

ترکیبات شیمیایی اسانس و فعالیت حشره کشی دو گیاه دارویی گواوا (*Psidium guajava*) و پنج انگشت (*Vitex agnus- castus*)

مهدی خدری

دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه گیاه پزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

علی میرشکار*

استادیار، گروه گیاه پزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

عباس خانی

دانشیار، گروه گیاه پزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

زینب محکمی

استادیار، پژوهشکده کشاورزی، پژوهشگاه زابل، زابل، ایران

چکیده

با توجه به ایجاد مشکلات متعدد ناشی از کاربرد بی رویه آفت کش های شیمیایی، استفاده از ترکیبات کم خطر جایگزین مانند اسانس های گیاهی مورد توجه قرار گرفته است. در این پژوهش اثر سمیت تنفسی اسانس های گیاهان گواوا (*Psidium guajava*) و پنج انگشت (*Vitex agnus- castus*) روی حشرات کامل شیشه آرد (*Tribolium confusum*)، شیشه برنج (*Sitophilus oryzae*) و شیشه قرمز آرد (*Tribolium castaneum*) بررسی شد. همچنین ترکیبات تشکیل دهنده هر دو نوع اسانس با دستگاه کروماتوگرافی گازی/ طیف سنج جرمی (GC/MS) شناسایی گردید. تیمارها شامل دو نوع اسانس و پنج غلظت (۱۵، ۳۰، ۴۰، ۴۵ و ۵۵ میکرولیتر بر لیتر هوا) از هر اسانس بود که به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. نتایج نشان داد ایزوکاریوفیلین، وریدیفلورن، فارنسن و لیمونن اصلی ترین ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گواوا و ۸۱-سینئول به عنوان اصلی ترین ترکیب اسانس پنج انگشت بود. غلظت کشنده ۵۰ درصد اسانس گواوا روی حشره کامل شیشه آرد، شیشه برنج و شیشه قرمز آرد به ترتیب برابر با ۲۸/۸۱، ۲۴/۲۷ و ۲۸/۳۶ میکرولیتر بر لیتر هوا بود. غلظت کشنده ۵۰ درصد اسانس پنج انگشت روی حشره کامل شیشه آرد، شیشه برنج و شیشه قرمز آرد به ترتیب برابر با ۲۵/۴۷، ۲۸/۴۰ و ۲۲/۷۰ میکرولیتر بر لیتر هوا بود. اسانس گواوا علیه شیشه برنج و اسانس پنج انگشت علیه شیشه آرد و شیشه قرمز آرد سمیت تنفسی ایجاد کرد و با افزایش غلظت هر دو نوع اسانس، درصد تلفات آفات انباری افزایش یافت. بنابراین از این اسانس ها می توان به عنوان حشره کش های گیاهی کم خطر برای کنترل آفات انباری استفاده کرد.

واژگان کلیدی: آفات انباری، اسانس، حشره کش گیاهی، کشندگی، GC-MS

مقدمه

با افزایش روز افزون جمعیت، علاوه بر ضرورت تولید بیشتر محصولات کشاورزی، توجه ویژه به سلامت محصول پس از برداشت نیز اهمیت زیادی پیدا کرده است (Simsek *et al.*, ۲۰۲۳). حشرات از جمله مهم‌ترین عوامل خسارت‌زای تولید محصولات کشاورزی از مرحله کاشت تا انبارداری هستند. میزان خسارت آفات انباری به طور متوسط سالانه ۳۰-۱۰ درصد تخمین زده شده است (Oboh *et al.*, ۲۰۱۷). در انبارهای سنتی میزان خسارت ایجاد شده توسط آفات انباری تا ۱۰۰ درصد نیز گزارش شده است. پراکنش گسترده، قدرت تکثیر بالا و چند خواربودن بسیاری از آفات انباری، علت عمده بروز خسارت بالا توسط آنهاست (Nayak *et al.*, ۲۰۲۰). خسارت آفات انباری به طور مستقیم شامل از دست رفتن وزن دانه، کاهش بازارپسندی، ایجاد آلودگی بهداشتی و به خطر انداختن سلامت انسان و به طور غیرمستقیم شامل افزایش مقاومت به آفت‌کش‌ها، ایجاد پدیده خود گرمایی در انبارها و تسهیل ورود عوامل خسارت‌زای ثانویه مانند باکتری‌ها می‌باشد (Pourian *et al.*, ۲۰۱۹). سه گونه شپشه آرد (*Tribolium confusum*) و شپشه برنج (*Sitophilus oryzae*) و شپشه قرمز آرد (*Tribolium castaneum*) از مهم‌ترین آفات انباری غلات در مناطق معتدل و گرمسیری به شمار می‌روند (Subekti *et al.*, ۲۰۱۹). اگر چه ترجیح غذایی این آفات، غلات و فرآورده‌های آن‌ها می‌باشد اما از محصولات انباری مختلف مانند دانه‌های روغنی، حبوبات و گیاهان دارویی نیز تغذیه کرده و کمیت و کیفیت محصولات انباری را از طریق آلوده کردن محصولات با مدفوع، لاروها و پوسته‌های لاروی خود به شدت کاهش می‌دهند (Campbell and Runnion, ۲۰۰۳). به‌منظور کاهش خسارت ناشی از آفات انباری و حفظ کمیت و کیفیت محصول انبار شده، کاهش انبوهی جمعیت آفت با استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی در دستور کار قرار گرفت. مصرف بی‌رویه آفت‌کش‌های شیمیایی مشکلات زیادی از جمله بروز مقاومت‌های ژنتیکی در آفات، باقیمانده سم در محصولات غذایی، اثر نامطلوب بر محیط زیست و موجودات غیر هدف را به دنبال داشته، از این رو تلاش‌ها برای یافتن ترکیب‌های مؤثر و کم‌خطر افزایش یافته است (Isman, ۲۰۲۰). حشره‌کش‌های با منشأ اسانس‌های گیاهی به دلیل سمیت کمتر برای انسان و موجودات غیرهدف و تجزیه سریع به عنوان جایگزینی مناسب برای حشره‌کش‌های شیمیایی شناخته شده‌اند (Ostovar *et al.*, ۲۰۲۱). همچنین اسانس‌های گیاهی سازگار با محیط زیست میزان مصرف آفت‌کش‌های شیمیایی را کاهش داده و اثر سوء زیست محیطی آنها را به کمترین میزان ممکن می‌رسانند (Bagheri and Dehbozorg, ۲۰۲۳). تحقیقات نشان می‌دهد ترکیبات ثانویه موجود در اسانس برخی گیاهان دارای خواص حشره‌کشی بوده و به عنوان یک سد دفاعی در برابر بسیاری از آفات عمل می‌کند (Ludovit *et al.*, ۲۰۲۲). گواوا (*Psidium guajava*) درختی بومی مناطق گرمسیر آمریکا و متعلق به خانواده موردسانان (Myrtaceae) بوده و ترکیبات اصلی میوه آن شامل انواع ترپنوئیدها، پکتین، روغن‌های فرار و تانن بوده و دارای خاصیت حشره‌کشی می‌باشد (Zou and Liu, ۲۰۲۳). پنج انگشت (*Vitex agnus-castus*) درختچه‌ای بومی نواحی مرکزی آسیا متعلق به خانواده شاپه‌پسندیان (Verbenaceae) با گل‌های آبی رنگ مایل به بنفش می‌باشد. تمام قسمت‌های گیاه دارای نوعی اسانس مخصوص است که مرکب از سینئول، ساینن، پینن و سزکویی‌ترین می‌باشد (Boujbiha *et al.*, ۲۰۲۳). بنابراین با توجه به اهمیت استفاده از اسانس‌های گیاهی سازگار با محیط زیست در کنترل آفات انباری، این مطالعه با هدف بررسی اثر سمیت تنفسی گیاهان گواوا و پنج انگشت بر آفات انباری و شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده هر دو اسانس انجام شد. نتایج این مطالعه می‌تواند در طراحی مدیریت تلفیقی آفات شپشه آرد، شپشه برنج و شپشه قرمز آرد در انبارها مورد استفاده واقع شود.

