

ترکیبات شیمیایی و اثرات حشره کشی اسانس برگ نارنج *Citrus aurantium* L. بر سه آفت مهم انباری

شکوفه بنده بروجنی^۱، نوشین زندی سوهانی^{۲*} و لیلا رمضانی^۳

۱- دانش آموخته‌ی کارشناسی ارشد حشره‌شناسی گروه گیاهپزشکی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

۲- نویسنده مسوول: استادیار گروه گیاهپزشکی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، (nzandisohani@yahoo.com)

۳- استادیار گروه گیاهپزشکی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان

تاریخ پذیرش: ۹۴/۶/۷

تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۱۴

چکیده

به منظور جایگزینی ترکیبات کم خطر برای سموم آفت کش، پژوهش‌های وسیعی روی اسانس‌های گیاهی انجام می‌شود. در این پژوهش سمیت تنفسی، تماسی و اثر دورکنندگی اسانس برگ نارنج *Citrus aurantium* L. روی سوسک کشیش *Rhyzopertha dominica* Fabricius، شپشه‌آرد *Tribolium castaneum* (Herbst) و شپشه‌دنداندار غلات *Oryzaephilus surinamensis* L. مورد بررسی قرار گرفت. آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی در دمای 27 ± 2 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد و شرایط تاریکی در ۵ تکرار انجام شد. به منظور شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس برگ نارنج، با استفاده از دستگاه کلونجر استخراج شده و بوسیله دستگاه GC-MS مورد آنالیز قرار گرفت. آزمایشات تنفسی در ظروف ۵۰ میلی‌لیتری درپوش دار و آزمایشات تماسی به روش پتری‌دیش و در ۵ غلظت انجام شد و مرگ و میر حشرات پس از ۲۴ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. اثر دورکنندگی با استفاده از آزمون انتخاب آزاد در پتری‌دیش و با ۵ غلظت مختلف و در زمانهای ۲ و ۴ ساعت مطالعه شد. آنالیز ترکیبات شیمیایی حاکی از مقادیر بالای مونوترپن در اسانس بوده و لینالول ($32/41\%$) بیشترین ترکیب اسانس بود. تجزیه‌ی پروبیت داده‌ها نشان داد که مقدار LC_{50} اسانس درسمیت تنفسی $262/93$ میکرولیتر بر لیتر هوا برای شپشه‌دنداندار بود ولی برای سوسک کشیش و شپشه‌آرد سمیت تنفسی مشاهده نشد. نتایج آزمایشات نشان داد که سمیت تماسی اسانس برگ نارنج روی سوسک کشیش ($LC_{50} = 0/13 \mu\text{L}/\text{cm}^2$) و شپشه‌دنداندار ($LC_{50} = 0/11 \mu\text{L}/\text{cm}^2$) بیشتر از شپشه‌آرد ($LC_{50} = 1/84 \mu\text{L}/\text{cm}^2$) بود. درصد دورکنندگی اسانس برگ نارنج برای سوسک کشیش، شپشه‌آرد و شپشه‌دنداندار پس از ۲ ساعت قرارگیری در معرض اسانس در بالاترین غلظت استفاده شده ($1/194 \times 10^{-1} \mu\text{L}/\text{cm}^2$) به ترتیب ۴۸، ۹۰ و ۸۴ درصد بود.

کلید واژه‌ها: آفات انباری، سمیت تماسی، سمیت تنفسی، دورکنندگی، اسانس برگ نارنج

مقدمه

خسارت قابل توجهی به محصولات وارد می‌شود. حمله‌ی آفات انباری و کم‌توجهی به اصول نگهداری فرآورده‌های کشاورزی گاهی زیان‌های کیفی بسیار مهمی را به دنبال می‌آورد که سبب تغییر ترکیب شیمیایی، رنگ و مزه‌ی محصول شده و در نتیجه نه تنها ارزش تجاری و مرغوبیت آن به شدت کاهش یافته بلکه گاهی مشکلات بهداشتی و اختلالات گوارشی شدیدی

انبار کردن محصولات کشاورزی به منظور استفاده در سایر فصل‌های سال و یا جهت انتقال به سایر مناطق امری ضروری است. آمار و ارقام سازمان‌های رسمی بین‌المللی و محلی نشان می‌دهد که هر سال مقدار قابل توجهی از تولیدات کشاورزی در کشورهای در حال توسعه به وسیله‌ی آفات در انبارها از بین می‌رود و

گونه‌های مرکبات به عنوان یک منبع گیاهی دارای خاصیت حشره‌کشی گزارش شده‌اند. اسانس پوست، برگ و بذر وارسته‌های این گیاهان حاوی متابولیت‌های ثانویه هستند که دارای اثر حشره‌کشی روی راسته‌های مختلف حشرات می‌باشند (روی و صراف^۱، ۲۰۰۶). هدف از این پژوهش بررسی اثر حشره‌کشی و دورکنندگی اسانس برگ گیاه نارنج *Citrus aurantium* بر حشرات کامل سوسک کشیش *Rhyzopertha dominica* Fabricius، شپشه‌آرد *Tribolium castaneum* (Herbst) و شپشه‌دنداندار *Oryzaephilus surinamensis* L. می‌باشد.

مواد و روش‌ها

پرورش آفات

جمعیت اولیه حشرات کامل از آزمایشگاه حشره‌شناسی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان تهیه گردید و پس از شناسایی سوسک کشیش روی گندم رقم چمران، شپشه‌ی آرد روی جوپرک و شپشه‌ی دنداندار روی خرما روی رقم دیری در ژرمیناتور در دمای 27 ± 2 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی $65 \pm 5\%$ و در تاریکی پرورش داده شدند.

