مقاله پژوهشی

Research Article

نشریه علمی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران
جلد ۳۹، شماره ۲، صفحه ۲۲۳-۲۱۳ (۱۴۰۲)

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijmapr.2023.359201.3198
شناسه دیجیتال (DOR): 20.1001.1.17350905.1402.39.2.5.2

بررسی حساسیت شپشه آرد (*Tribolium confusum* Herbest.) به نانوکپسول اسانس اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus* Labill.)

زهره کلوندی[۱]، جواد ناظمی رفیع[۲]، امین صادقی[۳]*، عبداله سلیمی[۴]، رمضان کلوندی[۵] و مریم نگهبان[۶]

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

۲- استادیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

۳*- دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران، پست‌الکترونیک: a.sadeghi@uok.ac.ir

۴- استاد، گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

۵- استادیار، زیست‌شناسی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، همدان، ایران

۶- دانشیار، بخش تحقیقات آفت‌کش‌ها، مؤسسه تحقیقات گیاه‌پزشکی کشور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: تیر ۱۴۰۱ تاریخ اصلاح نهایی: آبان ۱۴۰۱ تاریخ پذیرش: دی ۱۴۰۱

چکیده

امروزه ابداع و بکارگیری روش‌های کنترل غیرشیمیایی آفات کشاورزی ازجمله موارد مهم کاربردی در برنامه‌های مدیریتی آفات در بیشتر جوامع دنیاست. در این میان حجم وسیعی از مطالعات روی آفت‌کش‌های زیست بنیاد متمرکز گردیده است. در این راستا فرمولاسیون‌های جدیدی از حشره‌کش‌های گیاهی به‌عنوان جایگزینی مناسب برای آفت‌کش‌های مصنوعی توسعه یافته است. در این پژوهش سمّیت تنفسی و تماسی اسانس خالص و فرموله شده اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus* Labill.) و همچنین دوام سمّیت تنفسی نانوکپسول اسانس آن روی حشرات کامل شپشه آرد ((*Tribolium confusum* Herbest. (Col., Tenebrionidae) در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرارگرفت. براساس نتایج بدست آمده، مقدار LC_{50} اسانس خالص و فرموله شده در مدت ۲۴ ساعت در سمّیت تنفسی به‌ترتیب برابر ۴۶/۳۹ و ۱۴۷۲ میکرولیتر بر لیتر هوا بدست آمد. مقدار LT_{50} اسانس فرموله شده در سه غلظت LC_{25}، LC_{50} و LC_{90} به‌ترتیب برابر با ۱۲/۳، ۱۰/۳۹ و ۰/۳۶ روز تعیین گردید. همچنین، نتایج نشان داد سمّیت تماسی اسانس فرموله شده (LC_{50}=19030 $\mu l.l^{-1}$) روی این حشره بسیار بالاتر از سمّیت تماسی اسانس خالص (LC_{50}=3770 $\mu l.l^{-1}$) می‌باشد. بنابراین با توجه به پایداری خوب اسانس فرموله شده در سمّیت تنفسی و تأثیر بسیار زیاد در سمّیت تماسی، پس از آزمایش‌های تکمیلی می‌توان از نانوکپسول اسانس اکالیپتوس در مدیریت این آفت مهم استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: شپشه آرد (*Tribolium confusum* Herbest.)، اسانس گیاهی، سمّیت تنفسی، سمّیت تماسی، نانوکپسول.

مقدمه

یکی از آفات انباری مهم در انبارها شپشه آرد (*Tribolium confusum* Herbest.) است. خسارتی که این حشره به آرد وارد می‌کند بسیار زیاد است، زیرا هر لارو روزانه معادل هم وزن خود آرد می خورد و با فضولات و پوسته‌های خود آن را آلوده می‌کند و از این جهت ارزش نانوایی آرد پایین می‌آید و در صورت آلودگی شدید و فراوانی فضولات، آرد تلخ می‌شود و بوی نامطبوعی از آن به مشام می‌رسد (Madrid *et al.*, 1990). حشرات کامل و لاروها علاوه بر آرد از دانه‌های شکسته غلات و سایر

Copyright: © 2023 by the authors. This is an open access, peer-reviewed article published by Research Institute of Forests and Rangelands (http://ijmapr.areeo.ac.ir/) and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