روش تحقیق

پرورش حشرات

جمعیت اولیه آفات انباری مورد بررسی شامل شپشه آرد، شپشه برنج و شپشه قرمز آرد از سازمان جهاد کشاورزی استان سیستان و بلوچستان تهیه شد. سپس آفات انباری در ظروف پلاستیکی دو لیتری حاوی برنج و آرد سبوس دار درون دستگاه ژرمیناتور با تهویه مناسب و دمای 28 ± 1 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 70 ± 5 درصد و دوره نوری ۱۲:۱۲ ساعت پرورش داده شدند. از حشرات کامل یک تا دو روزه در این آزمایش استفاده شد. برای به دست آوردن حشرات هم سن، ابتدا تمام حشرات کامل موجود در ظروف پرورش جمع آوری شده و پس از سه روز، آزمایش ها با حشرات ظاهر شده در ظرف (حشرات کامل یک تا دو روزه) انجام شد.

اسانس های گیاهی

برگ گیاه گواوا در بهار سال ۱۴۰۲ از منطقه بلوچستان جمع آوری و سرشاخه های گلدار گیاه پنج انگشت از بخش گیاهان دارویی دانشگاه زابل تهیه شد. ابتدا برگ گیاهان گواوا و پنج انگشت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی گراد خشک و آسیاب گردید. اسانس گیری با روش تقطیر با آب انجام شد. در هر نوبت اسانس گیری ۱۰۰ گرم ماده خشک با ۶۰۰ میلی گرم آب مقطر به درون بالن ریخته شد. سپس به مدت سه ساعت و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد با استفاده از دستگاه کلونجر اسانس گیری شد. اسانس های حاصله توسط سولفات سدیم آبگیری شده و تا زمان استفاده در ظروف شیشه ای تیره و در دمای چهار درجه سانتی گراد نگهداری گردید (Bande-Borujeni *et al.*, ۲۰۱۶).

آنالیز اسانس ها

به منظور انجام فرایند آنالیز اسانس گواوا و پنج انگشت، مقدار یک میکرولیتر از هر اسانس به دستگاه گاز کروماتوگرافی (GC) و گاز کروماتوگرافی همراه با متصل به طیف سنج جرمی (GC/MS) تزریق و طیف جرمی ترکیب ها به دست آمد. شناسایی ترکیب ها بر اساس شاخص بازداری و مقایسه طیف جرمی آنها با شاخص های موجود در کتب مرجع و با استفاده از طیف های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه دستگاه انجام گرفت. درصد هر ترکیب با توجه به سطح زیر منحنی آن در طیف کروماتوگرام حاصل از دستگاه GC با روش نرمال کردن سطح منحنی و بدون محاسبه عامل تصحیح صورت گرفت. دستگاه گاز کروماتوگرافی مورد استفاده در این آزمایش GC/MS از نوع Agilnet ۵۷۹۵ با ستون DB-۵ به طول ۳۰ متر، با قطر ۰/۲۵ میکرومتر از نوع HP-۵MS بود. همچنین ضخامت لایه نازک فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر بود. دمای محفظه تزریق ۲۵۰ درجه سانتی گراد، برنامه ریزی حرارتی ستون از ۵۰ تا ۲۹۰ درجه سانتی گراد با افزایش دمای ۵ درجه سانتی گراد در دقیقه، آشکار ساز (FID) با دمای ۲۹۰ درجه سانتی گراد، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت تنظیم گردید. گاز حامل هلیوم با سرعت جریان ثابت یک میلی لیتر در دقیقه در طول تجزیه مورد استفاده قرار گرفت (Safaei-Ghomi *et al.*, ۲۰۰۹).

آزمایش های زیست سنجی

این آزمایش ها در ظروف پلاستیکی با حجم ۵۰ میلی لیتر انجام شد. تعداد ۲۰ عدد حشره بالغ در هر ظرف قرار داده شد. بر اساس آزمایشات مقدماتی پنج غلظت (۱۵، ۳۰، ۴۰، ۴۵ و ۵۵ میکرولیتر) که تلفاتی بین ۸۰-۲۰ درصد ایجاد کردند برای اسانس های گیاهی تعیین شدند. غلظت های مختلف از هر اسانس توسط سمپلر روی کاغذ صافی واتمن شماره یک به قطر درپوش ظروف تعبیه شده تزریق شد. به منظور جلوگیری از تماس حشرات با کاغذ صافی و حذف اثر سمیت تماسی اسانس ها، روی دهانه با توری پوشانده و بلافاصله درپوش ظروف بسته شد. ظروف با کاغذ صافی و بدون تزریق اسانس به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. مرگ و میر حشرات در ظروف تیمار و شاهد پس از گذشت مدت زمان ۷۲ ساعت پس از اسانس دهی ثبت گردید. حشراتی که با نزدیک کردن قلم مو حرکتی از خود نشان ندادند به عنوان مرده در نظر گرفته شدند (Hatami Bavarsad *et al.*, ۲۰۲۰).

