

اثرات کشنده و زیر کشنده دمای پایین، به صورت مجزا و در ترکیب با اسانس اکالیپتوس، علیه حشرات کامل شب‌پره مدیترانه‌ای آرد، *Ephestia kuehniella*

علیرضا رجائی^۱، محسن یزدانیان^{۲*} و غلامعلی آساده^۳

- ۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد حشره‌شناسی کشاورزی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
- ۲- ***نویسنده مسوول:** استادیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
(mohsenyazdanian@gau.ac.ir)
- ۳- مربی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۲/۱۱

تاریخ دریافت: ۹۹/۱۱/۰۴

چکیده

دماهای پایین به دلیل اثرگذاری روی ویژگی‌های تولید مثلی آفات انباری، یکی از راه‌های کنترل و کاهش خسارت آن‌ها می‌باشند. با توجه به کند اثر بودن این دماها، در این مطالعه اثر دمای پایین ۴ درجه سلسیوس به تنهایی و در ترکیب با اسانس اکالیپتوس روی ویژگی‌های تولید مثلی شب‌پره مدیترانه‌ای آرد، *Ephestia kuehniella* Zeller (Lep.: Pyralidae) مورد بررسی قرار گرفت و نوع برهمکنش بین این دو عامل نیز تعیین گردید. آنالیز شیمیایی اسانس با دستگاه گاز کروماتوگرافی گازی (GC) گاز کروماتوگراف Varian CP-3800 مجهز به طیف‌سنج جرمی Varian Saturn 2200 ion trap انجام شد. مقادیر LT_{50} و LT_{95} دمای پایین برای حشرات کامل نر به ترتیب ۱۴/۸۷ و ۴۵/۱۷ روز و برای حشرات کامل ماده به ترتیب ۱۰/۷۷ و ۳۹/۳۸ روز برآورد شدند. قرار دادن حشرات کامل در دمای پایین باعث کاهش طول عمر، میزان باروری و همچنین درصد تفریح تخم‌های حشرات کامل زنده مانده شد. باروری، هم با افزایش مدت زمان سرمادهی و هم افزایش غلظت اسانس به طور معنی‌داری کاهش یافت، اما درصد تفریح تخم‌های حاصل از حشرات تحت تأثیر تیمارها قرار نگرفت. برهمکنش دمای پایین - اسانس گیاهی از نوع آنتاگونیستی بود. طبق نتایج، ترکیب ۸،۱- سینئول (اکالیپتول) بیشترین مقدار (۳۰/۴۸ درصد) در اسانس اکالیپتوس بود. استفاده طولانی مدت از دمای ۴ درجه سلسیوس به دلیل کاهش فعالیت و تحرک شب‌پره‌های انباری و اثرگذاری منفی روی ویژگی‌های تولید مثلی، می‌تواند در کنترل جمعیت آن‌ها موثر واقع شود. برهمکنش آنتاگونیستی دمای پایین - اسانس گیاهی نشان می‌دهد که در انتخاب دو عامل حشره‌کش جهت استفاده به صورت ترکیبی، تأیید برهمکنش سینرژیستی آن‌ها از طریق انجام آزمایش‌های مناسب، ضروری می‌باشد.

کلیدواژه‌ها: *Ephestia kuehniella* دمای پایین، اسانس گیاهی، برهمکنش، ویژگی‌های تولید مثلی

مقدمه

دما یکی از عوامل مهم غیرزنده موثر بر زنده‌مانی و تولید مثل حشرات است. مدیریت آفات انباری از طریق کنترل دما به عنوان یک روش غیرشیمیایی و بدون باقیمانده محسوب می‌شود (Hallman and Denlinger, 1998). استفاده از دماهای پایین برای کنترل آفات انباری (Mason and Fields, 1992; Strait, 1998)، و به ویژه در سه دهه اخیر برای کنترل آفات انباری راسته‌های سخت‌بالپوشان، بالولکداران و شپش‌های کتاب (Psocoptera) (Athanassiou et al., 2018 a,b) مورد توجه بوده است. پایین آوردن دمای محیط و رساندن آن به دماهای پایین‌تر از دماهای بهینه برای نشوونمای حشرات یکی از راه‌های کنترل آفات انباری و کاهش خسارت آن‌ها می‌باشد (Longstaff, 1981; Flinn and Hagstrum, 1990). برای کنترل آفات خشکبار و سایر فراورده‌های انباری می‌توان از ذخیره‌سازی در دماهای بین صفر تا ۵ درجه سلسیوس استفاده کرد (Gross et al., 2016). البته، برای کنترل سخت‌بالپوشان انباری ممکن است به کاربرد دماهای زیر صفر نیاز باشد (Athanassiou and Arthur, 2020). در این روش کنترل فیزیکی، دماهای بالای ۱ و دماهای پایین‌تر از صفر درجه سلسیوس به‌طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرند. استفاده از روش کنترل دما علیه آفات انباری نسبت به کنترل شیمیایی مزایای متعددی دارد. این روش علاوه بر سریع بودن، باقیمانده‌ای ندارد، فاقد اثر منفی خاصی روی فراورده‌های انباری بوده (Adler, 2010) و برای کاربران ضرری ندارد (Fields, 1992, 2001; Fields and White, 2002; Adler, 2010). هرچند، هزینه ایجاد سردخانه و هزینه به نسبت بالای انرژی مصرفی، از عوامل محدودکننده این روش می‌باشد (Adler, 2010).

کنترل دما روشی است که علیه آفات مقاوم به حشره‌کش‌ها موثر می‌باشد. از عوامل موثر در کارایی روش سرمادهی می‌توان به میزان دما، مدت زمان در معرض‌گذاری، گونه حشره، مرحله نشوونمایی، سازگاری (نرخ تغییرات دما)، رطوبت نسبی، سن، تجمع مواد ضدانجماد و جنسیت حشره اشاره کرد. این عوامل زنده‌مانی حشرات را در دماهای پایین تعیین می‌کنند (Andreadis et al., 2005, 2008, 2011; Eliopoulos et al., 2011).

اثرات منفی دماهای پایین روی ویژگی‌های زیستی و تولید مثلی حشرات و به ویژه آفات انباری شامل اثر روی تلفات حشرات کامل (Jiao et al., 2013; Andreadis and Athanassiou, 2017)، کاهش تفریح تخم‌ها (Ayvaz and Karaborklu, 2008; Aldawood et al., 2013)، اثرات تخم‌کشی (Andreadis and Athanassiou, 2017)، اثرات لاروکشی (Aldawood et al., 2013; Andreadis and Athanassiou, 2017)، اثرات شفیره‌کشی (Aldawood et al., 2013)، کاهش نشوونما (Aldawood et al., 2013) و کاهش باروری (Ayvaz and Karaborklu, 2008; Aldawood et al., 2013) گزارش شده است.

استفاده از اسانس‌های گیاهی نیز در زمینه حفاظت از دانه‌ها و غلات ذخیره‌شده در انبارها در بسیاری از کشورهای قاره‌های آسیا و آفریقا رایج است. این یک روش کم‌هزینه بوده و برای انبارهای کوچک موثر می‌باشد (Shaaya et al., 1997; Pandey et al., 2018). تعداد زیادی اسانس گیاهی در زمینه کنترل آفات انباری و بررسی خاصیت حشره‌کشی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفته‌اند (مثلاً Bett et al., 2016, 2017; Malacrinò et al., 2016; Kovanci, 2016; Khani et al., 2017). نحوه اثر اسانس‌ها به صورت اثراتی بر نوروهای حشرات قابل مشاهده است (Karaborklu et al., 2011). اسانس‌ها بر آنزیم‌های

برای اولین بار در ترکیب با هم روی شب‌پره مدیترانه‌ای *Ephestia kuehniella* Zeller (Lep.; Pyralidae) آرد، بررسی شد.

مواد و روش‌ها

پرورش حشره

تخم‌های شب‌پره مدیترانه‌ای آرد از کلنی موجود در آزمایشگاه تحقیقات حشره‌شناسی، گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان تهیه شدند. لاروها روی آرد گندم در دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 5 ± 70 درصد و دوره نوری ۱۶:۸ ساعت (روشنایی: تاریکی) در داخل ظروفی پلاستیکی به رنگ سفید شفاف به ابعاد $9 \times 15 \times 23$ سانتی‌متر پرورش داده شدند. حشرات پس از پنج نسل پرورش بر روی آرد گندم، برای انجام آزمایش‌ها استفاده شدند.