جمع آوری گیاهان و استخراج اسانس

برگ‌های مسن درخت نارنج از محل پردیس دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین در استان خوزستان در اسفند ۱۳۹۲ جمع‌آوری شدند. پس از شست‌وشوی مختصر برگ‌ها با آب جهت رفع هرگونه گرد و غبار، اسانس آنها با روش تقطیر با آب به‌وسیله‌ی دستگاه کلونجر به مدت ۴ ساعت تهیه گردید. سپس اسانس در ظرف شیشه‌ای جمع‌آوری شد و به وسیله‌ی سولفات سدیم بی‌آب، آبگیری شد و برای جلوگیری از رسیدن نور تا زمان استفاده، دور ظرف با فویل آلومینیومی پوشانده شد و در یخچال در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری گردید.

در مصرف‌کنندگان، اعم از انسان، دام‌ها و طیور ایجاد کرده است (متیوس^۱، ۱۹۹۳).

برای حفظ کمیت و کیفیت غلات انبار شده، کاهش انبوهی جمعیت حشرات انباری ضروری است. با توجه به اهمیت اقتصادی آفات و مشکلات ناشی از به کارگیری حشره‌کش‌های شیمیایی تنفسی و ممنوعیت استفاده از آنها (جانسون و همکاران^۲، ۱۹۹۸) جایگزین کردن روش‌های مناسب دیگر ضروری به نظر رسیده (آرتور^۳، ۱۹۹۹؛ لیسج^۴، ۱۹۹۵) و تحقیق برای دسترسی به روش‌ها و ترکیب‌های کم خطر جهت کنترل آفات انباری اجتناب‌ناپذیر می‌باشد (تلوکدر و هوز^۵، ۱۹۹۳؛ تانک و همکاران^۶؛ ۲۰۰۰، حق و همکاران^۷، ۲۰۰۰).

استفاده از گیاهان، مواد گیاهی، عصاره خام گیاهان و اسانس‌ها برای حفاظت محصولات انباری در برابر حشرات آفت به اندازه حفاظت محصولات در مزرعه قدمت دارد. در واقع قبل از توسعه و موفقیت تجاری حشره‌کش‌های شیمیایی مصنوعی که از سال ۱۹۴۰ شروع شد، حشره‌کش‌های گیاهی مهم‌ترین سلاح در انبار کشاورزان علیه آفات بودند (ایسمان^۸، ۲۰۰۶). اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی از ترکیبات مناسب به عنوان جایگزین سموم شیمیایی سنتزی هستند که کمترین خطر را برای انسان و محیط زیست دارند. اسانس‌های استخراج شده از گیاهان معمولاً در طبیعت زودتر تجزیه می‌شوند، بنابراین سمیت کمتری برای انسان و سایر پستانداران داشته و اثرهای مخرب کمتری در محیط زیست برجای می‌گذارند (رخشانی، ۱۳۸۱؛ ایسمان، ۲۰۰۰؛ پارک و همکاران^۹، ۲۰۰۲).

- 1-Matthews
- 1- Johnson *et al.*
- 2- Arthur
- 3- Leesch
- 4- Talukder & Howse
- 5- Tunc *et al.*
- 6- Haque *et al.*
- 7- Isman
- 8- Park *et al.*

شناسایی ترکیبات شیمیایی

برای شناسایی ترکیبات فرار شیمیایی موجود در اسانس استخراج شده از برگ درخت نارنج، از دستگاه گاز کروماتوگرافی Shimadzu GC-17A, (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) متصل به طیف‌نگار جرمی (GC-MS QA 5050A) دارای ستون موئینه TRASCIL Meta X5 به طول ۳۰ متر، قطر داخلی و ضخامت ۲۵ میکرومتر موجود در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان استفاده شد.

آزمایشات زیست‌سنجی

سمیت تنفسی

آزمایش‌های بررسی سمیت تنفسی بر اساس روش زندگی سوهانی و همکاران (زندگی سوهانی و همکاران^۱، ۲۰۱۲) در ظروف پلاستیکی به حجم ۵۰ میلی‌لیتر و در ۵ تکرار انجام شد. تعداد ۵ غلظت از اسانس که بر اساس آزمایشات مقدماتی تلفاتی بین ۲۰ تا ۸۰ درصد ایجاد کردند، تعیین شد. در هر ظرف تعداد ۲۰ عدد حشره کامل نر و ماده که بین یک تا سه روز عمر داشتند، در معرض ۵ غلظت مختلف اسانس (بین ۱۰۰ تا ۴۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر هوا) قرار داده شدند. کاغذ های صافی به قطر در ظروف برش داده شد و از داخل به در ظروف چسبانده شد. غلظت مورد نظر توسط سمپلر روی کاغذ صافی تزریق شد. به منظور جلوگیری از تماس مستقیم حشرات با کاغذ صافی، در حد فاصل ظرف و کاغذ صافی از توری استفاده شد. پس از مدت زمان ۲۴ ساعت تعداد حشرات مرده (که قادر به حرکت دادن پا و شاخک نبودند) در ظروف تیمار و شاهد شمارش و ثبت گردید.

سمیت تماسی

آزمایش‌های بررسی سمیت تماسی با استفاده از روش باقری و همکاران (۱۳۹۰) انجام شد. در این آزمایش از پتری‌دیش‌هایی به قطر ۹ سانتی‌متر استفاده

شد. روی درپوش پتری سوراخ گردی به قطر یک سانتی‌متر ایجاد گردید و با توری پوشانده شد تا از ایجاد سمیت تدخینی جلوگیری گردد. پس از انجام آزمایشات مقدماتی، ۵ غلظت مختلف از اسانس با فواصل لگاریتمی برای هر گونه حشره به طور جداگانه تعیین گردید. کف پتری دیش ها به وسیله کاغذ صافی واتمن شماره یک پوشانده شد و غلظت های مختلف اسانس روی کاغذ صافی تزریق گردید. سپس تعداد ۲۰ حشره کامل نر و ماده یک تا سه روزه در پتری دیش ها رهاسازی گردید و در آنها بسته شد. آزمایشات تماسی در ۵ تکرار صورت گرفت. تعداد حشرات مرده پس از ۲۴ ساعت در ظروف تیمار و شاهد شمارش و ثبت گردید.

