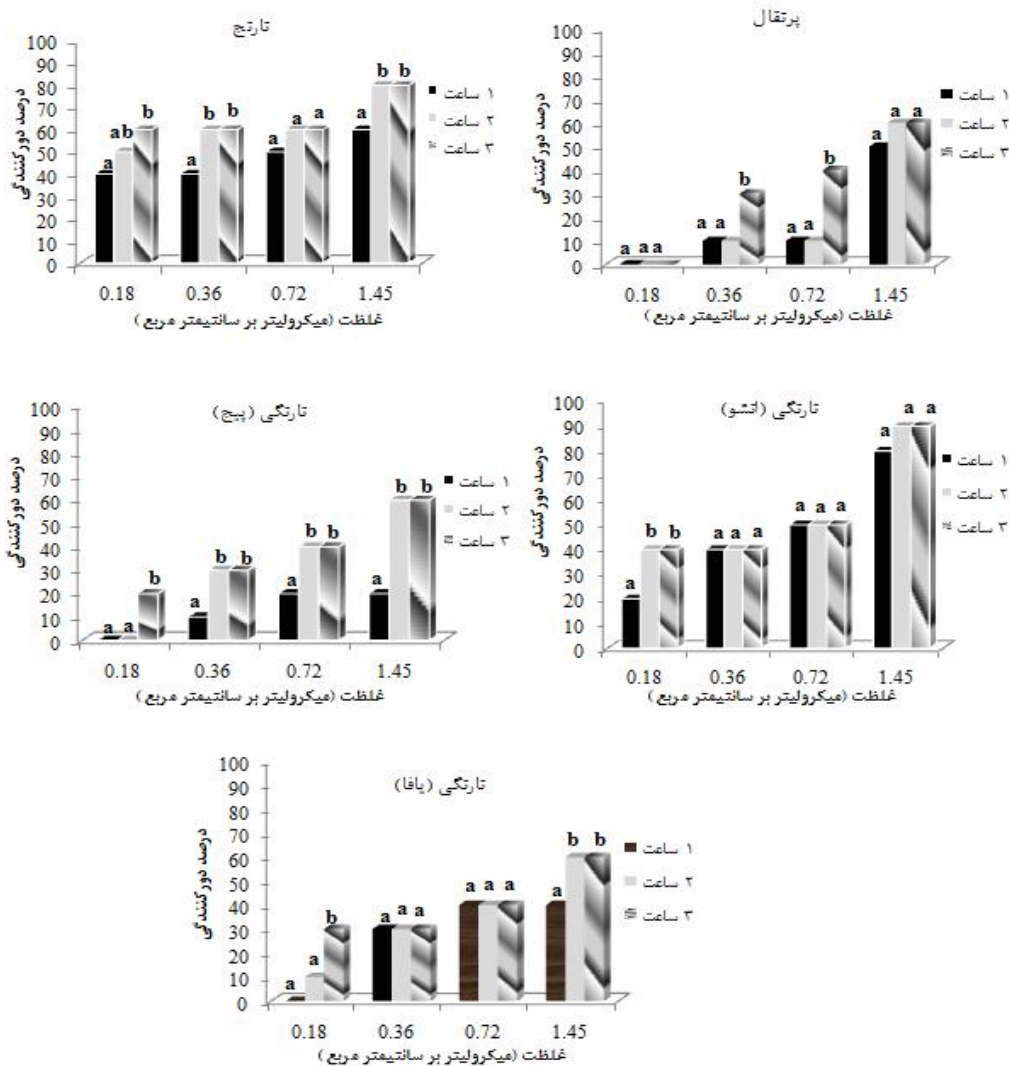
جدول ۲- درصد دورکنندگی اسانس پوست میوه مرکبات روی *T. confusum* پس از ۳ ساعت

اسانس	غلظت (میکرولیتر بر سانتیمتر مربع)			
	۱/۴۵	۰/۷۲	۰/۳۶	۰/۱۸
پرتقال	۳۲/۵± ۱۲/۵ ^a	۶۰	۴۰	۳۰
نارنج	۶۵± ۵ ^b	۸۰	۶۰	۶۰
نارنگی (انشو)	۵۵± ۱۱/۹ ^{ab}	۹۰	۵۰	۴۰
نارنگی (پیچ)	۳۷/۵± ۸/۵ ^{ab}	۶۰	۴۰	۳۰
نارنگی (یافا)	۴۰± ۷/۰۷ ^{ab}	۶۰	۴۰	۳۰

*- حروف غیر مشابه در ستون اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ را نشان می‌دهد