برآورد زمان‌های کشنده دمای پایین روی حشرات کامل شب‌پره مدیترانه‌ای آرد

حشرات کامل یک‌روزه (۴ تکرار؛ در هر تکرار ۲۵ عدد حشره کامل نر و ۲۵ عدد حشره کامل ماده) در داخل پلیت‌های شیشه‌ای (به قطر ۱۵ و ارتفاع ۱/۸ سانتی‌متر) که دهانه آن‌ها با توری ۱۰ مش پوشانده شده بود، درون یخچال در معرض دمای پایین (1 ± 4 درجه سلسیوس؛ رطوبت نسبی 5 ± 45 درصد؛ تاریکی مداوم) قرار داده شدند. شمارش تلفات حشرات کامل (به تفکیک نر و ماده) در فواصل ۲۴ ساعته تا زمان مرگ تمامی آن‌ها ادامه داشت. حشرات کامل پس از خارج شدن از یخچال در شرایط اتاق معمولی (دمای ۱۸ تا ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵۵ تا ۷۰ درصد) قرار می‌گرفتند. حشرات فعال شده یا دارای تحرک پیوست‌های بدن زنده تلقی شده و در داخل ظروف مشابه دیگری دوباره به داخل یخچال تنظیم شده در دمای ۴ درجه سلسیوس منتقل می‌شدند. حشراتی که پس از گرم شدن بدنشان هیچ گونه تحرکی از خود نشان نمی‌دادند،

استیل‌کولین استراز (Houghton et al., 2006) و کولین استراز و گیرنده‌های اکتوپامینرژیک در حشرات اثر می‌گذارند (Enan, 2001; Kostyukovsky et al., 2002).

اسانس‌های گیاهی روی حشرات آفت اثرات قابل توجهی دارند. تاکنون در تحقیقات مختلف، پتانسیل انواع اسانس‌های گیاهی روی تلفات حشرات کامل (Ebnoelm et al., 2015; Ziaee et al., 2015; Bett et al., 2016, 2017; Khani et al., 2017 Kovanci, 2016; Kheirkhah et al., 2017)، کاهش باروری (Kheirkhah et al., 2017; Kovanci, 2016; Pavela, 2012; Kheirkhah et al., 2015; Bett et al., 2015؛)، دارا بودن اثرات دورکنندگی (Bett et al., 2016; Malacrinò et al., 2016; Khani et al., 2017) و اثرات لاروکشی (Dhen et al., 2014; Khani et al., 2017) نشان داده شده‌اند.

محدودیت استفاده از اسانس‌های گیاهی باعث شده تا استفاده از آن‌ها در ترکیب با سایر عوامل حشره‌کش به ویژه خاک‌های دیاتومه در برنامه‌های کنترل آفات مورد توجه قرار گیرد. مطالعات انجام شده در زمینه اثرات سینرژیستی احتمالی کاربرد اسانس‌های گیاهی در ترکیب با سایر عوامل حشره‌کش، در مقایسه با بررسی کارایی انفرادی این اسانس‌ها و عوامل بسیار اندک می‌باشند و عمدتاً به بررسی اثر استفاده ترکیبی از اسانس‌های گیاهی با خاک‌های دیاتومه (Yang et al., 2010; Ziaee and Moharrampour, 2012; Reihani, 2014; Ziaee et al., 2014; Reihani et al., 2016) مربوط می‌باشند.

بررسی منابع نشان داد که تاکنون در زمینه اثرات اسانس‌های گیاهی در ترکیب با دماهای پایین هیچ‌گونه تحقیقی انجام نشده است. با توجه به محدودیت‌های هر یک از این دو روش کنترل‌ی جایگزین سموم شیمیایی و نیز اثرات کشندگی و زیرکشندگی اثبات شده آن‌ها، در این تحقیق اثرات دمای پایین با اسانس گیاه اکالیپتوس

آزمایش زیست‌سنجی اصلی (۶ تکرار، ۵۰ عدد حشره کامل یک‌روزه در هر تکرار) بر اساس غلظت‌های اصلی انجام شد. مقادیر LC₁₀، LC₂₀ و LC₅₀ مورد استفاده در آزمایش‌های بررسی اثر ترکیبی اسانس با دمای پایین به ترتیب ۰/۴۱، ۰/۵۳ و ۱/۰۵ میکرولیتر بر لیتر هوا برآورد شدند.

بررسی اثر ترکیبی دمای پایین با اسانس اکالیپتوس روی حشرات کامل شب‌پره مدیترانه‌ای آرد

با توجه به آزمایش‌های زیست‌سنجی توضیح داده شده در بالا، برای اسانس اکالیپتوس چهار غلظت صفر، LC₁₀، LC₂₀ و LC₅₀ (میکرولیتر بر لیتر هوا) مورد استفاده قرار گرفتند. اثر حشره‌کشی ترکیب دمای ۴ درجه سلسیوس با هر یک از این چهار غلظت مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش‌ها در چهار تکرار انجام شدند. در هر تکرار از ۶۰ عدد حشره کامل یک‌روزه (۳۰ نر و ۳۰ ماده) استفاده شد. حشرات کامل به مدت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در معرض تیمارهای مختلف قرار گرفتند. تلفات حشرات کامل پس از هر مدت زمان شمارش شد. حشراتی که پس از تحریک شدن قادر به تکان دادن پیوست‌های بدن خود نبودند، مرده تلقی شدند. حشرات کامل زنده‌مانده به ظروف تخم‌گیری منتقل و تخم‌گذاری روزانه آن‌ها و درصد تفریح تخم‌ها ثبت شد.

آنالیز با دستگاه GC-MS

آنالیز اسانس اکالیپتوس با استفاده از دستگاه گاز کروماتوگرافی گازی (GC-MS) مدل Varian CP-3800 مجهز به طیف‌سنج جرمی Varian Saturn 2200 ion trap با استفاده از گاز هلیوم به عنوان ناقل (نرخ جریان 1:100 ml/min، فشار 10 psi و حجم تزریق 0.1 µl) انجام شد. ستون گاز کروماتوگرافی مورد استفاده یک VF-5ms capillary column به طول ۳۰ متر در ۰/۳۲ میلی‌متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میکرومتر بود. دمای انژکتور و دتکتور به ترتیب ۲۲۰ و ۳۰۰ درجه سلسیوس بود. دمای آون از ۵۰ تا ۲۲۰ درجه سلسیوس

در داخل ظروف باقی می‌ماندند. اگر حرکت پیوست‌ها بر اثر تحریک بدن توسط یک قلم موی ظریف مشاهده می‌شد، آن‌ها نیز دوباره به ظروف آزمایش در داخل یخچال منتقل می‌شدند. پس از گذشت ۱۰ دقیقه، اگر حرکت پیوست‌های بدن بر اثر تحریک دیده نمی‌شد، حشرات کامل به عنوان مرده در نظر گرفته می‌شدند.

اثر دمای پایین روی طول عمر و باروری حشرات کامل شب‌پره مدیترانه‌ای آرد

حشرات کامل حداکثر یک‌روزه (۱۰۰۰ عدد) با استناد به نتایج آزمایش قبل (درمعرض گذاری پیوسته) به مدت ۳، ۴ و ۲ هفته در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند. از بین حشرات زنده‌مانده (۴ تکرار؛ در هر تکرار ۱۰ نر و ۱۰ ماده)، طول عمر، باروری و درصد تفریح تخم‌های آن‌ها بررسی شد. برای این منظور، حشرات کامل پس از سرمادهی به مدت زمان‌های فوق (۲، ۳ و ۴ هفته)، درون ظروف تخم‌گیری پلاستیکی، استوانه‌ای به رنگ شفاف (قطر ۶/۷ و ارتفاع ۷/۹ سانتی‌متر) رهاسازی و تخم‌های گذاشته شده به صورت روزانه شمارش و درصد تفریح آن‌ها ثبت شد.

زیست‌سنجی تعیین غلظت زیرکشنده سمیت تنفسی اسانس اکالیپتوس روی حشرات کامل شب‌پره مدیترانه‌ای آرد

اسانس اکالیپتوس گونه *Eucalyptus globulus* Labill. از شرکت باریج اسانس، کاشان خریداری شد. جهت تعیین غلظت‌های مورد استفاده در پژوهش، ابتدا با انجام آزمایش‌های مقدماتی، دو غلظتی (بر حسب میکرولیتر بر لیتر هوا) که پس از ۷۲ ساعت تلفات ۱۰ تا ۹۰ درصدی را در حشرات کامل ایجاد نمودند بر اساس روش Robertson et al. (2007) تعیین شدند. آزمایش‌های زیست‌سنجی در ظروف استوانه‌ای پلاستیکی شفاف (قطر ۶/۷ و ارتفاع ۷/۹ سانتی‌متر) در چهار تکرار و ۳۰ عدد حشره کامل یک‌روزه در هر تکرار، انجام شد. پس از تعیین این دو غلظت، چهار غلظت میانی با استفاده از فرمول فاصله لگاریتمی تعیین و

(CF) آرایه شده توسط Mansour et al. (1966) استفاده گردید:

$$CF = \frac{\text{مرگ و میر مورد انتظار} - \text{مرگ و میر مشاهده شده}}{\text{مرگ و میر مورد انتظار}} \times 100 \quad (1)$$

مقدار ۲۰ یا بیشتر از آن به معنی اثر سینرژیستی، ۲۰- یا کمتر از آن به معنی اثر آنتاگونیستی، و بین ۲۰- و ۲۰ به معنی اثر تجمیعی می‌باشد.