محصولات انباری نیز تغذیه می‌کنند (Sepasgozarian, 1966). کنترل این آفت انباری بیشتر با استفاده از آفت‌کش‌ها و ترکیبات شیمیایی گازی مانند متیل بروماید و فسفین انجام می‌شود که به‌عنوان سموم مؤثر و با تأثیر سریع و نفوذ آسان نسبت به سایر مواد شیمیایی کاربرد بیشتری دارند (Taylor, 1994). باوجوداین متیل بروماید در کشورهای توسعه یافته به دلیل اثرهای تخریبی در لایه ازن از سال ۲۰۱۵ کنار گذاشته شده است (Aksoy *et al.*, 2008). استفاده از گاز فسفین به‌عنوان سم توصیه شده برای کنترل این حشره باعث ایجاد اختلالات کروموزومی در افرادی شده که در تماس مستقیم با این سم هستند. علاوه بر این، مقاومت آفات انباری نسبت به فسفین از کشورهای بسیاری گزارش شده است (Nayak *et al.*, 2020). همچنین سایر مشکلات ازجمله اثرهای سوء بر موجودات زنده و غیر هدف، از دست دادن اثربخشی و باقیمانده سموم باعث شده نیاز به آفت‌کش‌های امن‌تر و محافظ محصولات انباری موضوعی ضروری باشد (Nayana & Ritu, 2017). یکی از منابع بالقوه برای تولید آفت‌کش‌های جایگزین، مواد تولید شده به‌وسیله گیاهان است که اثر سوء کمتری روی محیط‌زیست دارند (Park *et al.*, 2002). اسانس‌های گیاهی ازجمله ترکیب‌های ثانویه می‌باشند که حاوی تعداد زیادی از ترکیب های آروماتیک گیاهی هستند و به‌دلیل طیف وسیع فعالیت، سمّیت کم روی موجودات غیر هدف، ناپایداری آنها در طبیعت و معاف از قوانین ثبت آفت‌کش‌ها توجه بسیاری را به خود جلب کرده‌اند (Isman, 2006). با وجود این مزایا و کارایی حشره‌کشی بالا، کاربرد آنها به‌دلیل فرّاریت بالا و ناپایدار بودن بدلیل تجزیه توسط نور، اکسیژن و درجه حرارت محدود است (Campos *et al.*, 2019). در همین راستا در سال‌های اخیر برای برطرف کردن این معایب و امکان استفاده عملی از اسانس‌ها در مدیریت آفات پژوهش‌های زیادی در جهت کپسوله یا نانو کردن آنها انجام شده است (Pereira *et al.*, 2022). بنابراین تحقیقات متعددی در زمینه بررسی تأثیر فرمولاسیون نانو و کپسوله‌کردن ترکیب‌های گیاهی به‌عنوان جایگزین یا مکمل حشره‌کش‌های شیمیایی برای حفاظت محصولات کشاورزی و انباری از آفات انجام شده است (Melanie *et al.*, 2022).

Sabbour و Abd El-Aziz (۲۰۱۹) خاصیت حشره‌کشی چهار نانوکپسول اسانس گیاهی: *Allium sativum*، *Pimpinella anisum*، *Rosemarinus officinalis* و *Eucalyptus globulus* را در روی لارو سن سوم پروانه‌های آفات انباری *Ephestia kuehniella* و *Ephestia cautella* مطالعه کرده‌اند. اخیراً هم هشت اسانس گیاهی فرموله شده به روش نانو- امولسیون شامل: *Pimpinella anisum*، *Artemisia vulgaris*، *Foenicum vulgare*، *Allium sativum*، *Lavandula angustifolia*، *Rosmarinus officinalis* و *Salvia officinalis* روی شپشه آرد آزمایش شده است (Palermo *et al.*, 2021).

هدف از این تحقیق نیز بررسی و دستیابی به ترکیب‌های کم‌خطر برای کنترل یکی از آفات مهم انباری به‌نام شپشه آرد (*Tribolium confusum* Herbest) با استفاده از اسانس خالص و فرموله شده اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus* Labill.) است.

مواد و روش‌ها

حشرات

از منبع شپشه آرد *Tribolium confusum* Herbest. پرورش یافته در آزمایشگاه سم‌شناسی گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه کردستان برای انجام آزمایش استفاده گردید. آزمایش در دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵±۶۰٪ انجام شد.

اسانس

برای تهیه اسانس، ابتدا برگ‌های گیاه اکالیپتوس خشک شده در سایه را به کمک آسیاب برقی به‌صورت پودر درآورده، سپس ۴۰ گرم از گیاه پودر شده همراه با ۶۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر با کمک دستگاه اسانس‌گیری طرح

کلونجر در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به روش تقطیر با آب اسانس‌گیری شد. با استفاده از سولفات سدیم از اسانس آبگیری شد و اسانس‌های تهیه شده تا زمان استفاده در ظروف شیشه‌ای به حجم ۲ میلی‌لیتر با روپوش آلومینیومی در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Sadeghi *et al*., 2016).

فرموله کردن اسانس خالص اکالیپتوس

فرمولاسیون نانوکپسول اسانس اکالیپتوس به روش رسوب‌دهی به کمک نمک به روش امولسیون روغن در آب (O/W) براساس روش Negahban و همکاران (۲۰۱۳) با تغییراتی به‌شرح زیر انجام شد. ابتدا محلولی یکنواخت از نشاسته در آب تهیه شد، سپس امولسیون‌کننده توئین ۸۰ اضافه گردید تا مخلوطی کاملاً یکنواخت از پلیمر و حلال تحت تنش تهیه شود. در مرحله بعد اسانس گیاهی به صورت قطره قطره اضافه گردید. سپس روغن گیاهی سینرژیست برای انجام بهتر فرایند فرمولاسیون اضافه شد. بعد از اینکه پلیمر دیواره‌ای در اطراف ذرات عصاره تشکیل گردید، مخلوط با استفاده از هموژنایزر با دور ۱۰۰۰۰ تا ۱۶۰۰۰ دور بر دقیقه در دمای ۶۰ تا ۶۵ درجه سانتی‌گراد در مدت زمان ۳ ساعت هموژنایز شد تا فرایند تکمیل گردد.