اثر دور کنندگی

آزمایشات دورکنندگی با استفاده از روش زندگی سوهانی و همکاران (۲۰۱۲) و در ۵ تکرار انجام شد. در این آزمایش از کاغذ واتمن شماره یک به قطر ۹ سانتی‌متر جهت تعیین خاصیت دورکنندگی اسانس‌های گیاهی اکالیپتوس و نارنج استفاده گردید. مقادیر مختلف اسانس در استون خالص حل شده و ۵ غلظت نهایی^۵ $1/194 \times 10^{-1}$ ، $1/194 \times 10^{-2}$ ، $1/194 \times 10^{-3}$ ، $1/194 \times 10^{-4}$ و $1/194 \times 10^{-5}$ قرار گرفت. در این روش کاغذ صافی به دو نیمه تقسیم شد که نیمی از آن به ۳۰۰ میکرولیتر از هر یک از غلظت‌ها و نیمی دیگر به عنوان شاهد به ۳۰۰ میکرولیتر حلال استون آغشته گردید. پس از گذشت ۵ دقیقه و اطمینان از تبخیر حلال دو قسمت جدا شده‌ی کاغذ صافی در کنار هم قرار گرفته و با چسب نواری به هم متصل شده و در داخل پتری‌هایی با قطر ۹ سانتی‌متر قرار گرفتند. سپس ۲۰ حشره کامل در مرکز کاغذ صافی رهاسازی شد. تعداد حشرات روی قسمت تیمار شده و شاهد پس از ۲ ساعت و ۴ ساعت قرارگیری در معرض غلظت‌های مختلف اسانس مورد شمارش قرار گرفتند.

اکسیژنه بود. شناسایی ترکیبات نشان داد که ترکیبات اصلی تشکیل دهنده اسانس برگ نارنج لینالول (۳۲/۴۱)٪، آلفاترپینئول (۱۶/۵۱)٪، نرول (۱۶/۴۹)٪، ژرانیل-استات (۸/۳۱)٪، میرسین (۵/۳۲)٪ و نریل استات (۵/۳۰)٪ بودند که در این بین لینالول، آلفاترپینئول، نرول و میرسین مونوترپن بودند. ترکیب لینالول که ترکیب اصلی در اسانس برگ نارنج در این پژوهش می باشد به عنوان مهم ترین ترکیب اسانس برگ این گیاه در مطالعه ماخول و همکاران^۷ (۲۰۱۲) و همچنین مصدق و همکاران (۱۳۸۳) شناسایی شد.

بررسی های سارو و همکاران^۸ (۲۰۱۳) نشان داد که عمده ترکیبات اسانس برگ نارنج در برگ های جوان و پیر، به ترتیب لینالول (۵۸/۲۱)٪ و (۳۶/۰۳)٪، آلفاترپینئول (۷/۱۱)٪ و (۱۲/۸۹)٪ و ژرانیل استات (۴/۴۹)٪ و (۸/۷۰)٪ بود. مقایسه ی نتایج سارو با نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد که ترکیبات عمده ی دو اسانس شبیه هم بوده و درصد ترکیبات اسانس در این تحقیق به درصد ترکیبات اسانس برگ های مسن نارنج در بررسی سارو و همکاران شباهت بیشتری دارد. بر اساس نتایج به دست آمده توسط مصدق و همکاران (۱۳۸۳) عمده ترکیبات موجود در اسانس برگ نارنج (متعلق به اواخر تابستان و در منطقه ی شمالی کشور) را لینالول (۳۸/۷۲)٪، لینالیل استات (۳۶/۵۲)٪، آلفاترپینئول (۸/۶۸)٪ و ژرانیل استات (۳/۸)٪ تشکیل داد. نوع ترکیبات شناسایی شده با ترکیبات اسانس تحقیق حاضر مشابهت دارد ولی مقادیر آن ها متفاوت است. این اختلاف ممکن است به علت تفاوت مناطق جغرافیایی و همچنین تفاوت فصول باشد.

درصد دورکنندگی با استفاده از رابطه ی $PR^1 = (N_C - N_T / N_C + N_T)$ به دست آمد که در این فرمول N_C تعداد حشرات روی نیمه کاغذ صافی شاهد و N_T تعداد حشرات روی نیمه کاغذ صافی تیمار و PR درصد دورکنندگی است.

کلیدی آزمایشات در ژرمیناتور با شرایط دمایی 27 ± 2 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد و در تاریکی انجام شد.

تجزیه تحلیل آماری

آزمایشات زیست سنجی در قالب طرح کاملا تصادفی و در ۵ تکرار همراه با شاهد انجام شد. در آزمایشات سمیت تنفسی و تماسی درصد مرگ و میر اصلاح شده طبق روش ابوت^۲ (۱۹۲۵) اصلاح شد. مقادیر LC_{50} و LC_{90} با کمک نرم افزار SAS 6.12 به دست آمد (سس، ۱۹۹۷). برای مقایسه ی اثر غلظت های مختلف، تجزیه واریانس^۳ با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شد و در صورت معنی دار بودن، داده ها با استفاده از آزمون توکی^۴ در سطح ۵٪ مقایسه میانگین شدند. داده های آزمایشات دورکنندگی با استفاده از تجزیه واریانس یک طرفه^۵ و برای مقایسات چندتایی و روش تی تست^۶ برای مقایسات دوتایی در نرم افزار SPSS تجزیه و تحلیل شده و میانگین ها با استفاده از آزمون توکی در سطح ۵ درصد مقایسه آماری شدند.

نتایج و بحث

از اسانس برگ نارنج ۲۰ ترکیب مختلف که جمعا ۹۹/۳۸٪ کل ترکیبات را تشکیل داده اند شناسایی شد (جدول ۱). این اسانس ترکیبی از ۱۲/۳٪ مونوترپن های هیدروکربنه، ۶۸/۲۸٪ مونوترپن های اکسیژنه، ۱/۱۷٪ سسکوئی ترین هیدروکربنه و ۰/۶۸٪ سسکوئی ترین

1-Percentage repellency

2-Abbott

3 -ANOVA

4 -Tukey

5 -One-way ANOVA

6 -T-test

7 -Makhoul *et al.*

8 - Sarrou *et al.*

بنده بروجنی و همکاران: ترکیبات شیمیایی و اثرات حشره کشی اسانس برگ...