نتایج

برآورد زمان‌های کشنده دمای پایین روی حشرات کامل شب‌پره مدیترانه‌ای آرد

قرار داشتن پیوسته حشرات کامل در دمای ۴ درجه سلسیوس باعث افزایش زنده‌مانی و در نتیجه طول عمر آن‌ها از حداکثر ۱۰ روز در حالت عادی (دمای ۲۵ درجه سلسیوس) به حدود ۵۰ روز شد. طبق نتایج، تلفات ۲۵، ۵۰ و ۹۰ درصدی پس از گذشت حدود ۷، ۱۴ و ۳۳ روز مشاهده شد. زنده ماندن تعدادی از حشرات کامل تا روز پنجاهم ادامه داشت و در این روز، تلفات ۱۰۰ درصدی مشاهده گردید (شکل ۱). طبق نتایج تجزیه پروبیت، مقادیر LT_{95} و LT_{50} برای حشرات کامل نر به ترتیب ۱۴/۸۷ و ۴۵/۱۷ روز، برای حشرات کامل ماده به ترتیب ۱۰/۷۷ و ۳۹/۳۸ روز، و به طور کلی به ترتیب برابر با ۱۲/۶۷ و ۴۲/۲۸ روز برآورد شدند که نشان می‌دهد حشرات کامل نر در مقایسه با ماده‌ها در برابر دمای ۴ درجه سلسیوس تحمل بیشتری داشته‌اند (جدول ۱).

اثر دمای پایین روی طول عمر حشرات کامل

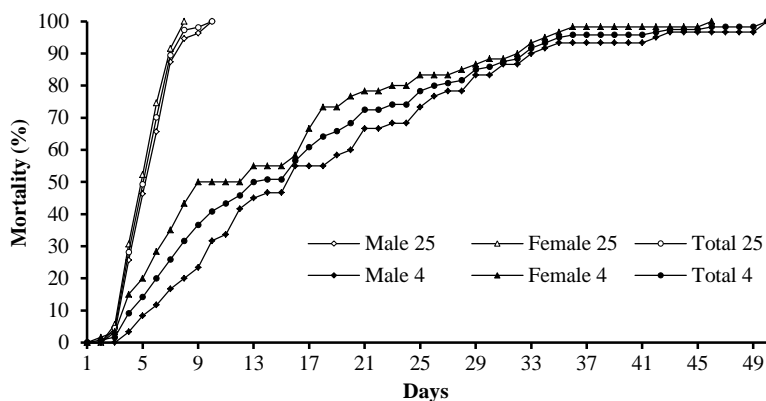
قرار داشتن حشرات کامل نر ($F_{3,12} = 6.098; P = 0.0174$) و ماده ($F_{3,12} = 5.877; P = 0.0198$) در معرض دمای پایین روی طول عمر آن‌ها در سطح احتمال پنج درصد دارای اثر معنی‌دار بود. هم در مورد حشرات کامل نر و هم ماده، دو هفته قرار داشتن در معرض دمای ۴ درجه اثری روی زنده‌مانی و طول عمر آن‌ها نداشت اما قراردعی سه و چهار هفته‌ای باعث کاهش معنی‌دار

با نرخ ۵ درجه بر دقیقه تنظیم شد و سپس به مدت ۲۰ دقیقه ثابت نگه داشته شد و در نهایت با نرخ ۱۰ درجه بر دقیقه به ۳۰۰ درجه افزایش یافت. انرژی یونیزاسیون برابر با 70 eV، با زمان اسکن ۱ ثانیه و mass range برابر با 40-350 amu بود (Hossain and Salehuddin, 2013). اجزای تشکیل‌دهنده اسانس اکالیپتوس از طریق مقایسه زمان‌های ابقای گازکروماتوگرافی با ترکیبات شناخته شده و نیز طیف‌های جرمی آن با ترکیبات یا طیف‌های شناسایی شده تعیین شدند.

تجزیه و تحلیل‌های آماری

تجزیه پروبیت داده‌های زیست‌سنجی برای تعیین مقادیر زمان‌ها و غلظت‌های کشنده با نرم‌افزار آماری PoloPlus (ver. 2.0) انجام شد. برای اصلاح تلفات تیمارهای اسانس نسبت به شاهد از فرمول آبتوت (Abbott, 1925) استفاده گردید. آزمایش‌های باروری و درصد تفریح در اثر دمای پایین به تنهایی به صورت طرح کاملاً تصادفی و در مورد همین داده‌ها در اثر استفاده ترکیبی از دمای پایین و اسانس به صورت فاکتوریل (۴ غلظت و ۳ زمان) در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا و تجزیه و تحلیل آماری شدند. تجزیه واریانس داده‌ها با نرم‌افزار آماری SAS و مقایسه میانگین‌ها به روش Tukey-HSD در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. برای رسم نمودار از نرم‌افزار Excel 2019 استفاده گردید. برای بررسی اثرات سینرژیستی و آنتاگونیستی از دو روش استفاده شد. در روش آرایه شده توسط Tallarida (2000)، اگر مرگ‌ومیر مشاهده شده از مرگ‌ومیر مورد انتظار بیشتر یا کمتر باشد، برهمکنش به ترتیب از نوع سینرژیستی و آنتاگونیستی، و اگر با هم برابر باشند، از نوع تجمیعی^۱ خواهد بود. عدم همپوشانی خط‌های معیار دو میانگین مرگ‌ومیر مشاهده شده و مورد انتظار، نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اختلاف بین آن دو است. در روش دوم از معادله فاکتور سمیت مشترک

طول عمر نرها (به ترتیب ۴/۸۸ و ۲/۷۹ روز) و ماده‌ها (به ترتیب ۹/۶۲ روز) و ماده (۸/۸۴ روز) شد که با هم نیز دارای ترتیب ۴/۶۲ و ۲/۴۴ روز) نسبت به حشرات کامل شاهد اختلاف معنی دار بودند (جدول ۲).



شکل ۱- روند درصد تلفات تجمعی حشرات کامل شب‌پره مدیترانه‌ای آرد در اثر قرار داشتن پیوسته در معرض دمای ۴ و ۲۵ درجه سلسیوس

Figure 1. Cumulative mortality percentage of adult Mediterranean flour moths due to continuous exposure to 4 and 25 °C

جدول ۱- مقادیر LT₅₀ و LT₉₀ (روز) بر آورده شده برای حشرات کامل شب‌پره مدیترانه‌ای آرد قرار داشته در معرض دمای ۴ درجه سلسیوس

Table 1. LT₅₀ and LT₉₅ (days) of the Mediterranean flour moth adults exposed to 4 °C

	LT ₅₀ (95% CL)	LT ₉₅ (95% CL)	a ± SE	b ± SE	χ ² (df)	HF*
Male	14.47 (14.34-15.27)	45.17 (43.00-47.65)	3.404 ± 0.090	-3.988 ± 0.119	38.43 (48)	0.801
Female	10.77 (10.13-11.39)	39.38 (36.54-42.84)	2.921 ± 0.083	-3.015 ± 0.104	72.65 (44)	0.965
Total	12.67 (12.14-13.19)	42.28 (40.00-44.92)	3.143 ± 0.059	-3.467 ± 0.077	104.69 (48)	0.818

* Heterogeneity factor.

جدول ۲- میانگین (± خطای معیار) طول عمر حشرات کامل شب‌پره مدیترانه‌ای آرد ۰، ۲، ۳ و ۴ هفته پس از قرار داشتن در معرض دمای ۴ درجه سلسیوس

Table 2. Mean (± SE) longevity of adults of the Mediterranean flour moth exposed to 4 °C for 0, 2, 3 and 4 weeks

Exposure time (week)	Longevity (day)	
	Male	Female
0 (Control)	9.62 ± 2.39 a	8.84 ± 1.32 a
2	7.28 ± 1.39 a	8.15 ± 1.22 a
3	4.88 ± 0.49 b	4.62 ± 0.86 b
4	2.79 ± 0.38 c	2.44 ± 0.57 c

Means with different letters, in each column, are significantly different (Tukey-HSD; α = 0.05).

بودند. طبق نتایج مقایسه میانگین، هم افزایش مدت زمان قرار داشتن حشرات کامل در معرض دمای پایین و هم افزایش غلظت اسانس باعث کاهش بیشتر باروری حشرات کامل شد. به عنوان مثال، بیشترین میزان باروری (۸۷/۶۸) تخم/ماده در اثر قرار داشتن حشرات تنها به مدت ۲۴ ساعت در معرض دمای پایین؛ ترکیب تیماری ۲۴-LC₀ پس از ۷۲ ساعت با کاهش معنی‌دار به ۵۱/۹۵ تخم/ماده و در اثر استفاده ترکیبی با غلظت LC₅₀ اسانس با کاهش بیشتر و معنی‌دار به ۳۵/۴۵ تخم/ماده کاهش یافت. عدم باروری (صفر تخم/ماده) نیز در اثر استفاده از ترکیب تیماری ۷۲ ساعت-LC₅₀ مشاهده شد. پس از آن، کمترین میزان باروری (۱/۳۲ تخم/ماده) در اثر استفاده از ترکیب تیماری ۴۸ ساعت-LC₅₀ مشاهده شد (جدول ۴).

اثرات اصلی مدت زمان در معرض گذاری ($F_{2,36}=$) $F_{3,36}=0.22; P>0.05$ و غلظت اسانس ($P>0.57$) و نیز اثر متقابل آن دو ($P>1.91; F_{6,36}=0.0523$) درصد تفریخ تخم‌ها معنی‌دار نبودند. طبق نتایج مقایسه میانگین، درصد تفریخ تخم‌ها در ترکیب‌های تیماری مختلف از حداقل ۷۲/۰۴ تا حداکثر ۸۷/۱۵ درصد متغیر بود که با هم فاقد اختلاف معنی‌دار بودند (جدول ۴).