آزمایش‌های زیست‌سنجی

الف- سمّیت تنفسی اسانس خالص و فرموله شده روی حشرات کامل

آزمایش زیست‌سنجی براساس روش Keita و همکاران (۲۰۰۱) انجام شد. ابتدا طی آزمایش‌های مقدماتی، دامنه غلظت‌ها برای اسانس خالص و فرموله شده اکالیپتوس تعیین شد، بر این اساس پنج غلظت همراه شاهد که باعث مرگ و میر در دامنه ۱۰ تا ۹۰٪ در روی حشرات شدند تعیین گردید. سپس تعداد ۱۰ عدد حشره کامل شپشه آرد ۷-۱ روزه داخل ظروف شیشه‌ای درپوش‌دار به حجم ۱۴۰ میلی‌لیتر، قطر ۴ و ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر قرار داده و کاغذ صافی را به قطر ۲ سانتی‌متر به دهانه ظرف مورد نظر چسبانده و با کمک میکروسمپلر ۲، ۵، ۸، ۱۰ و ۱۲ میکرولیتر از اسانس اکالیپتوس خالص (معادل ۱۴/۲۸، ۳۵/۷، ۵۷/۱۲، ۷۱/۴ و ۸۵/۶۸ میکرولیتر بر لیتر هوا) و غلظت‌های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر فرموله شده نانو حاوی اسانس اکالیپتوس (معادل ۳۵۷، ۷۱۴، ۱۴۲۸، ۲۱۴۲ و ۲۸۵۶ میکرولیتر بر لیتر هوا) روی کاغذ صافی ریخته شد. بلافاصله درب ظرف با نوار پارافیلم محکم بسته شد و میزان تلفات بعد از ۲۴ ساعت ثبت گردید. حشراتی که فاقد حرکت در پاها، دو حلقه انتهایی شکم یا شاخک‌ها بودند، مرده تلقی شدند. در شاهد نیز کاغذ صافی فقط به آب آغشته شد. آزمایش‌ها در ۴ تکرار و ۵ غلظت همراه با شاهد (بدون اسانس) و برای هر تیمار ۱۰ حشره و در مجموع ۲۴۰ عدد حشره کامل در شرایط دمایی ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵±۶۰٪ در شرایط نوری ۱۰ ساعت روشنایی و ۱۴ ساعت تاریکی انجام شد (Sadeghi *et al*., 2016).

ب- سمّیت تنفسی اسانس فرموله شده برای تعیین LT_{50}

اسانس فرموله شده بر خلاف اسانس خالص در ۲۴ ساعت اولیه اثر کشندگی مطلوبی نداشت، بنابراین برای بدست آوردن اثرهای تدخینی فرمولاسیون حاوی اسانس اکالیپتوس به مدت زمان بیشتری برای آزمایش احتیاج بود. در همین راستا سه غلظت LC_{25}، LC_{50} و LC_{90} بدست آمده از آزمایش سمّیت تنفسی اسانس اکالیپتوس را انتخاب کرده و برای تعیین دوام سمّیت تنفسی مورد استفاده قرار گرفت.

به منظور انجام این آزمایش، ابتدا ۳۰ عدد حشره کامل ۷-۱ روزه شپشه آرد درون ظروف شیشه‌ای به حجم ۱۴۰ میلی‌لیتر قرار داده شد. سپس ۲۵/۹، ۴۶/۳۹ و ۱۴۰/۳۶ میکرولیتر ماده مؤثره (معادل ۳۶، ۶۴ و ۱۹۶ میکرولیتر بر لیتر هوا) از اسانس فرموله شده اکالیپتوس روی کاغذ صافی ریخته شد. بلافاصله درپوش شیشه‌ها با نوار پارافیلم مسدود شد تا مانع از نفوذ اسانس به بیرون

شود. شمارش مرگ و میر حشرات تا ۱۷ روز بعد از اسانس‌دهی روزانه انجام شد. حشراتی که قادر به حرکت سر، پا و شاخک نبودند مرده تلقی شدند (مشاهده چشمی). آزمایش‌ها در ۳ تکرار و برای هر تیمار ۳۰ حشره و در مجموع ۹۰ عدد حشره، شرایط دمایی ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۵±۶۰٪، شرایط نوری ۱۰ ساعت روشنایی و ۱۴ ساعت تاریکی انجام شد.

ج- سمّیت تماسی

برای بدست آوردن محدوده غلظت‌ها، ابتدا آزمایش‌های مقدماتی برای بدست آوردن حداقل و حداکثر غلظت انجام شد. غلظت‌های اصلی تعیین و آزمایش‌های اصلی به‌صورت زیر انجام گردید. برای تهیه غلظت‌های اسانس خالص از اتانول ۹۶٪ به‌همراه آب به‌عنوان حلال استفاده شد. بدین منظور مقادیر ۱/۰۵، ۱/۴۵، ۱/۸۵، ۲/۲۵ ، ۲/۶۵ و ۳/۰۵ میلی‌لیتر از اسانس خالص در ۲ میلی‌لیتر (برای غلظت آخری ۱/۹۵) اتانول خالص حل شده و با آب مقطر به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شد تا غلظت‌های ۲۱۰۰۰۰، ۲۹۰۰۰۰، ۳۷۰۰۰۰، ۴۵۰۰۰۰، ۵۳۰۰۰۰ و ۶۱۰۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر تهیه شود. همچنین برای تهیه غلظت‌های اسانس فرموله شده نانو مقدار ۰/۴، ۰/۶۵، ۰/۹، ۱/۱، ۱/۳۵ و ۱/۵۵ میلی‌لیتر از فرمولاسیون اسانس (۱۰٪ ماده مؤثره) برداشته شد. سپس با آب مقطر به حجم ۵ میلی‌لیتر رسانده شد تا غلظت‌های ۸۰۰۰، ۱۳۰۰۰، ۱۸۰۰۰، ۲۲۰۰۰، ۲۷۰۰۰ و ۳۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر تهیه شود. از غلظت‌های تهیه شده، یک میلی‌لیتر از اسانس با استفاده از دستگاه برج پاشش (ساخت شرکت Burkard انگلیس) با فشار ۲ بار روی پتری‌دیش‌های حاوی ۱۰ حشره کامل شپشه آرد اسپری‌پاشی شد. بلافاصله درب پتری در روی پتری‌دیش قرار داده شد (به‌منظور تهویه بهتر، مرکز درب پتری به قطر ۲ سانتی‌متر سوراخ و با توری پوشانده شد). در ظرف شاهد مقدار یک میلی‌لیتر از اتانول خالص اسپری‌پاشی شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت از زمان اسانس‌دهی تعداد حشرات مرده در ظروف تیمار و شاهد شمارش و ثبت گردید. در این آزمایش هر تیمار با ۴ تکرار در شرایط دمایی ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۵±۶۰٪، شرایط نوری ۱۰ ساعت روشنایی و ۱۴ ساعت تاریکی انجام گردید.