نباشد ولی قابلیت دورکنندگی بالایی داشته باشد. بنظر می‌رسد که اثرات دورکنندگی و کشندگی اسانس ممکن است مشابه نباشند. بعنوان مثال لو و هو (۱۸) گزارش نمودند اسانس گیاه *Hook Evodia rutaecarpa* برای شیشه برنج سمیت تنفسی بیشتری نسبت به شیشه آرد دارد ولی اثر دورکنندگی این گیاه روی شیشه آرد بیشتر از شیشه برنج بود. در تحقیق حاضر با وجودی که نارنگی رقم پیچ بیشترین سمیت تنفسی را روی شیشه آرد داشت اما بیشترین درصد دورکنندگی مربوط به دو اسانس نارنج و نارنگی رقم انشو بود. شاکرمی و همکاران (۳) نیز نشان دادند که اسانس Banks & Sol *Salvia bracteata* روی شیشه آرد سمیت پایین اما قابلیت دورکنندگی بالایی دارد.

در ۱۵ تیمار از ۲۰ تیمار ترکیبی غلظت-زمان، میزان دورکنندگی در ۳ ساعت پس از تیمار بیش از یک ساعت بود (شکل ۱). در ۱۲ مورد از این تیمارها این اختلاف معنی دار نیز بود. بیشترین و کمترین درصد دورکنندگی ناشی از غلظت ۱/۴۵ میکرولیتر بر سانتیمتر مربع، یک ساعت پس از تیمار، بترتیب مربوط به اسانس‌های نارنگی انشو (۸۰ درصد) و نارنگی پیچ (۲۰ درصد) بود. نتایج نشان داد گرچه میانگین درصد دورکنندگی اسانس نارنج بالاتر از اسانس‌های دیگر بود اما بیشترین دورکنندگی با گذشت سه ساعت از زمان تیمار و در غلظت بالای اسانس نارنگی انشو با ۹۰ درصد دورکنندگی مشاهده شد. علی رغم سمیت تنفسی قابل قبول، میانگین درصد دورکنندگی این اسانس‌ها چندان بالا نبود. گزارش شده که یک ترکیب ممکن است برای حشره‌ای کشنده



شکل ۱- دورکنندگی غلظت‌های مختلف اسانس مرکبات در ساعات مختلف پس از تیمار (حروف غیر مشابه برای هر غلظت اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد را نشان می‌دهد)

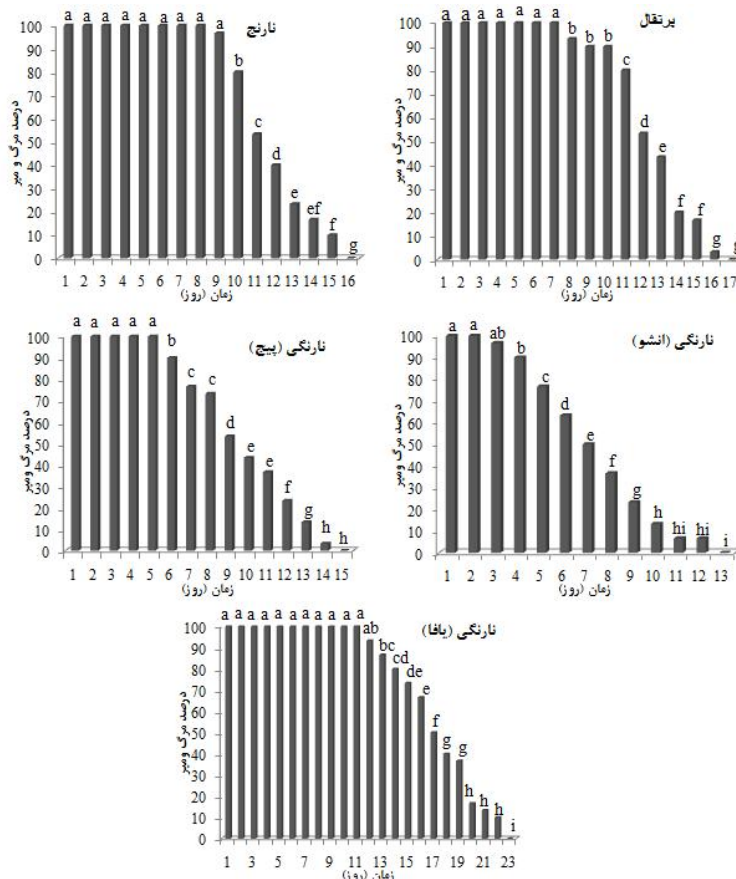
دوام اسانس

با گذشت زمان، دوام اثر کشندگی اسانس‌ها بتدریج کاهش یافت (شکل ۲). منظور از دوام اسانس مدت زمانی است که اسانس در محیط تیمار شده باقی مانده و همچنان اثر کشندگی دارد. دوام غلظت ۲۵۰۰ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس‌های پرتقال، نارنج، نارنگی رقم‌های انشو، پیچ و یافا بترتیب ۱۶، ۱۵، ۱۲، ۱۴ و ۲۲ روز بود. در تحقیق مشابهی دوام غلظت ۹۲۶ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس *S. sieberi*، *T. castaneum*، *C. maculatus* و *S. oryzae* بترتیب ۳۵، ۲۹ و ۲۵ روز برآورد شد (۵).