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی اسانس برگ نارنج *C. aurantium*

ردیف	ترکیبات فرار	زمان بازداری (دقیقه)	شاخص بازداری آزمایش	شاخص بازداری استاندارد	درصد ترکیب
۱	آلفاپینن (Alpha pinene)	۱۳/۷۰۰	۹۴۶	۹۴۴	۰/۳۰
۲	بتاپینن (Beta pinene)	۱۵/۰۲۵	۹۸۶	۹۸۹	۰/۵۵
۳	میرسین (Myrcene)	۱۵/۳۵۰	۹۹۶	۹۹۲	۵/۳۲
۴	دلتا ۳ کارن (Delta 3 carene)	۱۶/۱۲۵	۱۰۱۵	۱۰۱۱	۰/۱۴
۵	لیمونن (Limonene)	۱۷/۰۰۸	۱۰۴۲	۱۰۳۹	۱/۰۵
۶	ترنس بتا اسیمن (Trans beta ocimene)	۱۷/۲۵۰	۱۰۴۷	۱۰۴۵	۰/۶۴
۷	سیس بتا اسیمن (Cis beta ocimene)	۱۷/۶۰۰	۱۰۵۵	۱۰۵۴	۳/۲۷
۸	ترپینولن (Terpinolene)	۱۹/۶۵۰	۱۰۹۹	۱۰۹۸	۱/۰۳
۹	لینالول (Linalool)	۲۰/۲۱۰	۱۱۱۱	۱۱۰۹	۳۲/۴۱
۱۰	ترپینول ۴ (Terpineol 4)	۲۴/۴۰۷	۱۲۰۱	۱۲۰۱	۰/۴۰
۱۱	آلفا ترپینول (Alpha terpineol)	۲۴/۴۵۸	۱۲۰۲	۱۲۰۰	۱۶/۵۱
۱۲	نرول (Nerol)	۲۶/۰۱۸	۱۲۳۵	۱۲۲۸	۱۶/۴۹
۱۳	لینالیل استات (Linalyl acetate)	۲۷/۷۰۸	۱۲۷۱	۱۲۷۰	۳/۰۵
۱۴	ژرانیول (Geraniol)	۲۸/۱۰۵	۱۲۷۸	۱۲۷۷	۲/۴۷
۱۵	نریل استات (Neryl acetate)	۳۲/۳۰۰	۱۳۶۶	۱۳۶۶	۵/۳۰
۱۶	ژرانیل استات (Geranyl acetate)	۳۳/۳۸۷	۱۳۹۰	۱۳۹۰	۸/۳۱
۱۷	ترنس کاروفیلن (Trans caryophyllene)	۳۶/۱۰۰	۱۴۴۹	۱۴۵۱	۰/۸۸
۱۸	بی سیکلو جرماکرن (Bicyclogermacrene)	۳۸/۷۲۵	۱۵۰۷	۱۴۹۹	۰/۲۹
۱۹	نرولیدول (Nerolidol)	۴۱/۴۰۸	۱۵۶۶	۱۵۶۶	۰/۵۱
۲۰	کاروفیلن اکسید (Caryophyllene oxide)	۴۳/۱۷۳	۱۶۰۵	۱۵۹۶	۰/۱۷
۸۰/۵۸	مونوترپن				
۱/۵۶	سسکوئی ترپن				
۱۶/۹۵	سایر ترکیبات				
۹۹/۳۸	مجموع				

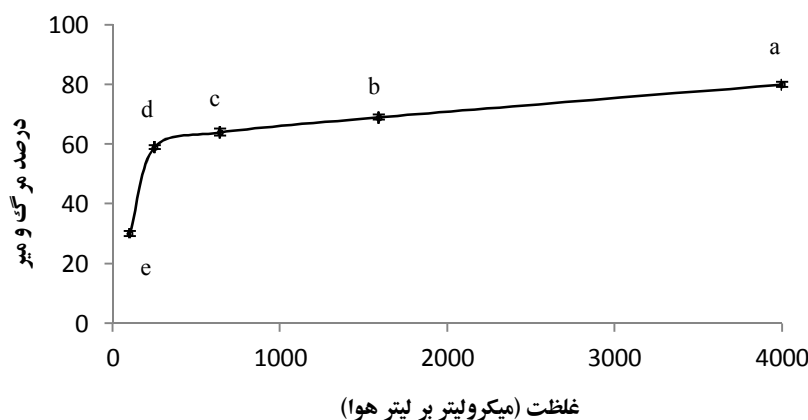
سمیت تنفسی اسانس برگ نارنج

پیش آزمایشات انجام شده روی شیشه آرد و سوسک کشیش نشان داد که تا غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر هوا مرگومیری در حشرات بالغ مشاهده نشد، لذا چنین نتیجه گیری شد که اسانس برگ نارنج برای حشرات مذکور سمیت تنفسی ندارد یا در صورت وجود نیاز به غلظت های

بالتر اسانس می باشد. مقدار LC_{50} محاسبه شده برای شیشه دندانه دار ۲۶۲/۹۳ میکرولیتر بر لیتر هوا بود (جدول ۲). میانگین درصد مرگ و میر حشرات کامل شیشه دندانه دار تحت تاثیر سمیت تنفسی اسانس نارنج در شکل ۱ نشان داده شده است (شکل ۱).