تجزیه آماری داده ها

تجزیه پروبیت داده‌های زیست‌سنجی با نرم افزار SPSS (version ۲۴) انجام گرفت و مقدار LC_{۵۰} محاسبه شد. در آزمایش‌های مربوط به مقایسه میانگین داده‌ها برای اصلاح مرگ و میر تیمارها نسبت به شاهد از فرمول آبوت استفاده شد (Abbott, ۱۹۲۵). این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار روی حشرات بالغ یک تا دو روزه انجام شد.

یافته‌ها

ترکیب شیمیایی اسانس‌ها

پس از انجام کروماتوگرافی گازی و آنالیز اسانس‌ها از ۲۳ ترکیب شناسایی شده در اسانس گواوا، ایزوکاریوفیلین با ۳۳/۵۴ درصد، وریدیفلورن با ۱۳/۰۰ درصد و فارنسن با ۱۱/۶۵ درصد بیشترین فراوانی را به خود اختصاص دادند (جدول ۱). همچنین از ۲۳ ترکیب شناسایی شده در اسانس پنج انگشت، ۸۰۱-سینئول با ۳۹/۱۶ درصد بیشترین فراوانی را دارا بود (جدول ۲).

جدول ۱- ترکیبات شیمیایی اسانس گواوا (*Psidium guajava*)

Components	Retention time (Minute)	Area percentage	Kovats Retention Index
α -Thujene	۵.۵۴	۰.۰۸	۹۳۴
Phenylmethanal	۶.۲۱	۰.۰۸	۹۵۹
β -Myrcene	۷.۰۲	۰.۱۰	۹۹۰
<i>dl</i> -Limonene	۸.۲۵	۹.۸۵	۱۰۲۸
۱,۸-Cineole	۸.۳۵	۰.۳۵	۱۰۳۲
<i>cis</i> -Ocimene	۸.۵۱	۰.۲۳	۱۰۳۶
β -Ocimene	۸.۸۷	۰.۱۰	۱۰۴۷
Linalool	۱۰.۷۵	۰.۰۴	۱۱۰۱
α -Copaene	۲۲.۰۴	۲.۸۰	۱۳۷۹
Iso-Caryophyllene	۲۳.۸۳	۳۳.۵۴	۱۴۱۱
Aromadendene	۲۴.۵۶	۱.۸۰	۱۴۲۱
α -Humulene	۲۵.۱۶	۳.۸۴	۱۴۲۸
Alloaromadendrene	۲۵.۴۵	۰.۶۰	۱۴۳۲
α -Amorphene	۲۶.۰۸	۰.۲۳	۱۴۴۰
Seychellene	۲۶.۸۱	۰.۱۹	۱۴۴۹
α -Murolene	۲۷.۰۳	۰.۱۴	۱۴۵۲
α -Caryophyllene	۲۷.۱۱	۰.۰۹	۱۴۵۳
α -Bergamotene	۲۷.۳۴	۰.۱۱	۱۴۵۶
δ -Cadinene	۲۷.۹۲	۱.۷۵	۱۴۶۴
Farnesene	۲۹.۴۴	۱۱.۶۵	۱۴۸۳
Veridiflorene	۳۰.۲۰	۱۳.۰۰	۱۴۹۳
δ -Guaial	۳۱.۶۶	۱.۹۳	۱۵۲۵
τ -Cadinol	۳۲.۸۱	۳.۰۸	۱۵۵۷
Total identified		۸۵.۵۸/	

جدول ۲- ترکیبات شیمیایی اسانس پنج انگشت (*Vitex agnus- castus*)

Components	Retention time (Minute)	Area percentage	Kovats Retention Index
------------	-------------------------	-----------------	------------------------

α -Pinene	۷.۷۲	۱.۰۹	۹۲۶
β - Pinene	۸.۰۳	۲.۲۳	۹۳۴
Sabinene	۹.۶۰	۸.۷۸	۹۵۲
β -Myrcene	۹.۸۰	۶.۴۴	۹۷۴
Isoborneol	۹.۹۰	۲.۲۱	۹۷۷
α -Terpinene	۹.۹۸	۲.۱۱	۹۹۰
Limonene	۱۰.۰۴	۱.۴۳	۱۰۰۸
۱,۸-Cineole	۱۱.۰۴	۳۹.۱۶	۱۰۲۹
trans-Sabinene Hydrate	۱۱.۱۶	۰.۹۳	۱۰۳۲
trans-Caryophyllene	۱۱.۳۵	۳.۱۷	۱۰۳۸
β -Farnesene	۱۱.۷۰	۱.۳۴	۱۰۴۹
α -Humulene	۱۱.۹۲	۱.۱۷	۱۰۶۱
α -Terpinyl Acetate	۱۲.۴۴	۱.۰۲	۱۰۸۹
Bicyclogermacrene	۱۲.۵۱	۱.۰۹	۱۰۹۹
Caryophyllene Oxide	۱۲.۵۷	۱.۹۳	۱۱۴۵
Retinol Acetate	۱۲.۶۳	۱.۷۸	۱۱۸۴
Spathulenol	۱۲.۶۷	۱.۹۷	۱۱۹۰
tau-Cadinol	۱۲.۶۹	۰.۸۲	۱۲۲۸
α -Bisabolol	۱۳.۴۰	۲.۲۶	۱۲۸۷
β -n-Methylionone	۱۴.۷۱	۱.۸۴	۱۳۴۹
Dihydrosclarene	۱۴.۹۴	۲.۵۷	۱۳۵۶
Sclareol	۱۵.۲۲	۴.۳۰	۱۳۶۳
Thunbergol	۱۵.۵۹	۱.۸۶	۱۳۸۷
Total identified		۹۶.۹۶	

بررسی سمیت تنفسی اسانس ها

نتایج تجزیه پروبیت حاصل از تأثیر غلظت های مختلف اسانس گیاهان گواوا و پنج انگشت روی حشره کامل شیشه آرد نشان داد مقدار LC_{50} اسانس گواوا و پنج انگشت به ترتیب ۲۸/۸۱ و ۲۵/۷۴ میکرولیتر بر لیتر هوا به دست آمد. نتایج همچنین نشان داد اسانس پنج انگشت دارای سمیت تنفسی بیشتری علیه حشره کامل شیشه آرد بود (جدول ۳).