از آنجا که در کنترل آفات انباری مرگومیرهای بالا مورد نظر است، مدت زمان ایجاد ۵۰ تا ۱۰۰ درصد مرگومیر شاخص مناسب-تری برای مقایسه است. اسانس‌های ذکر شده پس از گذشت بترتیب ۷، ۸، ۲، ۵ و ۱۱ روز از تیمار همچنان باعث ۱۰۰ درصد مرگومیر روی حشرات کامل شدند. علاوه بر این پس از گذشت ۱۰ روز از زمان تیمار، اسانس‌های پرتقال، نارنج و نارنگی رقم یافا توانستند بترتیب ۹۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد حشرات کامل این گونه را از بین ببرند.

مرگومیر ناشی از همین غلظت دو اسانس دیگر (نارنگی‌های رقم انشو و پیچ) پس از گذشت ۱۰ روز ۱۳/۳۳ و ۴۳/۳۳ درصد بود.

مقدار LT_{50} با تعریف آن بصورت مدت زمانی که طول می‌کشد تا مرگومیر ناشی از یک غلظت مشخص به ۵۰ درصد کاهش یابد برای اسانس‌های پرتقال، نارنج و نارنگی رقم یافا بترتیب ۱۲/۱، ۱۱/۵ و ۱۶/۹ روز برآورد شد (جدول ۳). این مقدار برای دو اسانس کم دوام تر نارنگی انشو و یافا بترتیب ۶/۷ و ۹/۳ روز بدست آمد. با مبنا قرار دادن محدوده اطمینان ۹۵ درصد LT_{50} ها، دوام اسانس نارنگی رقم یافا بطور معنی داری بیش از سایر اسانس‌ها بود. از طرف دیگر دوام اسانس دو رقم دیگر نارنگی بطور معنی داری کمتر از سایر اسانس‌ها برآورد شد. میر کاظمی و همکاران اثر دوام حشره‌کشی غلظت ۱۲۹۶ میکرولیتر بر لیتر هوا پنج اسانس گیاهی را روی حشرات کامل شیشه آرد *T. castaneum* بررسی نموده و نشان دادند اسانس اکلیل کوهی *R. officinalis* با LT_{50} معادل ۱۱/۷۳ روز بیشترین دوام و اسانس مرزه *S. hortensis* با LT_{50} برابر با ۳/۶ روز کمترین دوام را روی این آفت داشتند (۴).



شکل ۲- دوام اسانس مرکبات روی *T. confusum*

(حروف غیر مشابه اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد را نشان می‌دهد)

جدول ۳- نتایج تجزیه پروبیت غلظت ۲۵۰۰ میکرولیتر بر لیتر هوا اسانس پوست میوه مرکبات روی حشرات کامل *T. confusum*

اسانس	تعداد حشرات	شیب خط	LT ₅₀ (روز) (محدوده اطمینان)	χ^2	P-value
پرتقال	۵۱۰	-۱۱/۹۶	۱۲/۱ (۱۱/۷-۱۲/۵)	۱۱/۷	۰/۷
نارنج	۴۸۰	-۱۳/۰۲	۱۱/۵ (۱۱/۱-۱۱/۹)	۳/۹	۰/۹۹
نارنگی (انشو)	۳۹۰	-۶/۳۲	۶/۷ (۶/۳-۷/۵)	۳/۴	۰/۹۸
نارنگی (بیج)	۴۵۰	-۷/۹	۹/۳ (۸/۸-۹/۷)	۷/۱	۰/۸۹
نارنگی (یافا)	۶۹۰	-۱۱/۸۲	۱۶/۹ (۱۶/۴-۱۷/۴)	۵/۳	۱

منبعی غنی از اسانس می‌باشد (۱۳). سمیت تدخینی و دورکنندگی اسانس پوست میوه مرکبات روی شپشه آرد، نوید بخش عامل کنترلی بی خطر و مناسبی برای کنترل آفات انباری است. در آزمایش‌های برآورد دوام اسانس‌ها، گرچه از غلظت بالایی استفاده شد، اما سه تا از این اسانس‌ها توانستند تا ۱۰ روز پس از کاربرد همچنان ۸۰ تا ۱۰۰ درصد حشرات را کنترل کنند. پوست دو میوه پرتقال و نارنج وزن خشک بالاتری داشته و منبع مناسب تری برای تهیه و کاربرد اسانس در مقیاس‌های بزرگتر و تجارتهی هستند.