جدول ۲- سمیت تنفسی اسانس برگ *C. aurantium* روی حشرات کامل شیشه دندانه دار

آفت	تعداد	χ^2 (df)	p-value	شیب \pm خطای استاندارد	LC_{50} ($\mu\text{L/L air}$) (حدود اطمینان ۹۵٪)	LC_{90} ($\mu\text{L/L air}$) (حدود اطمینان ۹۵٪)
شیشه دندانه دار	۶۰۰	۷/۰۸(۳)	۰/۰۶۹۳	۷۴۸۶۰ \pm ۰/۱۰	۲۶۲/۹۳ (۱۵۹/۱۱-۳۸۱/۲۱)	۱۳۵۴۶ (۶۳۵۴-۴۹۱۱۰)



شکل ۱- میانگین درصد مرگ و میر حشرات کامل شیشه دندانه دار در غلظت های مختلف اسانس برگ نارنج در آزمایشات تنفسی

الجابر^۱ (۲۰۰۶) اثر تنفسی ۷ اسانس گیاهی مختلف را روی شیشه دندانه دار و شیشه آرد بررسی کرد و نتایج بررسی او نشان داد که شیشه دندانه دار حساسیت بیشتری به اسانس ها داشته و LC_{50} به دست آمده برای آن نسبت به شیشه آرد کمتر بود، که این نتایج با نتیجه ی تحقیق حاضر مشابهت دارد.

معنی داری باهم نداشت ولی مقدار LC_{50} اسانس برگ نارنج برای شیشه آرد بسیار بیشتر از دو حشره ی دیگر محاسبه شد و تفاوت معنی داری در این مقدار وجود داشت (جدول ۳).

میزان LC_{50} محاسبه شده اسانس برگ نارنج برای شیشه دندانه دار، سوسک کشیش و شیشه آرد به ترتیب ۰/۱۱،

سمیت تماسی اسانس برگ نارنج

میزان LC_{50} محاسبه شده اسانس برگ نارنج برای شیشه دندانه دار، سوسک کشیش و شیشه آرد به ترتیب ۰/۱۱،

جدول ۳- سمیت تماسی اسانس برگ *C. aurantium* روی حشرات کامل سوسک کشیش، شپشه آرد و شپشه دندانه دار

حشره	تعداد	χ^2 (df)	p-value	شیب \pm خطای استاندارد	LC ₅₀ ($\mu\text{L}/\text{cm}^2$) (حدود اطمینان ۹۵٪)	LC ₉₀ ($\mu\text{L}/\text{cm}^2$) (حدود اطمینان ۹۵٪)
سوسک کشیش	۶۰۰	۱۳/۷۶(۳)	۰/۰۰۳۲	۴/۱۸ \pm ۰/۹۵	۰/۱۳ (۰/۰۹-۰/۱۹)	۰/۲۶ (۰/۱۸-۲/۱۰)
شپشه آرد	۶۰۰	۸/۳۱(۳)	۰/۰۳۹۹	۱/۷۱ \pm ۰/۲۹	۱/۸۴ (۱/۰۸-۳/۲۱)	۹/۳۸ (۴/۴-۱۱۲/۰۱)
شپشه دندانه دار	۶۰۰	۱۵/۹۶(۳)	۰/۰۰۱۲	۳/۶۳ \pm ۰/۹۳	۰/۱۱ (۰/۰۴-۰/۱۵)	۰/۲۶ (۰/۱۸-۵/۲۴)

می‌دهد. با افزایش غلظت اسانس درصد مرگ‌ومیر حشرات افزایش یافته و در بالاترین غلظت حداکثر میزان مرگ‌ومیر حشرات بالغ مشاهده شد.

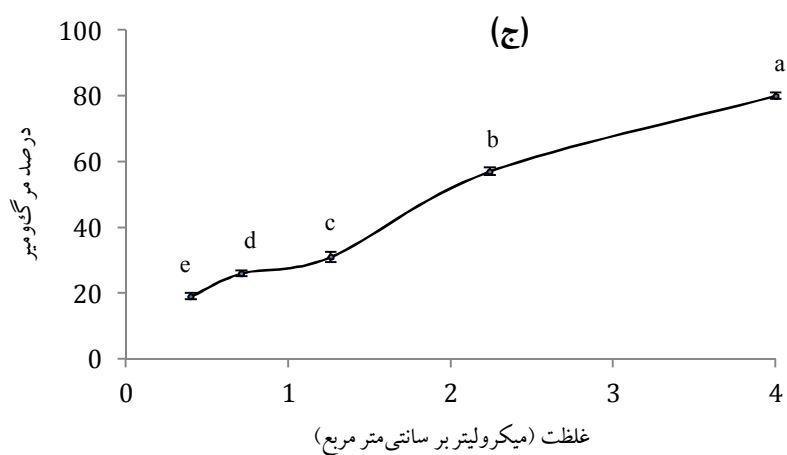
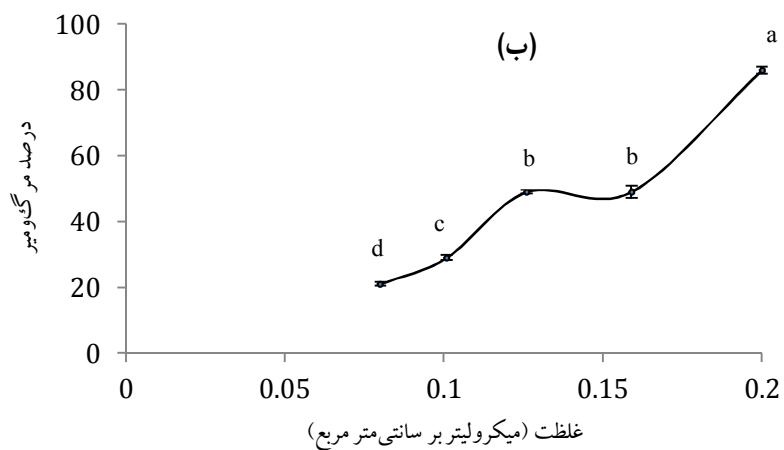
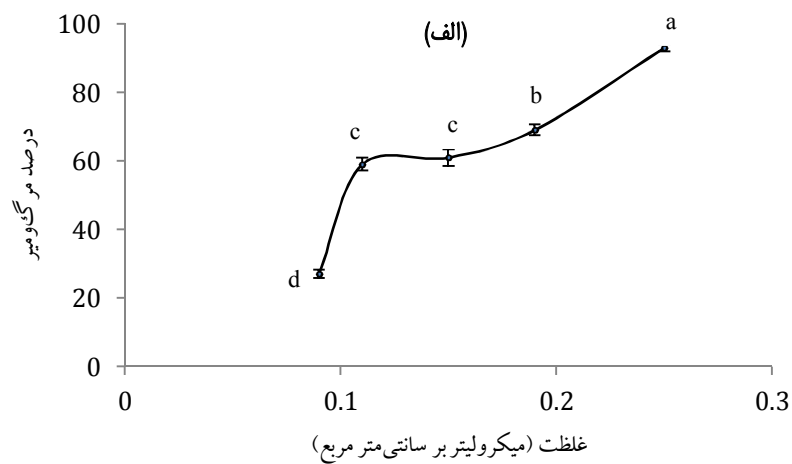
دورکنندگی اسانس برگ نارنج