جدول ۳- میزان LC_{50} (میکرولیتر بر لیتر هوا) در بررسی اثر سمیت تنفسی اسانس گواوا و پنج انگشت روی حشره کامل شیشه آرد

Essential oil	N*	LC_{50} (μ L/L air) (Upper limit-lower limit)	Slope \pm SE	Degrees of freedom	Chi-square
Guvava	۲۰۰	۲۸.۸۱ (۲۴,۰۴-۳۵,۴۱)	۱.۰۴ ± ۰.۰۳	۳	۱۰.۲۰
Chaste tree	۲۰۰	۲۵.۷۴ (۲۰,۰۴-۳۰,۵۵)	۱.۴۵ ± ۰.۱۱	۳	۷.۱۶

* Number of tested insects

در مورد حشره کامل شیشه برنج نتایج حاکی از این بود که مقدار LC_{50} اسانس گواوا و پنج انگشت به ترتیب برابر ۲۴/۲۷ و ۲۸/۴۰ میکرولیتر بر لیتر هوا بود. بر اساس نتایج به دست آمده میزان سمیت اسانس گواوا بر شیشه برنج بیشتر از اسانس پنج انگشت بود (جدول ۴).

جدول ۴- میزان LC₅₀ (میکرولیتر بر لیتر هوا) در بررسی اثر سمیت تنفسی اسانس گواوا و پنج انگشت روی حشره کامل شیشه برنج

Essential oil	N*	LC ₅₀ . (µl/L air) (Upper limit-lower limit)	Slope ± SE	Degrees of freedom	Chi-square
Guvava	۲۰۰	۲۴.۲۷ (۲۲,۵۰-۳۱,۲۸)	۱.۱۲ ± ۰,۱۷	۳	۱۴.۰۷
Chaste tree	۲۰۰	۲۸.۴۰ (۲۴,۰۰-۳۷,۸۳)	۱.۴۵ ± ۰,۰۳	۳	۹.۹۲

* Number of tested insects

بررسی سمیت تنفسی اسانس گواوا و پنج انگشت علیه حشره کامل شیشه قرمز آرد مقدار LC₅₀ اسانس گواوا و پنج انگشت به ترتیب برابر ۲۸/۳۶ و ۲۲/۷۰ میکرولیتر بر لیتر هوا به دست آمد که نشان دهنده سمیت بیشتر اسانس پنج انگشت بر علیه شیشه قرمز آرد است (جدول ۵).

جدول ۵- میزان LC₅₀ (میکرولیتر بر لیتر هوا) در بررسی اثر سمیت تنفسی اسانس گواوا و پنج انگشت روی حشره کامل شیشه قرمز آرد

Essential oil	N*	LC ₅₀ . (µl/L air) (Upper limit-lower limit)	Slope ± SE	Degrees of freedom	Chi-square
Guvava	۲۰۰	۲۸.۳۶ (۲۵,۱۵-۳۰,۶۸)	۱.۳۷ ± ۰,۱۵	۳	۴.۸۶
Chaste tree	۲۰۰	۲۲.۷۰ (۱۹,۴۶-۲۹,۲۹)	۱.۴۶ ± ۰,۱۵	۳	۱۲.۵۰

* Number of tested insects

نتایج تجزیه واریانس اثر نوع و غلظت اسانس بر مرگ و میر حشرات مورد بررسی نشان داد برهمکنش نوع و غلظت اسانس بر مرگ و میر حشره کامل شیشه آرد، حشره کامل شیشه برنج و حشره کامل شیشه قرمز آرد در سطح احتمال یک درصد معنی دار بود (جدول ۶).

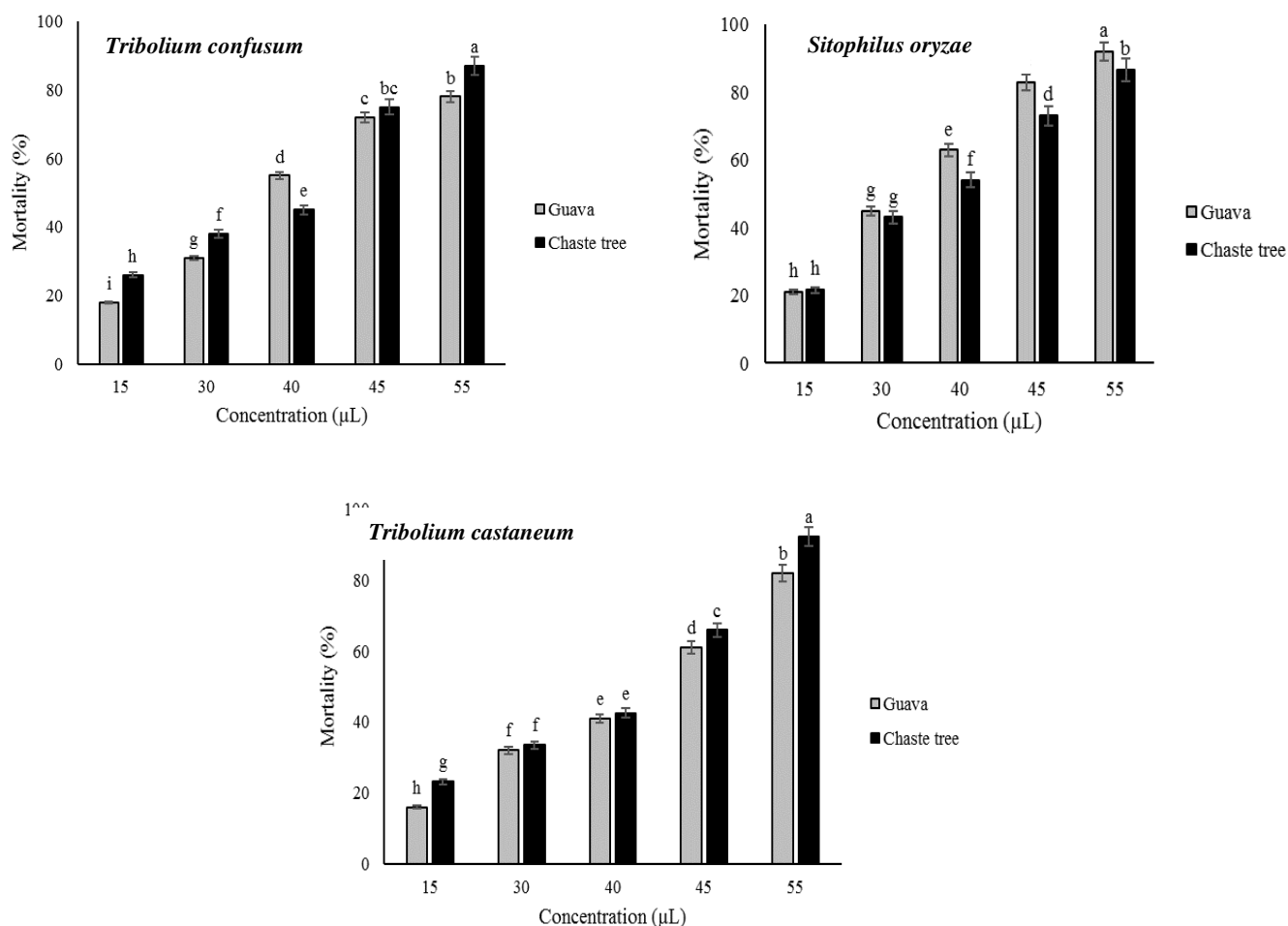
جدول ۶- تجزیه واریانس اثر نوع و غلظت اسانس بر مرگ و میر حشره کامل شیشه آرد، شیشه برنج و شیشه قرمز آرد