برهمکنش بین دمای پایین و اسانس اکالیپتوس

نتایج مربوط به بررسی نوع برهمکنش استفاده ترکیبی از دمای ۴ درجه سلسیوس و اسانس اکالیپتوس در جدول ۵ نشان داده شده‌اند. به طور کلی، به جز در ترکیب تیماری ۲۴ ساعت-LC₁₀ که برهمکنش از نوع تجمیعی بود، در سایر ترکیب‌های تیماری برهم‌کنش از نوع آنتاگونیستی بود و هیچگونه اثر سینرژیستی مشاهده نگردید.

شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس

با استفاده از GC-MS، ۱۶ ترکیب شیمیایی در اسانس اکالیپتوس شناسایی شدند. از میان آن‌ها پنج ترکیب 1,8-cineole (Eucalyptol) (۳۰/۴۷۶ درصد)،

اثر دمای پایین روی باروری حشرات کامل و درصد تفریخ تخم‌ها

قرار داشتن حشرات کامل در معرض دمای پایین، روی باروری حشرات کامل زنده‌مانده در سطح احتمال پنج درصد دارای اثر معنی‌دار بود ($F_{3,12}=4.720; P=0.0213$). در مقایسه با شاهد (۷۹/۳۰ تخم/ماده)، دو و سه هفته قرار داشتن حشرات کامل در معرض دمای پایین باعث کاهش معنی‌دار باروری (به ترتیب ۴۳/۳۶ و ۴۴/۰۲ تخم/ماده؛ بدون اختلاف معنی‌دار با هم) شد. باروری حشرات کامل چهار هفته قرار داشته در معرض دمای پایین به ۲۴/۰۳ تخم/ماده کاهش یافت که با تمامی میانگین‌ها دارای اختلاف معنی‌دار بود. همچنین، قرار داشتن حشرات کامل در معرض دمای پایین، درصد تفریخ تخم‌های حاصل از حشرات کامل زنده‌مانده را در سطح احتمال پنج درصد به طور معنی‌داری کاهش داد ($F_{3,12}=4.168; P=0.0308$). درصد تفریخ تخم‌های حاصل از حشرات کامل قرار داشته به مدت دو (۸۴/۲۵ درصد) و سه هفته (۷۴/۶۰ درصد) با هم و با میانگین تیمار شاهد (۸۵/۸۱ درصد) فاقد اختلاف معنی‌دار بود. تنها چهار هفته قرار داشتن حشرات کامل در معرض دمای ۴ درجه سلسیوس باعث کاهش معنی‌دار درصد تفریخ آن‌ها (۶۴/۱۳ درصد) نسبت به شاهد (و نیز تیمار دو هفته سرمادهی) شد (جدول ۳).

اثر ترکیبی دمای پایین با اسانس اکالیپتوس روی باروری حشرات کامل و درصد تفریخ تخم‌ها

نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به اثر استفاده ترکیبی از دمای ۴ درجه سلسیوس و غلظت‌های مختلف اسانس اکالیپتوس طی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت نشان داد که اثرات اصلی مدت زمان در معرض گذاری ($F_{2,36}=$) $F_{3,36}=46.94; P<0.0001$ و غلظت اسانس ($P<0.0001$) و نیز اثر متقابل آن دو ($P<0.0001$) $F_{6,36}=14.55; P<0.0001$ روی باروری حشرات کامل شب‌پره مدیترانه‌ای آرد در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار

جدول ۳- میانگین (± خطای معیار) باروری و درصد تفریح تخم‌های شب‌پره مدیترانه‌ای آرد ۰، ۲، ۳ و ۴ هفته پس از قرار داشتن در معرض دمای ۴ درجه سلسیوس

Table 3. Mean (± SE) fecundity and percentage egg hatch of adults of the Mediterranean flour moth exposed to 4 °C for 0, 2, 3 and 4 weeks

Exposure time (week)	Fecundity (egg/female)	Egg hatch (%)
0 (Control)	79.30 ± 16.39 a	85.81 ± 1.90 a
2	43.36 ± 9.84 b	84.25 ± 3.59 a
3	44.02 ± 10.79 b	74.60 ± 7.71 ab
4	24.03 ± 3.12 c	64.13 ± 4.51 b

Means with different letters, in each column, are significantly different (Tukey-HSD; α = 0.05).

جدول ۴- میانگین (± خطای معیار) باروری و درصد تفریح تخم‌های شب‌پره مدیترانه‌ای آرد در اثر استفاده ترکیبی از دمای ۴ درجه سلسیوس و غلظت‌های مختلف اسانس اکالیپتوس طی ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت

Table 4. Mean (± SE) fecundity and percentage egg hatch of the Mediterranean flour moth (egg/female) due to application of 4 °C in combination with different eucalyptus essential oil after 24, 48 and 72 hours

Exposure time (hour)	Essential oil concentration (µl/l air)			
	LC ₀ (0.00)	LC ₁₀ (0.41)	LC ₂₀ (0.53)	LC ₅₀ (1.05)
Fecundity (egg/female)				
24	87.68 ± 14.58 a	85.97 ± 8.37 a	42.35 ± 9.63 cd	35.45 ± 1.79 d
48	78.88 ± 17.37 a	69.55 ± 10.70 ab	36.27 ± 6.05 d	1.32 ± 0.17 g
72	51.95 ± 5.23 bc	24.61 ± 3.65 e	4.93 ± 1.01 f	0.0 ± 0.0 h
Egg hatch (%)				
24	86.70 ± 10.40 a	85.96 ± 13.07 a	84.38 ± 9.16 a	87.15 ± 8.84 a
48	79.49 ± 8.86 a	79.42 ± 12.62 a	76.35 ± 8.57 a	74.28 ± 10.11 a
72	72.04 ± 9.65 a	78.04 ± 10.36 a	77.90 ± 9.41 a	75.28 ± 9.55 a

Means with different letters are significantly different (Tukey-HSD; α = 0.05).

جدول ۵- برهمکنش استفاده ترکیبی از غلظت‌های مختلف اسانس اکالیپتوس (میکرولیتر بر لیتر هوا) با دمای ۴ درجه سلسیوس پس از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت در معرض گذاری

Table 5. Interaction between different concentrations (µl/l air) of eucalyptus essential oil and 4 °C after 24, 48 and 72 h. exposure times

Exposure time + Concentration	Mortality (%)			CF*	Interaction
	Expected	Observed	Interaction		
24 + LC ₁₀ (0.41)	4.66 ± 0.50	3.79 ± 0.48	Additive	-18.67	Additive
48 + LC ₁₀ (0.41)	8.05 ± 2.28	4.12 ± 0.66	Antagonist	-48.82	Antagonist
72 + LC ₁₀ (0.41)	11.46 ± 4.20	3.87 ± 0.41	Antagonist	-66.23	Antagonist
24 + LC ₂₀ (0.53)	5.83 ± 1.51	1.18 ± 0.11	Antagonist	-79.76	Antagonist
48 + LC ₂₀ (0.53)	14.63 ± 3.68	6.21 ± 1.09	Antagonist	-57.55	Antagonist
72 + LC ₂₀ (0.53)	22.86 ± 6.19	6.38 ± 0.97	Antagonist	-72.09	Antagonist
24 + LC ₅₀ (1.05)	13.33 ± 2.64	0.00 ± 0.00	Antagonist	-100	Antagonist
48 + LC ₅₀ (1.05)	42.83 ± 6.43	18.25 ± 1.25	Antagonist	-57.37	Antagonist
72 + LC ₅₀ (1.05)	52.46 ± 10.24	20.00 ± 3.57	Antagonist	-61.87	Antagonist

* Co-toxicity factor

معین با افزایش مدت زمان در معرض‌گذاری Abdelghany et al., 2010; Andreadis et al.,) حساسیت متفاوت گونه‌های مختلف به دماهای پایین (Mullen and Arbogast, 1979; Johnson,) حساسیت متفاوت (2007; Eliopoulos et al., 2011) مراحل نشوونمایی مختلف یک گونه حشره (Andreadis et al., 2012; Darwish et al.,) یا کنه (Abbar et al., 2016) به دمای پایین، حساسیت متفاوت یک مرحله‌ی نشوونمایی به دمای پایین بسته به طول عمر آن (Johnson and Wafford,) و اثر سازگار شدن به سرما روی کاهش تلفات بعدی ناشی از قرار گرفتن در معرض دمای پایین است (Fields, 1990; Khan, 1990).

در این بررسی، سرمادهی متوالی حشرات کامل در دمای ۴ درجه سلسیوس باعث افزایش طول عمر آنها شد به طوری که برخی از حشرات بیش از ۳۳ روز عمر کردند. افزایش طول عمر ۵۰ درصد از حشرات کامل شب‌پره مدیترانه‌ای آرد در دمای ۱۰ درجه سلسیوس تا بیش از ۶ هفته و تلفات ۱۰۰ درصدی آنها پس از ۱۰ هفته توسط Ayvaz and Karaborklu (2008) گزارش شده است. همچنین، افزایش طول عمر ۵۰ درصد از حشرات کامل شب‌پره هندی، *Plodia interpunctella* (Hubner)

1R,4S,7S,11R-2,2,4,8-Tetramethyl-tricyclo[5.3.1.0(4,11)]undec-8-ene (۱۳/۶۱۰ درصد)، Valencene (۱۰/۸۷۷ درصد)، Spathulenol (۹/۷۶۰ درصد) و Alloaromadendrene (۹/۴۱۴ درصد) به ترتیب بیشترین مقدار را داشتند و ۷۴/۱۳۷ درصد از کل اسانس را تشکیل دادند (جدول ۶).