در تحقیق نگهبان و محرمی پور (۵)، LT₅₀ غلظت ۹۲۶ میکرولیتر بر لیتر هوا از اسانس *A. sieberi* روی سوسک چهار نقطه‌ای *C. maculatus*، شپشه برنج *S. oryzae* و شپشه آرد *T. castaneum* بترتیب ۲۶/۹۷، ۱۸/۵۹ و ۱۴/۴۴ روز برآورد شد.

نتیجه گیری

پوست میوه مرکبات معمولاً یک قسمت بدون استفاده بوده اما

منابع

- ۱- باقری ف، محمدی شریف م، هادی زاده ع. و امیری بشلی ب. ۱۳۹۰. اثرات زیستی اسانس اکالیپتوس *Eucalyptus globulus* روی شپشه آرد، *Tribolium confusum*. فصل‌نامه داروهای گیاهی ۳: ۱۷۸-۱۷۱.
- ۲- حمزه‌وی ف، محرمی پور س. و طالبی ع.ا. ۱۳۹۰. سمیت تنفسی اسانس اکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulensis*) و بطری شور (*Callistemon viminalis*) روی شپشه آرد (*Tribolium confusum*). مجله دانش گیاه پزشکی ۴۲(۲): ۲۴۹-۲۴۱.
- ۳- شاکرمی ج، کمالی ک، محرمی پور س. و مشکوه السادات. م. ۱۳۸۳. سمیت تنفسی و اثر دورکنندگی اسانس مریم گلی *Savila bracteata* روی چهار گونه آفت انباری. نامه انجمن حشره‌شناسی ایران ۲۴(۲): ۵۰-۳۵.
- ۴- میر کاظمی ف، بندانی ع. و صباحی ق. ۱۳۸۸. سمیت تنفسی اسانس‌های پنج گونه گیاه دارویی روی حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای *Callosobruchus maculatus* و شپشه آرد *Tribolium castaneum*. مجله علمی کشاورزی ۳۲: ۵۳-۳۷.
- ۵- نگهبان م. و محرمی پور س. ۱۳۸۵. اثر دورکنندگی و دوام اسانس *Artemisia siberi* Besser روی سه گونه حشره انباری. فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲۲(۴): ۳۰۲-۲۹۳.
- ۶- نیکویی م. و محرمی پور س. ۱۳۸۹. سمیت تنفسی و اثر دورکنندگی اسانس مریم گلی کارواندردی *Salvia mirzayanii* برای دو گونه *Callosobruchus maculatus* (Col: Bruchidae) و *Tribolium confusum* (Col: Tenebrionidae). نامه انجمن حشره‌شناسی ایران ۳۲(۲): ۳۰-۱۷.
- 7- Abdel-Aziz M.F. and El-Sayed Y.A. 2009. Toxicity and biochemical efficacy of six essential oils against *Tribolium confusum* (duval) (Coleoptera: Tenebrionidae). Egyptian Academic Journal of Biological Science, 2: 1 – 11.
- 8- Bell C.H. and Wilson S.M. 1995. Phosphine tolerance and resistance in *Trogoderma granarium* Everts (Coleoptera: Dermestidae). Journal of Stored Product Research, 31: 199-205.