تجزیه آماری داده‌ها

تمام آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. محاسبه و برآورد LC_{25}، LC_{50}، LC_{90} و LT_{50} از روش تجزیه پروبیت (Abbott, 1925) به‌وسیله نرم‌افزار Polo-PC و برای رسم خطوط پروبیت از نرم‌افزار (SPSS V. 16) استفاده شد. همچنین برای مقایسه میانگین درصد مرگ و میر ایجاد شده ناشی از غلظت‌های مختلف از روش تجزیه واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) از نرم‌افزار (SPSS V. 16) استفاده گردید. علاوه بر این از نرم‌افزار (Excel 2010) در تهیه نمودارها استفاده شد.

نتایج

سمّیت تنفسی

الف- سمّیت تنفسی اسانس خالص گیاه اکالیپتوس بر روی حشرات کامل شپشه آرد

براساس نتایج بدست آمده مقدار LC_{50} سمّیت تنفسی اسانس خالص برای حشرات کامل شپشه آرد برابر ۴۶/۳۹ میکرولیتر بر لیتر هوا می‌باشد که نشان‌دهنده حساسیت بالای شپشه آرد به اسانس اکالیپتوس می‌باشد (جدول ۱). همچنین مقایسه میانگین غلظت‌ها در آزمایش سمّیت تنفسی اسانس اکالیپتوس *E. globulus* روی حشره *T. confusum* در مدت ۲۴ ساعت اسانس‌دهی با آزمون دانکن در سطح آماری ۵٪ نشان داد (جدول ۲) که بین تیمارها اختلاف معنی‌دار وجود دارد (f=56.17; df=4; p-value=0).

جدول ۱- سمّیت تنفسی اسانس خالص اکالیپتوس (***Eucalyptus globulus***) روی حشرات کامل شپشه آرد (***Tribolium confusum***)

Table 1. Respiratory toxicity of pure *Eucalyptus globulus* essential oil on adult insects of *Tribolium confusum*

Essential oil	n	b± SE	a±SE	χ^2(df)	$\mu l.l^{-1}$) (LC_{50}
Pure	240	0.68±4.44-	0.4±2.66	20.18(4)	(38.85-54.68)* 46.39

a: intercept; b:slope; n:number of insects; *95% lower and upper confidence limits.

جدول ۲- مقایسه میانگین درصد تلفات (± خطای استاندارد) در غلظت‌های مختلف اسانس خالص اکالیپتوس (***Eucalyptus globulus***) روی حشرات کامل شپشه آرد (***Tribolium confusum***) در سمّیت تنفسی

Table 2. Means comparison of mortality percentage (± SE) in different concentrations of pure *Eucalyptus globulus* essential oil on adult insects of *Tribolium confusum* in respiratory toxicity

Concentration ($\mu l.l^{-1}$)	Mean percentage of mortality ± SE
14.28	0.47 d±12.5
35.70	0.62 cd±32.5
57.12	0.40 bc ±55.0
71.40	1.80 ab±70. 0
85.68	0.64 a±85.0

In each column, the means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

جدول ۳- سمّیت تنفسی اسانس فرموله شده اکالیپتوس (***Eucalyptus globulus***) روی حشرات کامل شپشه آرد (***Tribolium confusum***)

Table 3. Respiratory toxicity of formulated *Eucalyptus globulus* essential oil on adult insects of *Tribolium confusum*

Essential oil	n	b±SE	a±SE	χ^2(df)	LC_{50} ($\mu l.l^{-1}$)
Formulated	240	0.43±2.89	1.37±9.17	2.53(4)	(1217.1-1795.4)* 1472

a: intercept; b:slope; n:number of insects; *95% lower and upper confidence limits.

جدول ۴- مقایسه میانگین درصد تلفات (± خطای استاندارد) در غلظت‌های مختلف اسانس فرموله شده اکالیپتوس (***Eucalyptus globulus***) روی حشرات کامل شپشه آرد (***Tribolium confusum***) در سمّیت تنفسی

Table 4. Means comparison of mortality percentage (± SE) in different concentrations of formulated *Eucalyptus globulus* essential oil on adult insects of *Tribolium confusum* in respiratory toxicity

Concentrations ($\mu l.l^{-1}$)	Mean percentsge of mortality ± SE
357	0.57 c ±6.6
714	1.52 bc± 16.6
1428	1.59 b ±40.0
2142	1.82 a± 66.6
2856	1.52 a ±85.0

In each column, the means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

ب- سمّیت تنفسی فرموله شده اسانس گیاه اکالیپتوس بر روی حشرات کامل شپشه آرد

براساس نتایج حاصل، دوز کشنده ۵۰٪ (LC_{50}) اسانس فرموله شده بر روی حشرات کامل شپشه آرد بعد از ۲۴ ساعت برابر ۱۴۷۲ میکرولیتر بر لیتر هوا می‌باشد (جدول ۳). همچنین نتایج بدست آمده در بررسی تأثیر غلظت‌های مورد استفاده از فرمولاسیون حاوی اسانس اکالیپتوس *E. globulus* روی شپشه آرد *T. confusum* در

مدت ۲۴ ساعت نشان داد (جدول ۴) که بین تیمارها در سطح آماری ۵٪ اختلاف معنی‌دار وجود داشت (f=20.20; df=4; p-value=0/000).