SOV	DF	Mean of squares		
		<i>Tribolium confusum</i>	<i>Sitophilus oryzae</i>	<i>Tribolium castaneum</i>
Essential oil	۱	۸۶.۷۰ **	۱۹۳.۳۴ **	۱۹۷.۶۳ **
Concentration	۴	۳۹۰۲.۲۵ *	۴۲۷۱.۳۱ *	۴۳۸۳.۳۰ **
Essential oil × Concentration	۴	۹۱.۹۵ **	۲۱.۵۲ **	۳۰.۸۰ **
Error	۲۰	۳.۳۰	۲.۹۸	۳.۰۶
C.V	--	۹.۴۶	۳.۵۳	۵.۰۰

* and ** significant at ۰,۰۵, ۰,۰۱ levels, respectively.

نتایج نشان داد بیشترین درصد مرگ و میر حشره کامل شیشه آرد در بالاترین غلظت اسانس پنج انگشت (۵۵ میکرولیتر) به دست آمد. کمترین درصد مرگ و میر نیز در تیمار ۱۵ میکرولیتر اسانس گواوا مشاهده شد. افزایش غلظت هر دو نوع اسانس منجر به افزایش درصد مرگ و میر شیشه آرد شد اما افزایش غلظت اسانس پنج انگشت تأثیر چشم گیرتری در افزایش درصد مرگ و میر حشره کامل شیشه آرد داشت (شکل ۱).

بر اساس نتایج به دست آمده بیشترین درصد مرگ و میر حشره کامل شپشه برنج در بالاترین غلظت اسانس گواوا (۵۵ میکرولیتر) به دست آمد. کمترین درصد مرگ و میر نیز در تیمار ۱۵ میکرولیتر اسانس گواوا مشاهده شد که اختلاف معنی داری با اسانس پنج انگشت در همین غلظت نداشت. با افزایش غلظت هر دو نوع اسانس درصد مرگ و میر شپشه برنج افزایش یافت (شکل ۱). بیشترین درصد مرگ و میر حشره کامل شپشه قرمز آرد در بالاترین غلظت اسانس پنج انگشت (۵۵ میکرولیتر) و کمترین درصد مرگ و میر نیز در تیمار ۱۵ میکرولیتر اسانس گواوا مشاهده شد. افزایش غلظت هر دو نوع اسانس درصد مرگ و میر شپشه قرمز آرد را افزایش داد. در غلظت های ۳۰ و ۴۰ میکرولیتر تفاوت معنی داری بین درصد مرگ و میر ایجاد شده توسط اسانس گواوا و پنج انگشت مشاهده نگردید. کاربرد غلظت ۵۵ میکرولیتری اسانس گواوا منجر به افزایش ۵/۱۲ برابری مرگ و میر حشره کامل شپشه قرمز آرد نسبت به غلظت ۱۵ میکرولیتر شد. کاربرد غلظت ۵۵ میکرولیتری اسانس پنج انگشت منجر به افزایش ۳/۹۹ برابری مرگ و میر حشره کامل شپشه قرمز آرد نسبت به غلظت ۱۵ میکرولیتر شد (شکل ۱).



شکل ۱ - اثر نوع و غلظت اسانس بر مرگ و میر حشره کامل شپشه آرد (*Tribolium confusum*)، شپشه برنج (*Sitophilus oryzae*) و شپشه قرمز آرد (*Tribolium castaneum*)

مدیریت آفات انباری به صورت سنتی به ترکیبات شیمیایی وابسته است. کاربرد گسترده آفت کش های شیمیایی مشکلات زیادی برای انسان و محیط زیست ایجاد کرده است. بنابراین جهت کاهش این مخاطرات نیاز به کاربرد برخی جایگزین ها برای آفت کش های شیمیایی احساس می شود (Moravvej *et al.*, ۲۰۱۱). آفت کش های مشتق شده از گیاهان روی برخی از حشرات تأثیر می گذارند و اثر منفی آنها روی محیط و موجودات غیر هدف بسیار اندک است و یا اصلاً وجود ندارد. بسیاری از گیاهان دارای ترکیباتی با خواص حشره کشی هستند که در طبیعت زودتر تجزیه شده و خطر مقاومت آفات به آنها کمتر وجود دارد (Bagheri and Dehbozorg, ۲۰۲۳). بر اساس نتایج حاصل از آنالیز اسانس ها، ترکیبات ایزوکاریوفیلن، وریدیفلورن، فارنسن و لیمونن به ترتیب با ۳۳/۵۴، ۱۳/۰۰، ۱۱/۶۵ و ۹/۸۵ درصد به عنوان اصلی ترین ترکیبات اسانس گواوا و ۸۱-سینئول با ۳۹/۱۶ درصد به عنوان اصلی ترین ترکیب اسانس پنج انگشت شناسایی شد. کاریوفیلن یکی از مهم ترین ترکیبات موجود در اسانس برگ گواوا بوده و خاصیت حشره کشی و سمیت تنفسی این ترکیب توسط محققان گزارش شده است (Ostovar *et al.*, ۲۰۲۱). همچنین گزارش شده است لیمونن و فارنسن موجود در اسانس گیاهان خانواده موردسانان دارای خواص حشره کشی می باشند (Simsek *et al.*, ۲۰۲۳). ۸۱-سینئول به عنوان رایج ترین ترکیب حشره کش در خانواده شاه پسندیان شناخته شده که نوعی مونوترپن با خاصیت حشره کشی است (Neves and Camara, ۲۰۱۶). محققان خاصیت حشره کشی و سمیت تنفسی اسانس های حاوی ترکیب ۸۱-سینئول علیه آفات انباری را بررسی و گزارش کردند این ترکیب پس از تدخین، خاصیت سمی خود را در فضای انبار حفظ کرده و از ورود حشرات جدید به داخل انبار جلوگیری می نماید (Eliopoulos *et al.*, ۲۰۱۵). بررسی اثر ترکیب ۸۱-سینئول روی شپشه آرد (Prates *et al.*, ۱۹۹۸)، شپشه برنج (Obob *et al.*, ۲۰۱۷) و شپشه قرمز آرد (Lee *et al.*, ۲۰۰۴) نشان می دهد این ترکیب با ایجاد سمیت تنفسی موجب افزایش مرگ و میر آفت می گردد. همچنین گزارش شد ۸۱-سینئول، عنوان ترکیب اصلی تشکیل دهنده اسانس *Ocimum kenyanse* مونوترپنی با اثر سمیت تنفسی بالا علیه شپشه قرمز آرد بوده است (Obeng-Ofori *et al.*, ۱۹۹۷).