- 9- Ebadollahi A. 2011. Iranian plant essential oils as sources of natural insecticide agents. *International Journal of Biological Chemistry*, 5(5): 266-290.
- 10- Feng W. and Zheng X. 2007. Essential oils to control *Alternaria alternata* in vitro and in vivo. *Food Control*, 18:1126-1130.
- 11- Finney D.J. 1971. *Probit Analysis*, 3rd Edition. Cambridge University Press, London, UK. 333 pp.
- 12- Guerra P.C., Molina I.Y., Yabar E. and Gianoli E. 2007. Oviposition deterrence of shoots and essential oils of *Minthostachys* spp. (Laminaceae) against the potato tuber moth. *Journal of Applied Entomology*, 131:134- 138.
- 13- Hosni K., Zahed N., Chrif R., Abid I., Medfei W., Kallel M., Ben Brahim N. and Sebei H. 2010. Composition of peel essential oils from four selected Tunisian citrus species: evidence for the genotypic influence. *Food Chemistry*, 123: 1098–1104.
- 14- Isikber A.A. 2010. Fumigant toxicity of garlic essential oil in combination with carbon dioxide (CO₂) against stored-product insects. P.371-376. 10th International Working Conference on Stored Product Protection, 27 June-2 July 2010, Portugal.
- 15- Jilani G. and Saxena R.C. 1990. Repellent and feeding deterrent effects of turmeric oil, sweetflag oil, neem oil, and a neem-based insecticide against lesser grain borer (Coleoptera, Bostrychidae). *Journal of Economic Entomology*, 83: 629-634.
- 16- Koul O., Walia S. and Dhaliwal G.S. 2008. Essential oils as green pesticides: potential and constraints. *Biopesticide International*, 4(1): 63-84.
- 17- Lee C., Sung L. and Lee H. 2006. Acaricidal activity of fennel seed oils and their main component against *Thyrophagus putrescentiae* a stored food mite. *Journal of Stored Products Research*, 42:8-14.
- 18- Liu Z.I. and Ho S.H. 1999. Bioactivity of the essential oil extracted from *Evodia rutaecarpa* Hook against the grain storage insects, *Sitophilus zeamais* Motsch. And *Tribolium castaneum* Herbst. *Journal of Stored Products Research*, 35: 317-328.
- 19- Mahmoudvand M., Abbasipour H., Basij M., Hosseinpour M.H., Rastegar F. and Nasir M.B. 2011. Fumigant toxicity of some essential oils on adults of some stored-product pests. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 71: 83-89.
- 20- Masotti V., Juteau F. and Viano J.M. 2003. Seasonal and phenological variations of the essential oils from the narrow endemic species *Artemisia molinieri* and its biological activities. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 51:7115-7121.
- 21- Mills K.A. 1983. Resistance to the fumigant hydrogen phosphide in some stored-product species associated with repeated inadequate treatments. *Mitteilungen der Deutschen Gesellschaft Allgemeine Angewandte Entomologie*, 4: 98–101.
- 22- Mishra B.B. and Tripathi S.P. 2011. Repellent activity of plant derived essential oils against *Sitophilus oryzae* (Linnaeus) and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Singapore Journal of Scientific Research*, 2:173-178.
- 23- Mollaei M., Izadi H., Dashti H., Azizi M. and Ranjbar Karimi R. 2011. Bioactivity of essential oil from *Satureja hortensis* (Laminaceae) against three stored-product insect species. *African Journal of Biotechnology* , 10: 6620-6627.
- 24- Moravvej Gh., Hassanzadeh Khayyat M. and Abbar S. 2010. Vapor activity of essential oils extracted from fruit peels of two Citrus species against adults of *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Bruchidae). *Türkiye Entomoloji Dernegi*, 34: 279-288.
- 25- Obeng-Ofori D. 1995. Plant oils as grain protectants against infestations of *Cryptolestes pusillus* and *Rhyzopertha dominica* in stored grain. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 77: 133-139.
- 26- Safavi S.A. and Mobki M. 2012. Fumigant toxicity of essential oils from *Citrus reticulata* Blanco fruit peels against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Crop Protection*, 1: 115-120.
- 27- Sokovic´ M., Glamočlija J., Marin P., Brkić D. and Van Griensven L.J.L. 2010. Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model. *Molecules*, 15: 7532-7546.
- 28- Tandorost R. and Karimpour Y. 2012. Evolution of fumigant toxicity of orange peel *citrus sinensis* essential oil against three stored product insect in laboratory condition. *Munis Entomology and Zoology*, 7: 352-358.

- 29- Tapondjoou L.A., Alder C., Bouda H. and Fontem D.A. 2002. Efficiency of powder essential oil from *Chenopodium ambersioides* leaves as post-harvest grain protectants against six stored product beetles. *Journal of Stored Products Research*, 38: 395-402.
- 30- Tripathi A.K., Prajaoati V., Khanuja S.P. and Kumar S. 2003. Effect of d-Limonene on three stored product beetles. *Journal of Economic Entomology*, 96: 990-995.
- 31- Vigliani A., Novo R., Cragolini C., Nassetta M. and Cavallo A. 2008. Antifeedant and repellent effects of extracts of three plants from Cordoba (Argentina) against *Sitophilus oryzae* (L) (Coleoptera: Curculionidae). *Bio Assay*, 3: 1-6.
- 32- Zewde D.K. and Jember B. 2010. Evaluation of orange peel *Citrus sinensis* as a source of repellent, toxicant and protectant against *Zabrotes subfasciatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Momona Ethiopian Journal of Science*, 1: 61-75.