ج- دوام اسانس فرموله شده گیاه اکالیپتوس در سمّیت تنفسی

زمان کشنده ۵۰٪ (LT_{50}) محاسبه شده برای بررسی دوام اسانس فرموله شده اکالیپتوس روی حشرات کامل شپشه آرد در غلظت ۳۶ میکرولیتر بر لیتر هوا ماده مؤثره ۱۲/۰۳ روز تعیین گردید، در حالی که مقادیر دوام سمّیت تنفسی در غلظت ۶۴ میکرولیتر بر لیتر هوا ماده مؤثره ۱۰/۳۹ روز بود. همچنین در غلظت ۱۹۶ میکرولیتر بر لیتر ماده مؤثره توانست مدت زمان لازم برای مرگ و میر ۵۰٪ حشره کامل شپشه آرد را ۰/۳۶ روز کند (جدول ۵).

جدول ۵- زمان کشندگی ۵۰٪ (LT_{50}) اسانس فرموله شده اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*) در غلظت‌های مختلف روی حشرات کامل شپشه آرد (*Tribolium confusum*) در سمّیت تنفسی

Table 5. Formulated *Eucalyptus globulus* essential oil LT_{50} in different concentrations on adult insects of *Tribolium confusum* in respiratory toxicity

Concentrations ($\mu l.l^{-1}$)	n	b± SE	a±SE	χ^2(df)	LT_{50} (day)
36	90	1.10±11.13-	0.93± 10.30	3.92 (15)	12.30 (11.57-12.50)*
64	90	0.34±3.58	0.34 ±-3.60	27.11 (15)	10.39 (9.21-11.87)
196	90	0.81±0.19	0.35±0.16	8.12 (15)	0.36 (0.29-0.93)

a: intercept; b:slope; n:number of insects; *95% lower and upper confidence limits.

سمّیت تماسی

الف- سمّیت تماسی اسانس خالص گیاه اکالیپتوس روی حشرات کامل

براساس نتایج بدست آمده مقدار LC_{50} اسانس خالص گیاه اکالیپتوس بر روی حشرات کامل شپشه آرد بعد از ۲۴ ساعت کاربرد اسانس، برابر ۳۷۷۷۰۰ میکرولیتر بر لیتر بود (جدول ۶).

نتایج بدست آمده در بررسی تأثیر غلظت‌های مورد استفاده از اسانس اکالیپتوس *E. globulus* روی شپشه آرد *T. confusum* در مدت ۲۴ ساعت نشان داد که بین تیمارها در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌دار وجود داشت (f=18.97; df=5; p-value=0.000) و اسانس اکالیپتوس تأثیر بالایی روی حشرات کامل شپشه آرد داشته است (جدول ۷).

جدول ۶- سمّیت تماسی اسانس خالص اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*) روی حشرات کامل شپشه آرد (*Tribolium confusum*)

Table 6. Contact toxicity of pure *Eucalyptus globulus* essential oil on adult insects of *Tribolium confusum*

Essential oil	n	b± SE	a±SE	χ^2(df)	LC_{50} ($\mu l.l^{-1}$)
Pure	280	4.70±31.47-	0.63±4.89	2.65(5)	377700 (34580.2-410559.1)*

a: intercept; b:slope; n:number of insects; *95% lower and upper confidence limits.

ب- سمّیت تماسی اسانس فرموله شده گیاه اکالیپتوس روی حشرات کامل

براساس نتایج حاصل از LC_{50} بر روی حشرات کامل شپشه آرد بعد از ۲۴ ساعت کاربرد فرمولاسیون حاوی اسانس، مقدار LC_{50} فرمولاسیون اسانس برابر ۱۹۰۳۰ میکرولیتر بر لیتر است (جدول ۸). نتایج بدست آمده در بررسی تأثیر غلظت های مورد استفاده از فرمولاسیون حاوی اسانس اکالیپتوس *E. globulus* روی شپشه آرد *T. confusum* در مدت ۲۴ ساعت نشان داد که بین تیمارها در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌دار وجود داشت (f=15.08; df=5; p-value=0.000). فرمولاسیون حاوی اسانس اکالیپتوس تأثیر بالایی روی حشرات کامل شپشه آرد داشته است (جدول ۹).

جدول ۷- مقایسه میانگین درصد تلفات (± خطای استاندارد) غلظت‌های مختلف اسانس خالص اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*) روی حشرات کامل شپشه آرد (*Tribolium confusum*) در سمّیت تماسی

Table 7. Means comparison of mortality percentage (± SE) in different concentrations of pure *Eucalyptus globulus* essential oil on adult insects of *Tribolium confusum* in contact toxicity

Concentrations ($\mu l.l^{-1}$)	Mean percentsge of mortality ± SE
210000	0.40 d ± 10.0
290000	0.64 cd ± 35.0
370000	0.85 bc ±42.5
450000	0.62 ab ± 62.5
530000	0.85 a ± 72.5
610000	0.40 a ± 90.0

In each column, the means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

جدول ۸- سمّیت تماسی اسانس فرموله شده اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*) روی حشرات کامل شپشه آرد (*Tribolium confusum*)

Table 8. Contact toxicity of formulated *Eucalyptus globulus* essential oil on adult insects of *Tribolium confusum*

Essential oil	n	b± SE	a±SE	χ^2(df)	LC_{50} ($\mu l.l^{-1}$)
Formulated	280	2.23±17.03-	0.52±3.98	5.95 (5)	19030 (17116.4-21122.9)*

a: intercept; b:slope; n:number of insects; *95% lower and upper confidence limits.