اثر مثبت اسانس گواوا در افزایش مرگ و میر حشره کامل شپشه برنج می تواند به دلیل اثر سینرژیستی مونوترپن های موجود در اسانس این گیاه مانند لیمونن، فارنسن و ایزوکاریوفیلن باشد که با نتایج سایر تحقیقات هم خوانی دارد (Prates *et al.*, ۱۹۹۸). سمیت تنفسی ایجاد شده علیه شپشه آرد و شپشه قرمز آرد توسط اسانس پنج انگشت بیشتر از گواوا بود و در مورد آفت شپشه برنج اسانس گواوا سمیت تنفسی بیشتری ایجاد کرد. محققان گزارش کردند میزان سمیت تنفسی ایجاد شده و میزان حساسیت آفات به سمیت تنفسی اسانس ها به گونه گیاهی، گونه حشره، غلظت های مختلف اسانس و مدت زمان قرار گرفتن در معرض اسانس بستگی دارد (Fierascu *et al.*, ۲۰۲۰).

غلظت کشنده ۵۰ درصد اسانس گواوا و پنج انگشت، برای شپشه آرد پس از ۷۲ ساعت به ترتیب برابر با ۲۸/۸۱ و ۲۵/۷۴ میکرولیتر بر لیتر هوا بود. غلظت کشنده ۵۰ درصد اسانس پنج انگشت برای شپشه برنج و شپشه قرمز آرد به ترتیب برابر با ۲۸/۴۰ و ۲۲/۷۰ میکرولیتر بر لیتر هوا بود. محققان گزارش کردند سمیت تنفسی اسانس گونه *Eucalyptus nicholii* که حاوی مقادیر بالای ۸۱-سینئول می باشد بر شپشه برنج ۱۳/۷۰ میکرولیتر بر لیتر هوا بود (Lee *et al.*, ۲۰۰۴). در پژوهشی با بررسی خواص حشره کشی اسانس پنج انگشت بر آفات انباری مشخص شد میزان LC_{۵۰} اسانس پنج انگشت بر شپشه برنج و شپشه قرمز آرد کمتر از میزان LC_{۵۰} به دست آمده در این پژوهش می باشد. این موضوع می تواند به دلیل شرایط متفاوت اجرای آزمایش و حساسیت گونه های آفت ناشی از تفاوت های رفتاری و فیزیولوژیکی باشد (Saad *et al.*, ۲۰۲۲).

بررسی اثر اسانس گواوا و پنج انگشت در پژوهش حاضر نشان داد هر دو گیاه روی حشرات کامل شپشه آرد، شپشه برنج و شپشه قرمز آرد سمیت تنفسی ایجاد می کنند. میزان این سمیت در غلظت های مختلف متفاوت بوده و با افزایش غلظت هر دو نوع اسانس افزایش می یابد. به عبارتی هر چه غلظت اسانس بیشتر شود، میزان تلفات آفت نیز افزایش پیدا می کند. اما اسانس گواوا علیه شپشه برنج و اسانس پنج انگشت علیه شپشه آرد و شپشه قرمز آرد موثرتر عمل کرد، به طوری که اسانس گواوا در غلظت ۱۵ میکرولیتر علیه شپشه برنج ۲۱ درصد تلفات و در غلظت ۵۵ میکرولیتر حدود ۹۲ درصد تلفات ایجاد کرد. اسانس پنج انگشت در غلظت ۵۵ میکرولیتر منجر به ایجاد تلفات ۸۷ و ۹۳ درصدی شپشه آرد و شپشه قرمز آرد شد. افزایش درصد مرگ و میر شپشه آرد (Mahmoodvand *et al.*, ۲۰۱۳)، شپشه برنج (Amini *et al.*,

(۲۰۱۷) و شیشه قرمز آرد (Moravvej *et al.*, ۲۰۱۱) با افزایش غلظت اسانس‌های گیاهی توسط محققان زیادی گزارش شده است. در تحقیقی اثر سمیت تنفسی اسانس پوست پرتغال بر روی حشرات کامل شیشه برنج و شیشه قرمز آرد بررسی و گزارش شد با افزایش غلظت اسانس، میزان مرگ و میر هر دو آفت افزایش یافت (Kabiri and Amiri, ۲۰۱۳). محققان بیان کردند حساسیت شیشه برنج به ترپنوئیدهای موجود در اسانس گواوا مانند لیمونن و فارنسن به دلیل اثر بسیار قوی این اسانس بر ممانعت از فعالیت آنزیم ای تی پی است (Guo *et al.*, ۲۰۰۹). حساسیت بیشتر شیشه آرد و شیشه قرمز آرد به اسانس پنج انگشت به دلیل وجود ۸۱-سینئول در ترکیب این اسانس است که با نتایج سایر تحقیقات مطابقت دارد (Abdelgaleil *et al.*, ۲۰۱۶). مطالعات بیوشیمیایی نشان می‌دهد وجود ترکیب (۸۱-سینئول در اسانس پنج انگشت با ممانعت از فعالیت آنزیم استیل کولین استراز منجر به افزایش تلفات آفت می‌گردد (Obeng-Ofori *et al.*, ۱۹۹۷).