بحث

دمای پایین باعث کاهش نرخ نشوونما، تغذیه، زنده‌مانی و باروری می‌شود (Longstaff and Evans, 1983). شپشه گندم، *Sitophilus granarius* (L.) تنها آفت انباری مهم است که می‌تواند در دمای پایین‌تر از ۲۰ و تا ۱۳ درجه سلسیوس نشوونمای خود را ادامه دهد (Banks and Fields, 1995). تحقیقات مختلف انجام شده در زمینه اثرات دماهای پایین روی ویژگی‌های زیستی مختلف حشرات، باعث دستیابی به تعدادی نتیجه‌گیری کلی شده‌اند. از جمله نتایج مهم می‌توان به موارد زیر اشاره نمود: کاهش مدت زمان لازم برای بروز تلفات ۵۰ درصدی با کاهش دما (Collins et al., 2011; Loganathan et al., 2006)، افزایش تلفات حشرات طی یک مدت زمان معین در اثر دمای پایین‌تر (Knipling and Sullivan, 1957; Andreadis et al., 2012)، افزایش تلفات حشرات در یک دمای پایین

جدول ۶- ترکیبات شیمیایی شناسایی شده در اسانس اکالیپتوس

Table 6. Identified compounds in eucalyptus essential oil

Compound	RT*	Value (%)	Compound	RT*	Value (%)
1R- α -Pinene	3.162	4.565	Valencene	12.844	10.877
tert-Butylbenzene	4.357	2.491	Alloaromadendrene	13.434	9.414
Sylvestrene	4.419	1.871	β -Guaiene	14.248	2.336
Eucalyptol	4.519	30.476	γ -Gurjunene	14.399	2.738
Cyclohexanol, 2-methylene-5-(1-methylethenyl)-	4.929	3.782	Viridiflorol	16.195	1.620
α -Terpineol	5.194	2.990	Spathulenol	16.611	9.760
Terpinolene	5.374	0.120	1R,4S,7S,11R-2,2,4,8-Tetramethyltricyclo[5.3.1.0(4,11)]undec-8-ene	16.812	13.610
trans-Pinocarveol	6.649	0.336	2(1H)Naphthalenone, 3,5,6,7,8,8a-hexahydro-4,8a-dimethyl-6-(1-methylethenyl)-	20.202	3.015

* Retention time

تحمل دمای پایین و صرف منابع انرژی در این جهت می‌توانند روی کاهش طول عمر و زنده‌مانی حشرات کامل پس از یک دوره قرار داشتن در معرض دمای پایین نقش مهمی داشته باشند.

طبق نتایج، کاهش معنی‌دار باروری حشرات کامل سرمادهی شده نسبت به شاهد، حتی در آن‌هایی که دو هفته در معرض دمای پایین قرار داده شده بودند، مشاهده گردید. همچنین، کاهش معنی‌دار درصد تفریح تخم‌های گذاشته شده تنها در حشرات کاملی که چهار هفته در معرض دمای پایین قرار داده شده بودند، دیده شد. علاوه بر این که در دماهای پایین‌تر از ۱۰ درجه سلسیوس، تولید مثل حشرات بسیار کاهش می‌یابد (Lasseran and Fleurat-Lessard, 1990; Fields, 1992)، کاهش باروری و درصد تفریح تخم‌ها یکی از اثرات منفی قرار داشتن قبلی حشرات کامل در معرض دماهای پایین می‌باشد (Ayvaz and Karaborklu, 2008; Johnson et al., 2013). به عنوان مثال، و همکاران (1997) با قرار دادن حشرات کامل شب‌پره هندی در معرض دمای ۱۰ درجه سلسیوس به مدت بیش از ۲۵ روز، کاهش بیش از ۵۰ درصدی باروری و ۹۰ درصدی تفریح تخم‌ها را گزارش کردند. طبق نتایجی دیگر (Ayvaz and Karaborklu, 2008)، باروری حشرات کامل شب‌پره مدیترانه‌ای آرد پس از سه هفته یا بیشتر قرار داشتن در معرض دمای ۱۰ درجه سلسیوس کاهش یافت، کاهش درصد تفریح تخم‌ها پس از سرمادهی پنج هفته‌ای و طولانی‌تر حشرات کامل دیده شد، و برای عدم باروری حشرات کامل، به ۱۰ هفته نگهداری آن‌ها در این دما نیاز بود. به طور کلی، نتایج این محققان با نتایج بررسی حاضر مبنی بر اثر منفی نگهداری حشرات کامل در دمای پایین روی باروری و درصد تفریح تخم‌های آن‌ها تطابق دارند. در مقایسه با نتایج (Ayvaz and Karaborklu, 2008)، کاهش معنی‌دار باروری (در حشرات کامل دو هفته سرمادیده) و درصد تفریح تخم‌ها (در حشرات کامل چهار هفته

در همین دما تا بیش از ۴۹ روز و تلفات ۹۰ درصدی آنها پس از ۷۰ روز گزارش شده است (Johnson et al., 1997). Aldawood و همکاران (2013) نیز تلفات ۱۰۰ درصدی لاروهای سن پنجم شب‌پره بادام، *Ephestia cautella* (Walker) در دمای ۵ درجه سلسیوس را پس از ۶۰ روز گزارش کردند که نشان از افزایش طول عمر آن‌ها دارد. در بررسی حاضر و در دمای ۴ درجه سلسیوس، قرار داشتن حشرات کامل شب‌پره مدیترانه‌ای آرد به مدت حدود ۴۰ تا ۴۵ روز باعث بروز تلفات ۹۵ درصدی در آن‌ها شد. افزایش طول عمر حشرات در دماهای پایین را می‌توان به میزان زیادی احتمالاً به کاهش قابل توجه متابولیسم آن‌ها نسبت داد، اما این کاهش بسته به گونه حشره تا مدت زمان خاصی برای گونه‌ها سودمند است و پس از مدتی، عوارض ناشی از عدم تامین نیاز سلول‌ها به مقدار کافی، به مرگ آن‌ها و در نتیجه مرگ حشره کامل منجر می‌گردد. بدیهی است که استفاده از دمای پایین‌تر در این تحقیق، علت اصلی مشاهده سریع‌تر تلفات بوده است. اثرات دماهای پایین روی تلفات حشرات کامل در چند پژوهش دیگر گزارش شده‌اند (مثلاً Jiao et al., 2013 و Andreadis and Athanassiou, 2017). دماهای پایین اگرچه باعث افزایش مدت زمان زنده بودن حشرات کامل (و نیز مراحل نارس) آفات انباری می‌شوند، اما به دلیل متوقف ساختن فعالیت و در نهایت مرگ آن‌ها، از بروز خسارت جلوگیری می‌کنند.

قرار دادن حشرات کامل به مدت سه و چهار هفته در معرض دمای ۴ درجه سلسیوس در این بررسی باعث کاهش طول عمر حشرات کامل نر و ماده زنده‌مانده و تولید مثل‌کننده نسبت به شاهد شد. در بررسی انجام شده توسط Nadeem و همکاران (2014)، کاهش طول عمر حشرات کامل ماده‌ی بالتوری سبز، *Chrysoperla carnea* (Stephens) قرار داده شده در معرض دو دمای ۶ و ۸ درجه سلسیوس را در مقایسه با دمای ۱۰ درجه گزارش دادند. فشارهای متابولسمی وارده طی

باشد، به طور کلی به جز در ترکیب تیماری ۲۴ ساعت- LC_{10} که برهمکنش از نوع تجمیعی بود، در سایر ترکیبات تیماری، اثر آنتاگونیستی دیده شد. این اثر آنتاگونیستی می‌تواند به دلیل کاهش یافتن تنفس حشرات در اثر دمای پایین و در نتیجه کاهش ورود اسانس به بدن حشره و ایجاد سمیت تنفسی باشد. طی ۷۲ ساعت (سه روز) انجام آزمایش، به نظر می‌رسد که اسانس عامل حشره‌کش اصلی بوده، زیرا تلفات حشرات کامل طی سه روز بسیار اندک (کمتر از ۵ درصد) بود. لذا، دمای پایین با کاهش دادن نرخ تنفس حشرات و در نتیجه کاهش مقدار اسانس وارد شده به داخل بدن آن‌ها، بروز اثر آنتاگونیستی را موجب شده است.