جدول ۹- مقایسه میانگین درصد تلفات (± خطای استاندارد) غلظت‌های مختلف اسانس فرموله شده اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus*) روی حشرات کامل شپشه آرد (*Tribolium confusum*) در سمّیت تماسی

Table 9. Means comparison of mortality percentage (± SE) in different concentrations of formulated *Eucalyptus globulus* essential oil on adult insects of *Tribolium confusum* in contact toxicity

Concentrations ($\mu l.l^{-1}$)	Mean percentsge of mortality ± SE
8000	0.40 c ± 10.0
13000	0.70 c ± 20.0
18000	0.47 b ± 47.5
22000	0.70 b ± 60.0
27000	1.25 b ± 62.5
31000	0.70 a ± 90.0

In each column, the means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Duncan test).

بحث

نانوکپسوله کردن اسانس‌ها می‌تواند به‌عنوان روشی برای افزایش پایداری آنها در نظر گرفته‌شود و شانس استفاده کاربردی را برای آنها فراهم کند. تکنیک‌های زیادی برای تولید نانوذرات و نانوکپسول‌ها وجود دارد که هر یک از آنها پیچیدگی خاص خود را دارند (Yang *et al*., 2004). اخیراً نانوکپسوله کردن اسانس اکالیپتوس با استفاده از دو مزوپور سیلیکات (mesoporous silicates) روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات (*Callosobruchus maculatus*) مطالعه شده است (Ebadollahi *et al*., 2022).

بررسی‌های انجام شده در این پژوهش هم نشان داد که اسانس حاصل از اکالیپتوس بر روی حشرات کامل شپشه آرد فعالیت حشره‌کشی قابل قبولی ایجاد کرد. علاوه بر این با افزایش غلظت اسانس گیاهی درصد تلفات حشرات نیز

افزایش یافت که نتایج این بررسی‌ها با نتایج سایر محققان مطابقت داشت. همانطور که نتایج حاصل از آزمایش های Huang و همکاران (۲۰۰۰)، Tripathi و همکاران (۲۰۰۰) و Sahaf (۲۰۰۶) نیز مؤید این مطلب است افزایش غلظت اسانس‌های مورد مطالعه باعث افزایش میزان مرگ و میر افراد می‌گردد. یکی از دلایل تأثیر ترکیب های گیاهی روی حشرات مرتبط با مونوترپنوئیدها از ترکیب های غالب در اسانس گیاهی هستند که خاصیت حشره‌کشی آنها به اثبات رسیده است. این مواد به دلیل داشتن فشار بخار بالا و ایجاد سمّیت تنفسی می‌توانند در کنترل آفات انباری مؤثر باشند. ۸،۱-سینئول یکی از این مونوترپنوئیدهاست که دارای سمّیت تماسی و تنفسی روی افراد بالغ شپشه آرد می‌باشد (Tripathi *et al*., 2000). براساس تحقیق Lee و همکاران (۲۰۰۲) اسانس اکالیپتوس با LC_{50} برابر با ۲۹/۸ میکرولیتر بر لیتر هوا اثر حشره‌کشی قابل توجهی روی شپشه برنج دارد. همچنین طبق گزارش Talei و Meshkatalsadat (۲۰۰۷) اسانس اکالیپتوس بر روی سوسک *Trogoderma granarium* سمّیت تنفسی بالایی دارد که در غلظت ۳۱۲ میکرولیتر بر لیتر هوا منجر به تلفات بیش از ۹۵ درصدی لاروهای این آفت شده است. علاوه‌براین، Negahban و همکاران (۲۰۰۷) سمّیت تنفسی سه گونه اکالیپتوس بر روی شپشه آرد را بین ۱۱/۵۹ و ۳۳/۵ میکرولیتر بر لیتر هوا گزارش کردند. اما در بررسی انجام شده در این مطالعه سمّیت تنفسی اسانس اکالیپتوس بر روی شپشه آرد با LC_{50} برابر ۴۶/۳۹ میکرولیتر بر لیتر هوا بود، علت این تفاوت می‌تواند ناشی از تفاوت در گونه گیاه و نیز گونه حشره مورد بررسی باشد. بنابراین به‌نظر می‌رسد میزان سمّیت اسانس برای آفات انباری تحت تأثیر ترکیب‌های شیمیایی اسانس است که وابسته به منبع گیاهی، فصل، موقعیت اکولوژیکی، روش استخراج، زمان استخراج و بخشی از گیاه که برای استخراج اسانس مورد استفاده قرار گرفته است، در نتیجه اثرهای بیولوژیکی مختلفی روی حشرات خواهند داشت (Regnault-Roger *et al*., 2012).