نتایج آزمایشات دورکنندگی اسانس برگ نارنج روی حشرات مورد آزمایش پس از ۲ و ۴ ساعت در جدول ۴ نشان داده شده است. این نتایج نشان داد که با افزایش غلظت، دورکنندگی افزایش یافت و بیشترین میزان دورکنندگی مربوط به بالاترین غلظت بود.

غلظت‌های پایین این اسانس اثر دورکنندگی کمی داشتند به طوری که درصد دورکنندگی اسانس برگ نارنج پس از ۲ ساعت برای سوسک کشیش در غلظت‌های پایین‌تر از $10^{-3} \times 1/194$ منفی بود و دورکنندگی مشاهده نشد (جدول ۴). بیشترین دورکنندگی اسانس برگ نارنج روی شپشه آرد و پس از آن به ترتیب روی شپشه دندانه دار و سوسک کشیش مشاهده شد. نتایج آزمون تجزیه واریانس نشان داد که بین سه آفت مورد آزمایش از نظر دورکنندگی اسانس برگ نارنج برای هر دو زمان ۲ ساعت ($P < 0/05$)؛ $F = 14/202$ ؛ $df = 2$ و ۴ ساعت ($P < 0/05$)؛ $F = 4/304$ ؛ $df = 2$ و ۴ اختلاف معنی‌داری وجود داشت. اگرچه میانگین دورکنندگی ایجاد شده در دو زمان ۲ و ۴ ساعت اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($p = 0/29$)؛ $t = 0/06$.

مدکور و همکاران^۱ (۲۰۱۳) نشان دادند که با افزایش غلظت اسانس‌های مورد مطالعه، تلفات شپشه دندانه دار افزایش یافت که مشابه روند ایجاد شده در این تحقیق است. در غلظت ۵۰ پی پی ام اسانس *Rhazya stricta*، *Vernonia*، *Lantana camara* L.، Decne. و *Withania somnifera* Dunal، *cinerea* Less و *Argemone ochroleuca* Sweet. به ترتیب ۹۰، ۹۳/۳، ۸۵/۶، ۷۸/۹ و ۷۳/۳ درصد مرگ‌ومیر ایجاد کرد. در مقایسه‌ی بیشترین مرگ و میر ایجاد شده با *C. aurantium* (۹۳ درصد) در بالاترین غلظت (۰/۲۵ میکرولیتر بر سانتی‌مترمربع) برای شپشه دندانه دار با اسانس‌های به کار رفته در آزمایشات مدکور و همکاران در بالاترین غلظت می‌توان دریافت که سمیت این اسانس کمتر از اسانس‌های به کار رفته در آزمایشات آنها بود.

آزمون تجزیه واریانس نشان داد که بین میانگین مرگ‌ومیر تصحیح شده غلظت‌های مختلف اسانس برگ نارنج روی سوسک کشیش ($P < 0/05$)؛ $F = 37/32$ ؛ $df = 5$ و ۲۹، شپشه آرد ($P < 0/05$)؛ $F = 31/732$ ؛ $df = 5$ و ۲۹ و شپشه دندانه دار ($P < 0/05$)؛ $F = 18/424$ ؛ $df = 5$ و ۲۹ اختلاف معنی‌داری وجود داشت. شکل ۲ روند مرگ‌ومیر سه آفت مورد آزمایش را در غلظت‌های مختلف اسانس برگ نارنج نشان



شکل ۲- میانگین درصد مرگ و میر حشرات کامل شپشه دندان‌دار (الف)، سوسک کشیش (ب) و شپشه آرد (ج) در غلظت‌های مختلف اسانس برگ نارنج در آزمایشات تماسی

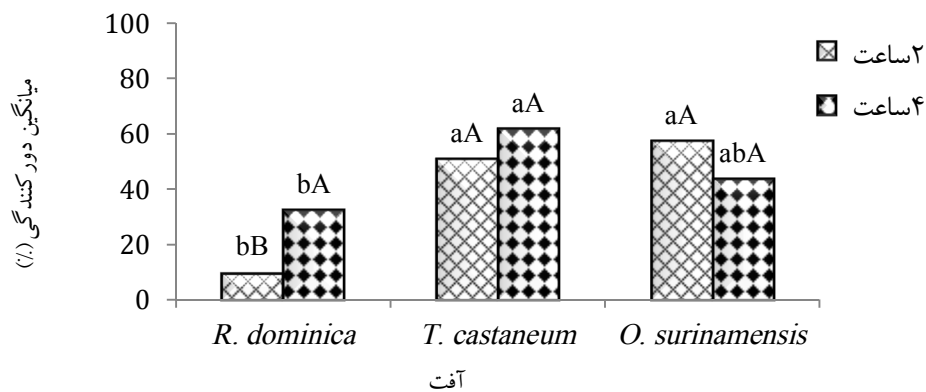
جدول ۴- دورکنندگی اسانس برگ *C. aurantium* روی حشرات کامل سوسک کشیش، شپشه آرد و شپشه دندانه دار