طبق نتایج GC-MS به دست آمده در این تحقیق، منوترین اکسیژنه ۸،۱- سینئول (اکالیپتول) بیشترین مقدار (۳۰/۴۸ درصد) را در اسانس *E. globulus* دارا بود. در بررسی‌های انجام شده در مورد تعیین اجزای شیمیایی اسانس‌های گونه‌های مختلف اکالیپتوس، مقدار این ترکیب در اسانس *E. procera* Dehnh. برابر با ۴۵ درصد (Nouri-Ganbalani et al., 2016) گزارش شده است. در اسانس *E. radiata* Sieber ex DC.، لیمونن (۶۸/۵۱ درصد) به عنوان جزء اصلی اسانس شناسایی شده (Luis et al., 2016) اما در برخی مطالعات ۸،۱- سینئول (اکالیپتول) جزء اصلی اسانس بوده است (Mulyaningsih et al., 2011). طبق بررسی‌های انجام شده روی شناسایی اجزای اسانس *E. globulus*، مشخص شده که ۸،۱- سینئول (اکالیپتول) مهم‌ترین جزء تشکیل‌دهنده اسانس این گونه می‌باشد (Ghaffar et al., 2015; Golestani et al., 2015; Russo et al., 2015; Luis et al., 2016; Yones et al., 2016). مقدار ۸،۱- سینئول (اکالیپتول) موجود در اسانس *E. globulus* از حداقل ۱۷/۲ درصد در کنیا (Karemu et al., 2013)، تا حداکثر ۹۰ درصد در برزیل (Vilela et al., 2009) و استرالیا (Yang et al., 2004) متغیر بوده است. تفاوت ترکیبات موجود در

سرما دیده) در مقایسه با شاهد در بررسی حاضر، به دلیل استفاده از دمای پایین‌تر (۴ درجه سلسیوس) نسبت به دمای مورد استفاده توسط این دو محقق (۱۰ درجه) می‌باشد. کاهش باروری و درصد تفریح تخم‌های بالتوری سبز در اثر نگهداری حشرات کامل دیپوزی در دمای ۵ درجه سلسیوس توسط (Tauber et al., 1993) نیز گزارش شده است.

در بررسی‌های متعدد، اثرات اسانس‌های گیاهی بر کاهش باروری حشرات (مانند Aref et al., 2015; Kheirkhah et al., 2015; Mkenda et al., 2015) و نیز تلفات آن‌ها از جمله تلفات حشرات کامل شب‌پره مدیترانه‌ای آرد (مانند Bachrouch et al., 2010; Jemâa et al., 2012) گزارش شده است. تاکنون، برای رفع محدودیت‌های موجود بر سر راه استفاده از دماهای پایین (به طور عمده، نیاز به مدت زمان‌های در معرض‌گذاری طولانی‌مدت) و اسانس‌های گیاهی (از جمله نیاز به غلظت‌های بالا، بر جای گذاشتن بو، دارا بودن اثرات تأخیری) تلاش شده تا استفاده از آن‌ها در ترکیب با سایر عوامل کنترلی، مانند خاک‌های دیاتومه (Yang et al., 2010; Ziaee and Moharramipour, 2012; Campolo et al., 2014; Reihani, 2014; Ziaee et al., 2014; Reihani et al., 2016) مورد بررسی قرار گیرد. طبق نتایج این تحقیقات، برهمکنش استفاده ترکیبی از این دو عامل حشره‌کش به طور کلی از نوع سینرژیستی بوده است. در پژوهش حاضر، اثر ترکیبی استفاده از دمای پایین با یک اسانس گیاهی برای اولین بار مورد بررسی قرار گرفت. باروری حشرات کامل هم بر اثر افزایش مدت زمان سرمادهی و هم افزایش غلظت اسانس به میزان بیشتری کاهش یافت اما درصد تفریح تخم‌های حاصل از حشرات قرار داشته به طور همزمان در معرض دمای پایین و اسانس، تحت تاثیر قرار نگرفت. بر خلاف تصور اولیه که پیش‌بینی می‌شد برهمکنش استفاده ترکیبی از دمای پایین- اسانس گیاهی از نوع سینرژیستی

دماهای پایین تر از صفر فیزیولوژیک (به ویژه دماهای پایین تر از ۵ درجه سلسیوس و دماهای زیر صفر) روی سایر آفات انباری مهم و حساس به سرما (مانند سایر گونه‌های بال‌پولکداران انباری) و حتی روی سخت‌بالپوشان انباری، برآورد زمان‌های کشنده این دماها، بررسی استفاده ترکیبی از دماهای پایین همراه با سایر عوامل حشره کش ایمن (مانند خاک‌های دیاتومه، امواج فراصوت و غیره) پیشنهاد می‌گردد.

سپاس‌گزاری

این مقاله حاصل پایان‌نامه کارشناسی ارشد نویسنده اول می‌باشد و با استفاده از امکانات مالی و پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شده است که از معاونت پژوهشی و فناوری سپاس و قدردانی به عمل می‌آید.

اسانس‌های گیاهی ممکن است به علت تفاوت‌های ژنتیکی آن‌ها و یا عوامل محیطی مانند اقلیم، فصل کشت و موقعیت جغرافیایی باشد (Mulyaningsih et al., 2011). شایان ذکر است که آرومادندرن، اُ-سیمن، آلفا-تریپتول و آلفا-تریپنیل در اسانس‌های غنی از ۸،۱-سینئول (اکالیپتول) یافت می‌شوند در حالی که منوترینوئید آلفا-پنین در بیشتر اسانس‌ها وجود دارد (Mulyaningsih et al., 2011).

در این پژوهش، اثر آنتاگونیستی استفاده همزمان از دمای ۴ درجه سلسیوس و یک اسانس گیاهی برای اولین بار گزارش می‌شود. با توجه به اندک بودن تحقیقات انجام شده در مورد اثرات منفی دماهای پایین روی آفات انباری، و بررسی اثرات زیستی و تولیدمثلی ناشی از سرمادهی مراحل مختلف نشوونمایی، در این زمینه فرصت‌های تحقیقاتی زیادی وجود دارد. برای تأیید یافته‌های این پژوهش، انجام تحقیقات با استفاده از

REFERENCES

- Abbar, S., Schilling, M.W., and Phillips, T.W. 2016. Time-mortality relationships to control *Tyrophagus putrescentiae* (Sarcoptiformes: Acaridae) exposed to high and low temperatures. *Journal of Economic Entomology*, 109(5): 2215-2220.
- Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18(2): 265-267.
- Abdelghany, A.Y., Awadalla, S.S., Abdel-Baky, N.F., El-Syrafy, H.A., and Fields, P.G. 2010. Effect of high and low temperatures on the drugstore beetle (Coleoptera: Anobiidae). *Journal of Economic Entomology*, 103(5): 1909-1914.
- Adler, C. 2010. Low temperature to control *Plodia interpunctella* and *Stegobium paniceum*. *Julius-Kühn-Archiv*, 425: 608.
- Aldawood, A.S., Rasool, K.G., Alrukban, A.H., Soffan, A., Husain, M., Sutanto, K.D., and Tufail, M. 2013. Effects of temperature on the development of *Ephestia cautella* (Walker) (Pyralidae: Lepidoptera): a case study for its possible control under storage conditions. *Pakistan Journal of Zoology*, 45(6): 1573-1578.

Andreadis, S.S., Eliopoulos, P.A., and Savopoulou-Soultani, M. 2012. Cold hardiness of immature and adult stages of the Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella*. Journal of Stored Products Research, 48: 132-136.

Andreadis, S., and Athanassiou, C. 2017. A review of insect cold hardiness and its potential in stored product insect control. Crop Protection, 91: 93-99.

Andreadis, S., Milonas, P., and Savopoulou-Soultani, M. 2005. Cold hardiness of diapausing and nondiapausing pupae of the European grapevine moth, *Lobesia botrana*. Entomologia Experimentalis et Applicata, 117(2): 113-118.

Andreadis, S., Vryzas, Z., Papadopoulou-Mourkidou, E., and Savopoulou-Soultani, M. 2011. Cold tolerance of field-collected and laboratory reared larvae of *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae). CryoLetters, 32(4): 297-307.

Andreadis, S., Vryzas, Z., Papadopoulou-Mourkidou, E., and Savopoulou-Soultani, M. 2008. Age-dependent changes in tolerance to cold and accumulation of cryoprotectants in overwintering and non-overwintering larvae of European corn borer *Ostrinia nubilalis*. Physiological Entomology, 33(4): 365-371.

Aref, S., Valizadegan, O., and Farashiani, M. 2015. *Eucalyptus dundasii* Maiden essential oil, chemical composition and insecticidal values against *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Oryzaephilus surinamensis* (L.). Journal of Plant Protection Research, 55(1): 35-41.

Athanassiou, C.G., and Arthur, F.H. 2020. Cool down–warm up: differential responses of stored product insects after gradual temperature changes. Insects 2020, 11, 158; doi:10.3390/insects11030158.

Athanassiou, C.G., Arthur, F.H., Kavallieratos, N.G., and Hartzler, K.L. 2018a. Susceptibility of different life stages of *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) to cold treatment. Journal of Economic Entomology, 111: 1481-1485.

Athanassiou, C.G., Arthur, F.H., Kavallieratos, N.G., and Hartzler, K.L. 2018b. To acclimate or not to acclimate? Simultaneous positive and negative effects of acclimation on susceptibility of *Tribolium confusum* and *Oryzaephilus surinamensis* to low temperatures. Journal of Economic Entomology, 112: 2441-2449.

Ayvaz, A., and Karaborklu, S. 2008. Effect of cold storage and different diets on *Ephestia kuehniella* Zeller (Lep: Pyralidae). Journal of Pest Science, 81(1): 57-62.