میزان سمّیت تنفسی اسانس خالص اکالیپتوس نسبت به فرمولاسیون حاوی اسانس اکالیپتوس ۳۲ برابر بیشتر بود. در این مطالعه مقایسه اثر تنفسی اسانس اکالیپتوس با فرمولاسیون حاوی اسانس اکالیپتوس نشان داد که اثر حشره‌کشی فرمولاسیون حاوی اسانس بعد از ۲۴ ساعت به‌طور چشمگیری بسیار کمتر از اسانس خالص بود و به مدت زمان بیشتری نیاز داشت تا باعث تلفات معنی‌داری در حشره مورد مطالعه گردد. با توجه به اینکه اسانس در پوششی به‌صورت کپسوله در آمده است و آزادسازی آن تدریجی بوده، در مدت زمان مشخص مقدار ماده فعال آزاد شده نسبت به اسانس‌های خالص کمتر بوده، به همین منظور میزان سمّیت آن کاهش پیدا می‌کند. اسانس خالص اثر کشندگی ضربه‌ای بالاتری دارد اما دوام کشندگی اسانس در حالت فرمولاسیون بیشتر می‌باشد.

علاوه بر این، در بررسی سمّیت تماسی روی حشرات کامل شپشه آرد مشخص شد که سمّیت تماسی فرمولاسیون حاوی اسانس اکالیپتوس به‌طور معنی‌داری از سمّیت تماسی اسانس خالص اکالیپتوس بیشتر است و اسانس اکالیپتوس از طریق کپسوله شدن مرگ و میر حشرات کامل شپشه آرد را نسبت به اسانس خالص اکالیپتوس پس از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از اسانس‌دهی به‌ترتیب ۱۹/۸۴ و ۳۳/۱۵ برابر افزایش می‌دهد. بنابراین به‌نظر می‌رسد اسانس با استفاده از روش کپسوله کردن می‌تواند در روش اسپری روی سطح بدن حشره سمّیت خود را نسبت به اسانس خالص افزایش دهد که با نتایج پژوهش‌های Ziaee و همکاران (۲۰۱۲) مطابقت دارد که با بررسی نانوژل اسانس گیاه زنیان و زیره سبز نشان دادند، غلظت‌های ۲۲ میکرولیتر بر لیتر هوا از نانوژل اسانس زنیان و ۲۰ میکرولیتر بر لیتر هوا از نانوژل اسانس زیره سبز به‌ترتیب باعث ۶۴٪ و ۶۱٪ تلفات روی *T. confusum* Herbest. پس از ۲۴ ساعت شدند. در صورتی که همین غلظت‌ها از اسانس خالص زنیان و زیره سبز به‌ترتیب ۴٪ و ۲۷٪ تلفات را در ۲۴ ساعت پس از اسانس‌دهی ایجاد کردند که با هم مطابقت داشتند. درمجموع با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان گفت با کپسوله کردن اسانس اکالیپتوس با استفاده از روش مناسب می‌توان علاوه

بر افزایش دوام حشره‌کشی امکان کاربردی شدن اسانس را فراهم کرد.

سپاسگزاری

از معاون محترم آموزشی و پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه کردستان به دلیل حمایت مالی این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

References

- Abbott, W.S., 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. Journal of Economic Entomology, 18: 265-267.
- Aksoy, U., Şen, F. and Meyvacı, K.B., 2008. Effect of magnesium phosphide and alternative to methyl bromide, on dried fig quality. Acta Horticulture, 798: 285-292.
- Campos, E.V.R., Proenc, P.L.F., Oliveira, J.L., Bakshi, M., Abhilash, P.C. and Fraceto, L.F., 2019. Use of botanical insecticides for sustainable agriculture: Future perspectives. Ecological Indicators, 105: 483-495.
- Ebadollahi, A., Jalali Sendi, J., Setzer, W.N. and Changbunjong, T., 2022. Encapsulation of *Eucalyptus largiflorens* Essential Oil by Mesoporous Silicates for Effective Control of the Cowpea Weevil, Callosobruchus maculatus (Fabricius) (Coleoptera: Chrysomelidae). Molecules, 27(11): 3531.
- Huang, Y., Lam, S.L. and Ho, S.H., 2000. Bioactivity of essential oil from *Elletaria cardamomum* (L.) Maton. to Sitophilus zeamais Motschulsky and *Tribolium castaneum* Herbst. Journal of Stored Products Research, 36: 107-117.
- Isman, M.B., 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annual Review of Entomology, 51: 45-66.
- Keita, S.M., Vincent, C., Schmidt, J.P. and Arnason, J.T., 2001. Insecticidal effects of *Thuja occidentalis* (Cupressaceae) essential oil on *Callosobruchus maculatus* (Col., Bruchidae). Canadian Journal of Plant Science, 81(1): 173-177.
- Lee, S. Peterson, C.J. and Coats, J.R., 2002. Fumigation toxicity of monoterpenoids to several stored product insects. Journal of Stored Products Research, 39: 77-85.
- Madrid, F.J., White, N.D.G. and Loschiavo, S.R., 1990. Insects in stored cereals, and their association with farming practices in Southern Manitoba. Canadian Entomologist, 122: 515-523.
- Melanie, M., Miranti, M., Kasmara, H., Malini, D.M., Husodo, T., Panatarani, C., Joni, I.M. and Hermawan, W., 2022. Nanotechnology based bioactive antifeedant for plant protection. Nanomaterials, 12: 630.
- Nayak, M.K., Daglish, G.J., Phillips, T.W. and Ebert, P.R., 2020. Resistance to the fumigant phosphine and its management in insect pests of stored products: A global perspective. Annual Review of Entomology, 65: 333-350.
- Nayana, S. and Ritu, S., 2017. Effects of Chemical Fertilizers and Pesticides on Human Health and Environment. International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology, 10(6): 675-680.
- Negahban, M., Moharramipour, S. and Sefidkon, F., 2007. Fumigant toxicity of essential oil from *Artemisia sieberi* Besser against three stored-product insects. Journal of Stored Products Research, 43(2): 123-128.
- Negahban, N., Moharramipour, S., Zandi, M. and Hashemi, S.A., 2013. Efficiency of nanoencapsulated essential oil of *Artemisia sieberi* Besser on nutritional indices of *Plutella xylostella*. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research, 29(3): 692-708.
- Palermo, D., Giunti, G., Laudani, F., Palmeri, V. and Campolo, O., 2021. Essential oil-based nano-biopesticides: formulation and bioactivity against the confused flour beetle *Tribolium confusum*. Sustainability, 13: 9746.
- 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.
- Pereira, K.d.C., Quintela, E.D., do Nascimento, V.A., da Silva, D.J., Rocha, D.V.M., Silva, J.F.A., Arthurs, S.P., Forim, M.R., Silva, F.G. and Cazal, C.d.M., 2022. Characterization of *Zanthoxylum rhoifolium* (Sapindales: Rutaceae) essential oil nanospheres and insecticidal effects to *Bemisia tabaci* (Sternorrhyncha: Aleyrodidae). Plants, 11: 1135.
- Regnault-Roger C., Vincent, C. and Arnason, J.T., 2012. Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. Annual Reviw of Entomology, 57: 405-24.
- Sabbour, M.M. and Abd El-Aziz, S.E.S. 2019. Impact of certain nano oils against *Ephestia kuehniella* and *Ephestia cutella* (Lepidoptera-Pyralidae) under laboratory and store conditions. Bulletin of the