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که اسانس گواوا بر شیشه برنج و اسانس پنج انگشت بر شیشه آرد و شیشه قرمز آرد سمیت تنفسی ایجاد می‌کند و می‌تواند در برنامه‌های مدیریتی آفات به کار برده شود. البته بررسی‌های بیشتری برای ارزیابی هزینه‌ها و نحوه تأثیر این عصاره در انبارها لازم است. با در نظر گرفتن آثار مخرب زیست‌محیطی آفت‌کش‌های شیمیایی و کم‌خطر بودن ترکیبات گیاهی برای انسان و محیط زیست به نظر می‌رسد می‌توان از این نوع ترکیبات گیاهی، پس از انجام پژوهش‌های بیشتر، به عنوان جایگزین مناسب در کنترل آفات استفاده نمود.

منابع

- Abbott, W.S. ۱۹۲۵. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, ۱۸(۲): ۲۶۵-۲۶۷.
- Abdelgaleil, S. A., Mohamed, M. I., Shawir, M. S. and Abou-Taleb, H. K. ۲۰۱۶. Chemical composition, insecticidal and biochemical effects of essential oils of different plant species from Northern Egypt on the rice weevil, *Sitophilus oryzae* L. *Journal of Pest Science*, ۸۹: ۲۱۹-۲۲۹.
- Amini, S., Khani, M., Ahvazi, M. and Farshiani, M.E. ۲۰۱۷. Chemical compounds and insecticidal effects of three medicinal plant essential oils on *Sitophilus oryzae* L. *Iranian Journal of Forest and Range Protection Research*, ۱۵(۱): ۱-۲۸.
- Bagheri, F. and Dehbozorg, Z. ۲۰۲۳. Insecticidal and repellency properties of apple of sodom, *Calotropis procera* extract on greenhouse whitefly. *Plant Pest Research*, ۱۳(۳): ۱۷-۲۶.
- Bande-Borujeni, S., Zandi-Sohani, N. and Ramezani, L. ۲۰۱۶. Chemical composition and insecticidal effects of essential oil from *Citrus aurantium* L. leaves on three major stored product pests. *Plant Protection*, ۳۸(۴): ۲۳-۳۱.
- Boujbiha, M.A., Chahdoura, H., Adouni, K., Ziani, B.E.C., Snoussi, M., Chakroun, Y. and Mosbah, H. ۲۰۲۳. Wild *Vitex agnus-castus* L.: phytochemical characterization, acute toxicity, and bioactive properties. *Molecules*, ۲۸(۱۳): ۵۰۹۶.
- Campbell, J.F. and Runnion, C. ۲۰۰۳. Patch exploitation by female red flour beetles, *Tribolium castaneum*. *Journal of Insect Science*, ۳(۱): ۱-۸.
- Eliopoulos, P.A., Hassiotis, C.N., Andreadis, S.S. and Porichi, A.E. ۲۰۱۵. Fumigant toxicity of essential oils from basil and spearmint against two major pyralid pests of stored products. *Journal of Economic Entomology*, ۱۰۸(۲): ۸۰۵-۸۱۰.
- Fierascu, R.C., Fierascu, I.C., Dinu-Pirvu, C.E., Fierascu, I. and Paunescu, A. ۲۰۲۰. The application of essential oils as a next-generation of pesticides: Recent developments and future perspectives. *Zeitschrift für Naturforschung*, ۷۵(۷): ۱۸۳-۲۰۴.
- Guo, Z.B., Feng, J.T. and Zhang, X. ۲۰۰۹. Inhibition of Na⁺, K⁺-ATPase in housefly (*Musca domestica* L.) by terpinen-۴-ol and its ester derivatives. *Agricultural Sciences in China*, ۸(۱۲): ۱۴۹۲-۱۴۹۷.
- Hatami Bavarsad, S., Zandi-Sohani, N. and Rajabpour, A. ۲۰۲۰. Fumigant toxicity and repellency of some essential oils against *Callosobruchus maculatus* (Col.: Bruchidae). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, ۳۶(۳): ۴۰۴-۴۱۶.