Bachrouch, O., Jemâa, J., Wissem, A., Talou, T., Marzouk, B., and Abderraba, M. 2010. Composition and insecticidal activity of essential oil from *Pistacia lentiscus* L. against *Ectomyelois ceratoniae* Zeller and *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). Journal of Stored Products Research, 46(4): 242-247.

Banks, J., and Fields, P. 1995. Physical Methods for Insect Control in Stored-grain Ecosystems (Vol. 353). Marcel Dekker, New York.

- Bett, P., Deng, A., Ogendo, J., Kariuki, S., Kamatenesi-Mugisha, M., Mihale, J., and Torto, B. 2016. Chemical composition of *Cupressus lusitanica* and *Eucalyptus saligna* leaf essential oils and bioactivity against major insect pests of stored food grains. *Industrial Crops and Products*, 82: 51-62.
- Bett, P., Deng, A., Ogendo, J., Kariuki, S., Kamatenesi-Mugisha, M., Mihale, J., and Torto, B. 2017. Residual contact toxicity and repellence of *Cupressus lusitanica* Miller and *Eucalyptus saligna* Smith essential oils against major stored product insect pests. *Industrial Crops and Products*, 110: 65-74.
- Campolo, O., Romeo, F., Malacrinò, A., Laudani, F., Carpinteri, G., Fabroni, S., Rapisarda, P., and Palmeri, V. 2014. Effects of inert dusts applied alone and in combination with sweet orange essential oil against *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera:Bostrichidae) and wheat microbial population. *Industrial Crops and Products*, 61: 361-369.
- Collins, D.A., Conyers, S.T., and Cardwell, S.K. 2006. The effect of sub-zero temperature on the mortality of *Ephestia elutella* (Hübner). *Proceedings of 9th International Working Conference on Stored Product Protection, Brazil*. pp. 7-23.
- Darwish, Y.A., Ali, A.M., Mohamed, R.A., and Khalil, N.M. 2015. Effect of extreme low and high temperatures on the almond moth, *Ephestia cautella* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Phytopathology and Pest Management*, 2(1): 36-46.
- Dhen, N., Majdoub, O., Souguir, S., Tayeb, W., Laarif, A., and Chaieb, I. 2014. Chemical composition and fumigant toxicity of *Artemisia absinthium* essential oil against *Rhyzopertha dominica* and *Spodoptera littoralis*. *Tunisian Journal of Plant Protection*, 9(1): 57-61.
- Ebnolelm, N., Kocheili, F., Sabahi, Q., and Mosadegh, M.S. 2015. Fumigant and persistence toxicity of eucalyptus, walnut and pennyroyal essential oil on Khapra beetle *Trogoderma granarium* (Evert.) (Coleoptera: Dermestidae). *Plant Protection*, 38(3): 75-84 (In Farsi with English summary).
- Eliopoulos, P., Prasodimou, G., and Pouliou, A. 2011. Time-mortality relationships of larvae and adults of grain beetles exposed to extreme cold. *Crop Protection*, 30(8): 1097-1102.
- Enan, E. 2001. Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C: Toxicology and Pharmacology*, 130(3): 325-337.
- Fields, P. 1990. The cold-hardiness of *Cryptolestes ferrugineus* and the use of ice nucleation-active bacteria as a cold-synergist. *Proceedings of 5th International Working Conference on Stored-Product Protection, Bordeaux, France*. pp. 1183-1191.
- Fields, P. 1992. The control of stored-product insects and mites with extreme temperatures. *Journal of Stored Products Research*, 28(2): 89-118.

Fields, P. 2001. Control of insects in post-harvest: low temperature. In Vincent, C., Panneton, B., & Fleurat-Lessard, F. (Eds.), Physical control methods in plant protection. Springer, Berlin, Heidelberg. pp. 95-107.

Fields, P.G., and White, N. 2002. Alternatives to methyl bromide treatments for stored-product and quarantine insects. Annual Review of Entomology, 47(1): 331-359.

Flinn, P., and Hagstrum, D. 1990. Simulations comparing the effectiveness of various stored-grain management practices used to control *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). Environmental Entomology, 19(3): 725-729.

Ghaffar, A., Yameen, M., Kiran, S., Kamal, S., Jalal, F., Munir, B., Saleem, S., Rafiq, N., Ahmad, A., and Saba, I. 2015. Chemical composition and *in-vitro* evaluation of the antimicrobial and antioxidant activities of essential oils extracted from seven *Eucalyptus* species. Molecules, 20: 20487-20498.

Golestani, M.R., Rad, M., Bassami, M., and Afkhami-Goli, A. 2015. Analysis and evaluation of antibacterial effects of new herbal formulas, AP-001 and AP-002, against *Escherichia coli* O157:H7. Life Science, 135: 22-26.

Gross, K.C., Wang, C.Y., and Saltveit, M. 2016. The Commercial Storage of Fruits, Vegetables and Florist and Nursery Stocks. Agriculture Handbook (Washington). No. 66. USDA.

Hallman, G.J., and Denlinger, D.L. 1998. Introduction: temperature sensitivity and integrated pest management. In Hallman G.J., & Denlinger, D.L. (Eds.), Temperature sensitivity in insects and application in integrated pest management. Westview Press, Boulder, CO, USA; Oxford, UK. pp. 1-6.

Hossain, A., and Salehuddin, S. 2013. Analytical determination of nicotine in tobacco leaves by gas chromatography-mass spectrometry. Arabian Journal of Chemistry, 6: 275-278.

Houghton, P., Ren, Y., and Howes, M. 2006. Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. Natural Product Reports, 23(2): 181-199.

Jemâa, J., Haouel, S., Bouaziz, M., and Khouja, M. 2012. Seasonal variations in chemical composition and fumigant activity of five *Eucalyptus* essential oils against three moth pests of stored dates in Tunisia. Journal of Stored Products Research, 48: 61-67.

Jiao, S., Johnson, J.A., Tang, J., Mattinson, D.S., Fellman, J.K., Davenport, T.L., and Wang, S. 2013. Tolerance of codling moth, and apple quality associated with low pressure/low temperature treatments. Postharvest Biology and Technology, 85: 136-140.

Johnson, J.A. 2003. Survival of Indian meal moth and navel orange worm at low temperatures. Journal of Economic Entomology, 100(4): 1482-1488.

Johnson, J., and Wofford, P. 1991. Effects of age on response of eggs of Indian meal moth and navel orange worm (Lepidoptera: Pyralidae) to subfreezing temperatures. *Journal of Economic Entomology*, 84: 202-205.

Johnson, J., Valero, K., and Hannel, M. 1997. Effect of low temperature storage on survival and reproduction of Indian meal moth (Lepidoptera: Pyralidae). *Crop Protection*, 16(6): 519-523.

Karaborklu, S., Ayvaz, A., Yilmaz, S., and Akbulut, M. 2011. Chemical composition and fumigant toxicity of some essential oils against *Ephestia kuehniella*. *Journal of Economic Entomology*, 104(4): 1212-1219.

Karemu, C., Ndung'u, M., and Githua, M. 2013. Repellent effects of EOs from selected *Eucalyptus* species and their major constituents against *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *International Journal of Tropical Insect Science*, 33: 188-194.

Khan, N. 1990. Effects of various temperature regimes and cooling rates on the mortality and reproductive abilities of two stored grain insect species. Ph.D. Thesis, Oklahoma State University. Oklahoma, USA.

Khani, M., Marouf, A., Amini, S., Yazdani, D., Farashiani, M., Ahvazi, M., Khalighi-Sigaroodi, F., and Hosseini-Gharalari, A. 2017. Efficacy of three herbal essential oils against rice weevil, *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20(4): 937-950.

Kheirkhah, M., Ghasemi, V., Yazdi, A., and Rahban, S. 2015. Chemical composition and insecticidal activity of essential oil from *Ziziphora clinopodioides* Lam. used against the Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller. *Journal of Plant Protection Research*, 55(3): 260-265.

Knipling, E., and Sullivan, W. 1957. Insect mortality at low temperatures. *Journal of Economic Entomology*, 50(3): 368-369.

Kostyukovsky, M., Rafaeli, A., Gileadi, C., Demchenko, N., and Shaaya, E. 2002. Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: possible mode of action against insect pests. *Pest Management Science*, 58(11): 1101-1106.

Kovanci, O. 2016. Feeding and oviposition deterrent activities of microencapsulated cardamom oleoresin and eucalyptol against *Cydia pomonella*. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 76(1): 62-70.

Lasseran, J., and Fleurat-Lessard, F. 1990. Aeration of grain with ambient or artificially cooled air: a technique to control weevils in temperate climates. *Proceedings of 5th International Working Conference on Stored Products Protection, Bordeaux, France*. PP. 1221-1231.