- Taylor, R.W.D., 1994. Methyl bromide is there any future for this noteworthy fumigant. Journal of Stored Products Research, 30: 253-260.
- Tripathi, A., Prajapati, V., Aggarwal, K., Khanuja, S. and Kumar, S., 2000. Repellency and toxicity of oil from *Artemisia annua* to certain stored-product beetles. Journal of Economic Entomology, 93: 43-47.
- Yang, Y.C., Choi, H.C., Choi, W.S., Clark, J.M. and Ahn, Y.J., 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.
- Ziaee, M., Moharramipour, S. and Mohsenifar, A., 2012. Insecticidal effect of nanogel loaded with essential oils of *Carum copticum* on flour weevil *Tribolium castaneum*. 20th Iranian Plant Protection Congress, Shiraz, Iran, 26-29 August.

National Research Centre, Berlin, 43(1), DOI: 10.1186/s42269-019-0129-3.
- Sadeghi, A., Pourya, M. and Smagghe, G., 2016. Insecticidal activity and composition of essential oils from *Pistacia atlantica* subsp. kurdica against the model and stored product pest beetle *Tribolium castaneum*. Phytoparasitica, 44: 601-607.
- Sahaf, B., 2006. Insecticide effects of essential oil of *Carum copticum* and *Vitex pseudonegundo* on some storage pests. Ms.C Thesis, University of Tarbiat Modares, Iran.
- Sepasgozarian, H., 1966. Storage Pests of Iran and Their Control Methods. University Tehran Press, 225p.
- Talei, Gh.R. and Meshkatalsadat, M.H., 2007. Antibacterial activity and chemical constitutions of essential oils of *Thymus scieus* and *Th. eriocalyx* from Iran. Pakistan Journal of Biological Sciences, 10(21), 3923-3926.

Study on *Tribolium confusum* Herbest. susceptibility to *Eucalyptus globulus* Labill. essential oil nanocapsule

Z. kalvandi[1], J. Nazemi Rafie[1], A. Sadeghi[2*], A. salimi[3], R. Kalvandi[4] and M. Negahban[5]

1- Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture Kurdistan University, Sanandaj, Iran
2*- Corresponding author, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture Kurdistan University, Sanandaj, Iran
E-mail: a.sadeghi@uok.ac.ir
3- Department of Chemistry, Faculty of Science Kurdistan University, Sanandaj, Iran. uok.ac.ir
4- Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Hamedan, Iran
5- Iranian Research Institute of Plant Protection, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Received: July 2022 Revised: November 2022 Accepted: December 2022

Abstracts

Nowadays, the invention and application of agricultural pest control non-chemical methods is one of the important and practical ones in pest management programs in most societies of the world. Meanwhile, a large number of studies have been focused on bio-based pesticides. In this regard, new formulations of plant insecticides have been developed as a suitable alternative to artificial pesticides. In this research, respiratory and contact toxicity of pure and formulated *Eucalyptus globulus* Labill. essential oil and respiratory toxicity durability of its essential oil nanocapsules on adult insects of *Tribolium confusum* Herbest. (Col., Tenebrionidae) were investigated under laboratory conditions. According to the results, for respiratory toxicity, the pure and formulated essential oil LC_{50} at 24 h was obtained 46.39 and 1472 $\mu l.l^{-1}$ of air, respectively. The formulated essential oil LT_{50} in three concentrations of LC_{25}, LC_{50}, and LC_{90} was determined 12.3, 10.39, and 0.36 days, respectively. The results also showed that the contact toxicity of formulated essential oil (LC_{50}= 19030 $\mu l.l^{-1}$) on this insect was much higher than the contact toxicity of pure one (LC_{50}= 3770 $\mu l.l^{-1}$). Therefore, due to the good stability of the formulated essential oil in respiratory toxicity and the excellent effect in contact toxicity, after additional tests, eucalyptus essential oil nanocapsules could be used in the management of this important pest.

Keywords: *Tribolium confusum* Herbest., plant essential oil, respiratory toxicity, contact toxicity, nanocapsules.