- Isman, M.B. ۲۰۲۰. Botanical insecticides in the twenty-first century—fulfilling their promise? *Annual Review of Entomology*, ۶۵: ۲۳۳-۲۴۹.
- Kabiri, M. and Amiri, B. ۲۰۱۳. Fumigant toxicity of essential oil extracted from orange peel *Citrus sinensis* (L.) on rice weevil *Sitophilus oryzae* (L.) (Col., Curculionidae) and flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst) (Col: Tenebrionidae). *Journal of Entomological Research*, ۶(۱): ۴۳-۵۲.
- Lee, B.H., Annis, P.C. and Choi, W.S. ۲۰۰۴. Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and ۱, ۸-cineole against ۳ major stored-grain insects. *Journal of Stored Products Research*, ۴۰(۵): ۵۵۳-۵۶۴.
- Ludovit, C., Fusková, A., Hlávková, D. and Habuštová, O. ۲۰۲۲. Essential oils: useful tools in storage-pest management, *Plants* ۱۱, ۳۰۷۷: ۴۱۴-۴۳۵.
- Mahmoodvand, S., Shakarami, J. and Vafaei-Shoushtari, R. ۲۰۱۳. Fumigation toxicity of four plant essential oils on adults of *Tribolium castaneum* (Herbst) and *T. confusum*. *Journal of Entomological Research*, ۶(۴): ۳۶۷-۳۷۸.
- Moravvej, G., Of-Shahraki, Z. and Azizi-Arani, M. ۲۰۱۱. Contact and repellent activity of *Elletaria cardamomum* (L.) Maton. And *Bunium persicum* (Boiss.) Fedtsch. oils against *Tribolium castaneum* (Herbst) adults (Coleoptera: Tenebrionidae). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, ۲۲(۲): ۲۲۴-۲۳۸.
- Nayak, M.K., Daglish, G.J., Phillips, T.W. and Ebert, P.R. ۲۰۲۰. Resistance to the fumigant phosphine and its management in insect pests of stored products: a global perspective. *Annual Review of Entomology*, ۶۵: ۳۳۳-۳۵۰.
- Neves, R. and Camara, C.A. ۲۰۱۶. Chemical composition and acaricidal activity of the essential oils from *Vitex agnus-castus* L. (Verbenaceae) and selected monoterpenes. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, ۸۸: ۱۲۲۱-۱۲۳۳.
- Obeng-Ofori, D., Reichmuth, C.H., Bekele, J. and Hassanali, A. ۱۹۹۷. Biological activity of ۱, ۸ cineole, a major component of essential oil of *Ocimum kenyense* (Ayobangira) against stored product beetles. *Journal of Applied Entomology*, ۱۲۱(۱-۵): ۲۳۷-۲۴۳.
- Oboh, G., Ademosun, A.O., Olumuyiwa, T.A., Olasehinde, T.A., Ademiluyi, A.O. and Adeyemo, A.C. ۲۰۱۷. Insecticidal activity of essential oil from orange peels (*Citrus sinensis*) against *Tribolium confusum*, *Callosobruchus maculatus* and *Sitophilus oryzae* and its inhibitory effects on acetylcholinesterase and Na⁺/K⁺-ATPase activities. *Phytoparasitica*, ۴۵: ۵۰۱-۵۰۸.
- Ostovar, E., Khodayari, S. and Aramideh, S. ۲۰۲۱. Fumigant toxicity of essential oils of *Citrus limon* L., *Citrus sinensis* L. and *Citrus aurantium* L. peels on three important stored products pests. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, ۳۷(۵): ۸۵۹-۸۷۱.
- Pinho, A.I., Wallau, G.L., Nunes, M.E.M., Leite, N.F., Tintino, S.R., da Cruz, L.C. and Franco, J.L. ۲۰۱۴. Fumigant activity of the *Psidium guajava* var. *pomifera* (Myrtaceae) essential oil in *Drosophila melanogaster* by means of oxidative stress. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, ۲۰۱۴.
- Pourian, H., Khoobdel, M. and Alizadeh, M. ۲۰۱۹. Stored-grains pests and their control with emphasis on military food warehouses in Iran: a review. *Journal of Military Medicine*, ۲۱(۴): ۳۱۳-۳۲۴.
- Prates, H.T., Santos, J.P., Waquil, J.M., Fabris, J.D., Oliveira, A.B. and Foster, J.E. ۱۹۹۸. Insecticidal activity of monoterpenes against *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of stored products Research*, ۳۴(۴): ۲۴۳-۲۴۹.
- Russo, S., Cabrera, N., Chludil, H., Yaber-Grass, M. and Leicach, S. ۲۰۱۵. 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*, ۷۵(۳): ۳۷۵-۳۷۹.
- Saad, M.M., El Gendy, A.N.G., Elkhateeb, A.M. and Abdelgaleil, S.A. ۲۰۲۲. Insecticidal properties and grain protective efficacy of essential oils against stored product insects. *International Journal of Tropical Insect Science*, ۴۲(۶): ۳۶۳۹-۳۶۴۸.
- Safaei-Ghomi, J., Ebrahimabadi, A.H., Djafari-Bidgoli, Z. and Batooli, H. ۲۰۰۹. GC/MS analysis and in vitro antioxidant activity of essential oil and methanol extracts of *Thymus caramanicus* and its main constituent carvacrol. *Food Chemistry*, ۱۱۵(۴): ۱۵۲۴-۱۵۲۸.
- Simsek, O. and Sonmez, E. ۲۰۲۳. The importance of plant essential oils in the fight against warehouse pests. *Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, ۳(۱): ۱۳۷-۱۵۱.
- Subekti, N., Nur, H., Fanidya, A., Susanti, S., Saputri, R. and Indrawati, P. ۲۰۱۹. Chlorpyrifos organophosphate and essential oils activities against *Callosobruchus maculatus* (F.) warehouse pests. *Journal of Physics and Series*, ۱۴۰۲ (۵): ۰۵۵۲۴.
- Zou, X. and Liu, H. ۲۰۲۳. A review of meroterpenoids and of their bioactivity from guava (*Psidium guajava* L.). *Journal of Future Foods*, ۳(۲): ۱۴۲-۱۵۴.

Chemical composition and insecticidal activity of essential oils of two medicinal plants, guava (*Psidium guajava*) and chaste tree (*Vitex agnus-castus*)

Mahdi Khedri

Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Zabol, P.O. Box: ۹۸۶۱۳-۳۵۸۵۶,
Zabol, Iran

Ali Mirshekar

Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Zabol, P.O. Box: ۹۸۶۱۳-۳۵۸۵۶,
Zabol, Iran

Abbas Khani

Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Zabol, P.O. Box: ۹۸۶۱۳-۳۵۸۵۶,
Zabol, Iran

Zeynab Mohkami

Institute of Agricultural Research, Research Institute of Zabol, Zabol, Iran

Abstract

Due to the creation of numerous problems caused by the indiscriminate utilize of chemical pesticides, the use of alternative low-risk compounds such as plant essential oils has been considered. In this research, the respiratory toxicity effect of two plant essential oils, guava (*Psidium guajava*) and chaste tree (*Vitex agnus- castus*) on adults of *Tribolium confusum*, *Sitophilus oryzae* and *Tribolium castaneum* was investigated. Also, the constituent compounds of both types of essential oils were identified by GC/MS. The experimental treatments included two types of plant essential oils and five concentrations (۱۵, ۳۰, ۴۰, ۴۵ and ۵۵ $\mu\text{L/L}$) of both types of essential oils, which were implemented factorial in a completely randomized design with three replications. The results showed that Iso-Caryphyllene, Veridiflorene, Farnesene and Limonene were the main components of guava essential oil and ۱,۸-cineole as the main component of chaste tress essential oil. LC_{50} guava essential oil on adults of *Tribolium confusum*, *Sitophilus oryzae* and *Tribolium castaneum* was equal to ۲۸,۸۱, ۲۴,۲۷ and ۲۸,۳۶ $\mu\text{L/L}$ air, respectively. LC_{50} Chaste tress essential oil n adults of *Tribolium confusum*, *Sitophilus oryzae* and *Tribolium castaneum* were equal to ۲۵,۴۷, ۲۸,۴۰ and ۲۲,۷۰ $\mu\text{L/L}$ air, respectively. Guava essential oil *Sitophilus oryzae* and chaste tress essential oil against *Tribolium confusum* and *Tribolium castaneum* caused Fumigation toxicity and with increasing concentration of both types of essential oil, the percentage of mortality were increased. So, these essential oils can be used as low-risk botanical insecticides to control stored product pests.

Key words: stored pests, essence, botanical insecticide, toxicity, GC-MS