- Loganathan, M., Jayas, D.S., Fields, P.G., and White, N.D.G. 2011. Low and high temperatures for the control of cowpea beetle, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) in chickpeas. *Journal of Stored Products Research*, 47(3): 244-248.
- Longstaff, B. 1981. The manipulation of the population growth of a pest species: an analytical approach. *Journal of Applied Ecology*, 18(3): 727-736.
- Longstaff, B., and Evans, D. 1983. The demography of the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae), submodels of age-specific survivorship and fecundity. *Bulletin of Entomological Research*, 73(2): 333-334.
- Luís, Â., Duarte, A., Gominho, J., Domingues, F., and Duarte, A. 2016. Chemical composition, antioxidant, antibacterial and anti-quorum sensing activities of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus radiata* essential oils. *Industrial Crops and Products*, 79: 274-282.
- Malacrinò, A., Campolo, O., Laudani, F., and Palmeri, V. 2016. Fumigant and repellent activity of limonene enantiomers against *Tribolium confusum* du Val. *Neotropical Entomology*, 45(5): 597-603.
- Mansour, N., El-Defrawi, M., Tappozada, A., and Zeid, M. 1966. Toxicological studies of the Egypt cotton worm *Prodenia litura*. VI potentiation and antagonism of organophosphorus and carbamate insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 59(2): 307-311.
- Mason, L.J., and Strait, A.C. 1998. Stored product integrated pest management with extreme temperatures. In Hallman G.J., & Denlinger, D.L. (Eds.), *Temperature sensitivity in insects and application in integrated pest management*. Westview Press, Boulder, CO, USA; Oxford, UK. pp. 141-178.
- Mkenda, P., Stevenson, P., Ndakidemi, P., Farman, D., and Belmain, S. 2015. Contact and fumigant toxicity of five pesticidal plants against *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae) in stored cowpea (*Vigna unguiculata*). *International Journal of Tropical Insect Science*, 35(4): 172-184.
- Mulyaningsih, S., Sporer, F., Reichling, J., and Wink, M. 2011. Antibacterial activity of EOs from *Eucalyptus* and of selected components against multidrug-resistant bacterial pathogens. *Pharmaceutical Biology*, 49: 893-899.
- Mullen, M.A., and Arbogast, R.T. 1979. Time-temperature-mortality relationships for various stored-product insect eggs and chilling times for selected commodities. *Journal of Economic Entomology*, 72(4): 476-478.
- Nadeem, S., Hamed, M., Nadeem, M., and Hasnain, M. 2014. Effect of storage duration and low temperatures on reproductive characteristics of *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). *Pakistan Journal of Zoology*, 46(1): 31-35.

- Nouri-Ganbalani, G., Ebadollahi, A., and Nouri, A. 2016. Chemical composition of the essential oil of *Eucalyptus procera* Dehnh. and its insecticidal effects against two stored product insects. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19(5): 1234-1242.
- Pandey, A.K., Tripathi, S., and Singh, P. 2018. Plant essential oils: a substitute for conventional insecticides against *Tribolium* species (Coleoptera: Tenebrionidae)-achievements and challenges. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 51(13-14): 696-728.
- Pavela, R. 2012. Sublethal effects of some essential oils on the cotton leaf worm *Spodoptera littoralis* (Boisduval). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 15: 144-156.
- Reihani, M. 2014. Insecticidal efficacy of inert dust-plant essence combination against adults of the Rice weevil, *Sitophilus oryzae* (Col.; Curculionidae) under laboratory conditions. MSc. Thesis, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. Gorgan, Iran.
- Reihani, M., Yazdani, M., and Afshari, A. 2016. Enhancing insecticidal efficacy and remedying dilatory effect of diatomaceous earth Sayan® against adults of the Rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.), in combination with myrtle essential oil, *Myrtus communis* L. *Applied Researches in Plant Protection*, 5(1): 65-78 (In Farsi with English summary).
- Robertson, J.L., Russell, R.M., Preisler, H.K., and Savin, N.E. 2007. *Bioassays with Arthropods*. CRC Press, Boca Raton. 224 pp.
- Russo, S., Cabrera, N., Chludil, H., Yaber-Grass, M., and Leicach, S. 2015. Insecticidal activity of young and mature leaves essential oil from *Eucalyptus globulus* Labill. against *Tribolium confusum* Jacquelin du Val (Coleoptera: Tenebrionidae). *Chilean Journal of Agricultural Research*, 75(3): 375-379.
- Shaaya, E., Kostjukovski, M., Eilberg, J., and Sukprakarn, C. 1997. Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, 33(1): 7-15.
- Tallarida, R. 2000. *Drug Synergism and Dose-Effect Data Analysis*. Chapman and Hall/CRC, Boca Raton, London, New York, Washington D.C., Philadelphia.
- Tauber, M., Tauber, C., and Gardescu, S. 1993. Prolonged storage of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environmental Entomology*, 22(4): 843-848.
- Vilela, G., Almeida, G., D'Arce, M., Moraes, M., Brito, J., Silva, M., Silva, S., Piedade, S., Calori-Domingues, M., and Gloria, E. 2009. Activity of essential oil and its major compound, 1,8-cineole, from *Eucalyptus globulus* Labill., against the storage fungi *Aspergillus flavus* Link and *Aspergillus parasiticus* Speare. *Journal of Stored Products Research*, 45: 108-111.

Yang, F.L., Liang, G.W., Xu, Y.J., Lu, Y.Y., and Zeng, L. 2010. Diatomaceous earth enhances the toxicity of garlic, *Allium sativum*, essential oil against stored-product pests. *Journal of Stored Product Research*, 46: 118-123.

Yang, Y., Choi, H., Choi, W., Clark, J.M., and Ahn, Y. 2004. Ovicidal and adulticidal activity of *Eucalyptus globulus* leaf oil terpenoids against *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52: 2507-2511.

Yones, D., Bakir, H., and Bayoumi, S. 2016. Chemical composition and efficacy of some selected plant oils against *Pediculus humanus capitis* in vitro. *Parasitology Research*, 115: 3209-3218.

Ziaee, M., and Moharramipour, S. 2012. The combination effects of diatomaceous earth and *Cuminum cyminum* essential oil against *Sitophilus granarius*. *Proceeding of 20th Iranian Plant Protection Congress, Shiraz, Iran*. P. 370.

Ziaee, M., Moharramipour, S., and Francikowski, J. 2014. The synergistic effects of *Carum copticum* essential oil on diatomaceous earth against *Sitophilus granarius* and *Tribolium confusum*. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 17: 817-822.

Ziaee, M., Nadimi, A., and Ganji, Z. 2015. Impact of temperature on cumin fumigant toxicity and locomotor activity of *Sitophilus granarius* and *Tribolium confusum* adults. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, 38(2): 91-102 (In Farsi with English summary).



© 2021 Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International. (CC BY-NC 4.0 license) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

Lethal and sublethal effects of low temperature, alone and in combination with eucalyptus essential oil, against adult Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella*

A. Rajaei¹, M. Yazdanian^{2*} and Gh. Asadeh³

1. Graduated M.Sc. student of Entomology, Department of Plant Protection, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
2. ***Corresponding Author:** Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran (mohsenyazdanian@gau.ac.ir)
3. Lecturer, Department of Plant Protection, Faculty of Plant Production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

(DOI): 10.22055/PPR.2021.16769

Received: 23 January 2021

Accepted: 1 May 2021

Abstract

Background and Objectives

Low temperatures have significant effects on the biological aspects of stored-product pests; thus, those can be used as a control method. Due to the delayed effects of low temperatures, the lethal and sublethal effects of 4°C temperature were investigated, alone and combined to the eucalyptus essential oil, on mortality and some reproductive aspects of Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller (Lep.: Pyralidae) for probable elimination of this limitation.

Materials and Methods

All experiments were carried out at the Entomological Research Lab., Department of Plant Protection, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources. The insect reared on wheat flour under laboratory conditions (25 ± 2 °C, 70 ± 5% R.H., 16:8 L:D). Adult's mortality due to the continuous exposure to low temperature, the effects of adults exposure to low temperature on their longevity, fecundity and percentage egg hatch, and finally, the effects of low temperature combined to different concentrations of eucalyptus essential oil on mortality, daily oviposition and percentage egg hatch of survived adults were recorded, and synergistic or antagonistic effects were determined. The chemical composition of essential oil was analyzed using a Varian CP-3800 gas chromatograph equipped with a Varian Saturn 2200 ion trap mass spectrometer and Helium as the carrier gas.

Results

Continuous exposure to low temperature prolonged the lifespan of adult insects (some of them lived more than 33 days). Estimated LT₅₀ and LT₉₅ values for male adults of the Mediterranean flour moth exposed to 4 °C were 14.87 and 45.17 days, respectively; for female adults were 10.77 and 39.38 days, respectively; and as total were 12.67 and 42.28 days, respectively. Adult exposure to low temperature decreased the longevity, fecundity and percentage of the egg hatch of survived ones. By increasing exposure interval and

essential oil concentration, fecundity decreased at a higher rate but percentage egg hatch did not affect. The interactions between low temperature and different plant essential oil concentrations were antagonistic. Among 16 identified constituents in the eucalyptus essential oil, 1,8-cineol (Eucalyptol) was the major oil component (30.48%).

Discussion

Long-time exposure of stored-products moths to 4°C temperature reduces the activity and mobility of these pests which has negative effects on their reproductive aspects. Hence, it could be effective as a control method. Antagonistic effect between low temperature and plant essential oil indicates that before selecting two insecticide agents for using in the combination, it is necessary that their synergistic interaction would be confirmed by carrying out the appropriate experiments.

Keywords: *Ephestia kuehniella*, *Low temperature*, *Plant essential oil*, *Interaction*, *Reproductive aspects*