غلظت ($\mu\text{L}/\text{cm}^2$)					زمان	تعداد	آفت
$1/194 \times 10^{-1}$	$1/194 \times 10^{-2}$	$1/194 \times 10^{-3}$	$1/194 \times 10^{-4}$	$1/194 \times 10^{-5}$			
$48 \pm 6/63^a$	$26 \pm 5/09^a$	$-6 \pm 5/09^b$	$-8 \pm 6/63^b$	$-12 \pm 5/83^b$	۲ ساعت	۵۰۰	سوسک کشیش
$48 \pm 7/99^a$	$46 \pm 5/09^a$	$34 \pm 5/09^{ba}$	$20 \pm 4/47^b$	$14 \pm 2/44^b$	۴ ساعت		
$90 \pm 4/47^d$	$84 \pm 2/44^{cd}$	$54 \pm 5/09^{bc}$	$52 \pm 4/89^b$	$-26 \pm 13/63^a$	۲ ساعت	۵۰۰	شپشه آرد
$96 \pm 2/44^b$	$96 \pm 2/44^b$	$66 \pm 5/09^b$	$64 \pm 5/09^b$	$-14 \pm 16/91^a$	۴ ساعت		
$84 \pm 5/09^a$	$76 \pm 5/09^a$	$64 \pm 5/09^{ba}$	$38 \pm 5/8^{cb}$	$24 \pm 14/35^c$	۲ ساعت	۵۰۰	شپشه دندانه دار
$84 \pm 5/09^a$	$70 \pm 7/07^a$	$62 \pm 5/8^a$	$6 \pm 5/09^b$	$-4 \pm 8/12^b$	۴ ساعت		

حروف مشترک در هر سطر بر اساس آزمون توکی در سطح ۵٪ اختلاف معنی داری باهم ندارند.

شکل ۳ نشان می‌دهد پس از ۲ ساعت قرارگیری در معرض اسانس برگ نارنج اختلاف دورکنندگی ایجاد شده بین شپشه آرد و شپشه دندانه دار معنی دار نبود ولی دورکنندگی ایجاد شده برای سوسک کشیش به طور معناداری کمتر از دو آفت دیگر بود. پس از ۴ ساعت قرارگیری در معرض اسانس هم فقط بین سوسک کشیش و شپشه آرد تفاوت دورکنندگی، معنی دار بود. همین‌طور این شکل نشان می‌دهد که در هر دو زمان ۲ و ۴ ساعت بیشترین دورکنندگی مربوط به شپشه آرد بود.

در غلظت $1/194 \times 10^{-1}$ به ترتیب برای شپشه آرد، شپشه دندانه دار و سوسک کشیش میزان دورکنندگی ۹۰، ۸۴ و ۴۸ درصد پس از ۲ ساعت، و ۹۶، ۸۴ و ۴۸ درصد پس از ۴ ساعت محاسبه شد. بررسی کوکو و چاندرپایتا (۲۰۰۹) نشان داد که اثر دورکنندگی اسانس *L. cubeba* روی *S. zeamais* و *T. castaneum* با غلظت رابطه‌ی مستقیم دارد و *T. castaneum* در تمام غلظت‌ها واکنش بیشتری از خود نشان داد که مشابه نتایج حاصل از پژوهش حاضر می‌باشد.



شکل ۳- مقایسه دورکنندگی اسانس برگ نارنج برای سه آفت مدل بین دو زمان ۲ ساعت و ۴ ساعت (حروف کوچک: مقایسه معنی داری دورکنندگی بین حشرات مختلف در یک زمان، حروف بزرگ: مقایسه معنی داری دورکنندگی بین دو زمان روی یک آفت)

بنده بروجنی و همکاران: ترکیبات شیمیایی و اثرات حشره کشی اسانس برگ...

جهت محافظت محصولات انباری در برابر سوسک کشیش، شیشه‌آرد و شیشه‌دنداندار از طریق اثرات تماسی و دورکنندگی مورد توجه قرار گیرد.

سپاس‌گزاری

بدین وسیله از مدیریت امور پژوهشی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان به خاطر حمایت‌های مالی جهت انجام این طرح پژوهشی و همچنین از جناب آقای دکتر محمد حجتی عضو محترم هیات علمی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین به خاطر کمک در شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس برگ نارنج تشکر و قدردانی می‌گردد.

بر اساس نتایج این تحقیق اسانس برگ نارنج علی‌رغم داشتن ترکیباتی چون لینالول و مونوترپن‌های دیگر با خواص حشره‌کشی بالا و اثبات شده، علیه سوسک کشیش و شیشه‌آرد سمیت تنفسی نداشت و روی شیشه‌دنداندار سمیت کمی نشان داد. یک حجم از این اسانس می‌توانست ۵۰ درصد حشرات شیشه‌دنداندار را در حجم تقریباً ۳۸۰۳ برابری از هوا کنترل کند که این آمار نمی‌تواند از لحاظ اقتصادی مقرون به صرفه باشد. این موضوع ممکن است به علت عدم وجود مونوترپن (۸۰ سینئول، برهمکنش بین اجزای اسانس و یا تجزیه سریع ترکیبات موثر اسانس قبل از رسیدن به محل هدف باشد. اگرچه این اسانس می‌تواند

منابع

۱. باقری، ف.، محمدی‌شریف، م.، هادی‌زاده، ع. و امیری‌بشلی، ب. ۱۳۹۰. اثرات زیستی اسانس اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*) روی شیشه‌آرد. فصل‌نامه‌ی داروهای گیاهی، ۳: ۱۷۱-۱۷۸.
۲. رخشانی، ۱۳۸۱. اصول سم‌شناسی (آفت‌کش‌ها). انتشارات فرهنگ، ۳۷۶ ص.
۳. مصدق، م.، کمالی‌نژاد، م.، دهموبد شریف‌آبادی، آ. و اصفهانی، ب. ۱۳۸۳. بررسی و مقایسه روغن فرار حاصل از برگ سه گیاه نارنج، لیموترش و نارنگی. فصلنامه‌ی گیاهان دارویی، ۱۱: ۲۵-۳۰.
4. Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 35: 159-166.
5. Al-Jabr, A. 2006. Toxicity and repellency of seven plant essential oils to *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Scientific Journal of King Faisal University (Basic and Applied Sciences)*, 7(1):1427-1432.
6. Arthur, F.H. 1999. Evaluation of an encapsulated formulation of cyfluthrin to control *Sitophilus oryzae* L. on stored wheat. *Journal of Stored Product Research*, 35: 159- 166.
7. Haque, M.A., Nakakita, H., Ikenaga, H., and Sota, N. 2000. Development inhibiting activity of some tropical plants against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Col.: Curculionidae). *Journal of Stored Products Research*, 36: 281-287.
8. IBM Corp. Released. 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0. Armonk, NY: IBM Corp.
9. Isman, M.B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19: 603-608.

10. Isman, M. B. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulate world. *Annual Review of Entomology*, 51: 45-66.
11. Johnson, J.A., Vail, P.V., Soderstrom, E.L., Curtis, C.E., Brandl, D.G., Tebbets, J.S., and Valero, K.A. 1998. Integration of nonchemical postharvest treatments for control of navel orangeworm (Lep.: Pyralidae) and Indian meal moth (Lep.: Pyralidae) in walnuts. *Journal of Economic Entomology*, 91: 1437-1444.
12. Ko Ko, J.W., and Chandrapatya, A. 2009. Repellency, fumigant and contact toxicities of *Litsea cubeba* (Lour.) Persoon against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Kasetsart Journal: Natural Science*, 43: 56-63.
13. Leesch, J.G. 1995. Fumigant action of acrolein on stored product insects. *Journal of Economic Entomology*, 88(2): 326-330.
14. Madkour, M.H., Zaitoun, A.A., and Singer, F.A. 2013. Repellent and toxicity of crude plant extracts on saw-toothed grain beetle (*Oryzaephilus surinamensis* L.). *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 11(2): 381-384.
15. Makhoul, S., Bakkour, Y.El., Nakat, H., and El-Oman, F. 2012. The Lebanese *Citrus aurantium*: a promising future in medicinal phytochemistry. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 1(4): 63-66.
16. Matthews, G.A. 1993. Insecticide application in stores. *Application Technology for Crop Protection*. 1: 49-53.
17. Park, B.S., Lee, S.E., Choi, W.S., Jeong, C.Y., Song, Ch., and 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.
18. Roy, A., and Saraf, S. 2006. Limonoids: Overview of significant bioactive triterpenes distributed in plants kingdom. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29:191-201.
19. Sarrou, E., Chatzopoulou, P., Dimassi-Theriou, K., and Therios, I. 2013. Volatile constituents and antioxidant activity of peel, flowers and leaf oils of *Citrus aurantium* L. growing in Greece. *Molecules*, 18: 10639-10647.
20. SAS Institute. 1997. SAS/STAT software: changes and enhancements through release 6.12. SAS Institute Inc, Cary.
21. Talukder, F.A., and Howse, P.E. 1993. Deterrent and insecticidal effects of extracts of pithraj, *Aphanamixis polystachya* (Meliaceae), against *Tribolium castaneum* in storage. *Journal of Chemical Ecology*, 19: 2463-2471.
22. Tunc, I., Berger, B.M., Erler, F., and Dagli, F. 2000. Ovicidal activity of essential oils from five plants against two stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, 36:161-168.
23. Zandi-Sohani, N., Hojjati, M., and Carbonell-Barrachina, A.A. 2012. Insecticidal and repellent activities of the essential oil of *Callistemon citrinus* (Myrtaceae) against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Neotropical Entomology*, 42(1): 89-94.

Chemical composition and insecticidal effects of essential oil from *Citrus aurantium* L. leaves on three major stored product pests

Sh. Bande-Borujeni^{1*}, N. Zandi-Sohani², and L. Ramezani³

1. Former M.Sc. student of Entomology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran.
2. ***Corresponding Author:** Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran (nzandisohani@yahoo.com).
3. Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Iran.

Received: 4 May, 2015

Accepted: 29 August, 2015

Abstract

In order to replace pesticides with less hazardous compounds, plant essential oils are widely investigated. In this study, the effects of essential oil of *Citrus aurantium* L. leaves was tested for fumigant, contact and repellent effects against adults of *Rhyzopertha dominica*, *Tribolium castaneum* and *Oryzaephilus surinamensis*. The experiments were conducted in a completely randomized design with 5 replications in $27 \pm 2^\circ\text{C}$, $65 \pm 5\%$ R.H. and dark conditions. The essential oil was extracted using Clevenger-type apparatus and analyzed by GC-MS. Fumigant toxicity was studied in 50 mL containers and contact toxicity experiments were performed using petri-dish method and five different concentrations and the mortality was investigated after 24 h. Repellency of the oils was studied using the choice bioassay system in petri-dish with five concentrations, at 2 and 4 h exposure times. Analysis of chemical compositions showed high amounts of monoterpenes in essential oil, mainly linalool (32.41 %). Probit analysis showed that the LC_{50} of *C. aurantium* essential oil against *O. surinamensis* was $262.93 \mu\text{L/L}$ air but there was no fumigant toxicity against *R. dominica* and *O. surinamensis*. Results of contact toxicity showed that *C. aurantium* had more toxicity for *R. dominica* ($\text{LC}_{50}=0.13 \mu\text{l/cm}^2$) and *O. surinamensis* ($\text{LC}_{50}=0.11 \mu\text{l/cm}^2$) than *T. castaneum* ($\text{LC}_{50}=1.84 \mu\text{L/cm}^2$). The percentage of repellency (PR) increased with increasing exposure time and concentration of the essential oils. After 2h exposure time, the PR of *C. aurantium* oil was 48, 90 and 84 % at the highest concentration of essential oil ($1.194 \times 10^{-1} \mu\text{L/cm}^2$) for *R. dominica*, *T. castaneum* and *O. surinamensis*, respectively.

Keywords: *Stored product pests, Fumigant toxicity, Contact toxicity, Repellency, Leaf essential oil of Citrus aurantium*