

## Oviposition deterrent effects and ovicidal activity of three species of Iranian endemic savory on Mediterranean flour moth (*Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae))

Mina Kouhjani Gorji<sup>1\*</sup>

<sup>1\*</sup>- Corresponding author, Forest and Range Protection Research Division, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural and Natural Resources Research Center (AREEO), Tehran, Iran, E-mail: Kouhjani@rifr-ac.ir

Received: September 2023

Revised: September 2023

Accepted: September 2023

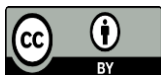
### Abstract

**Background and objectives:** Considering the high damage caused by storage pests and the adverse effects of chemical pesticides, using plant compounds is considered one of the best options for controlling storage pests. Essential oils are an effective plant compound with a high fumigant effect. In this study, Oviposition deterrence and ovicidal activities of three native species of savory were investigated to select the savory essential oil with the highest insecticidal properties.

**Methodology:** First, three native species of savory (*Satureja sahendica*, *Satureja khuzistanica*, and *Satureja macrantha*) were collected, and essential oils were extracted after drying. All three essential oils were injected into a gas chromatograph and gas chromatograph coupled with a mass spectrometer to determine chemical compounds. Experiments were performed in a completely randomized design and were evaluated under laboratory conditions (27±1°C, 65±10 R.H. and 16:8 L:D). To determine the oviposition deterrence of the oils, one pair of one-day-old adult moths was exposed to different concentrations of the oils for four days, and the number of deposited eggs was counted. Also, one-day-old eggs were exposed to three oil concentrations at 3, 12, and 25 µl essential oil/l air. The percentage of egg hatching was recorded after 96 hours. The experiment was performed in 5 replications.

**Results:** The results showed that carvacrol content, as the principal active ingredient of *S. khuzistanica*, was 91.5%. Thymol (48.59%), p-cymene (59.5%) and γ-terpinene (18.57%) had the highest amount in the essential oil of *S. sahendica*, respectively. The dominant components of *S. macrantha* essential oil were p-cymene (59.5%), γ-terpinene and thymol (13.5%). All three essential oils had the Oviposition deterrent activity, and the rate of Oviposition deterrence increases with increasing concentration of essential oils. Different concentrations of three savory essential oils showed that at a concentration of one microliter with *S. khuzistanica* essential oil, more than 50% oviposition deterrent activity was observed. In comparison, oviposition deterrent activity was observed for two other savory essential oils at a concentration of 3 microliters. Among the investigated essential oils, *S. khuzistanica* had the highest effect of oviposition deterrent activity on Mediterranean flour moths. Also, there is a significant difference in the ovicidal activity of *S. khuzistanica* compared to the others, which can be attributed to its high carvacrol content. In contrast to the low insecticidal effect of the essential oil of *S. macrantha*, it has had a very suitable effect of oviposition deterrent activity.

**Conclusion:** All three types of savory essential oils had sound oviposition deterrence effects and ovicidal activity, but *S. khuzistanica* essential oil in the lowest concentration had better oviposition deterrence effects and ovicidal activity than *S. sahendica* and *S. macrantha*, that it is also more acceptable from an economic point of view. Based on the results of this research, the essential oils of native Iranian savory spices can control storage pests; only high volatility and insolubility in water are the main limitations in the widespread use of essential oils. However, the nanoencapsulated essential oil, through the controlled release of active ingredients, overcomes the restrictions of plant essential oil usage in storage. Therefore, more studies are



needed to use essential oils in pest control using this method.

**Keywords:** *Satureja khuzistanica* Jamzad, *Satureja sahendica* Bornm., *Satureja macrantha* C. A. Mey., Mediterranean flour moth, Oviposition deterrence, ovicidal activity.

## اثرهای بازدارندگی از تخم‌ریزی و تخم‌کشی سه گونه مرزه بومی ایران روی شب‌پره مدیترانه‌ای آرد (*Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae))

مینا کوه‌جانی گرچی\*

\*- نویسنده مسئول، استادیار پژوهشی، بخش تحقیقات حمایت و حفاظت جنگلها و مراتع، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و

ترویج کشاورزی، تهران، ایران، پست الکترونیک: Kouhjani@rifr-ac.ir

تاریخ پذیرش: شهریور ۱۴۰۲

تاریخ اصلاح نهایی: شهریور ۱۴۰۲

تاریخ دریافت: شهریور ۱۴۰۲

### چکیده

سابقه و هدف: با توجه به خسارت بالای آفات انباری و اثرهای نامطلوب سموم شیمیایی، استفاده از ترکیبات گیاهی یکی از بهترین گزینه‌ها برای کنترل آفات انباری محسوب می‌شود. اسانس‌ها، دسته‌ای از ترکیبات مؤثر گیاهی هستند که دارای اثر تدخینی بالایی می‌باشند. در این پژوهش اثر بازدارندگی از تخم‌ریزی و تخم‌کشی اسانس سه گونه مرزه بومی روی شب‌پره آرد (*Ephestia kuehniella*) بررسی شد، تا اسانس مرزه‌ای که دارای بالاترین خاصیت حشره‌کشی است، انتخاب شود.

مواد و روش‌ها: ابتدا سه گونه مرزه بومی به نام‌های مرزه خوزستانی (*Satureja khuzistanica* Jamzad)، مرزه سهندی (*Satureja sahendica* Bornm.) و مرزه ماکرانتا (*Satureja macrantha* C. A. Mey.) جمع‌آوری شده و بعد از خشک شدن به روش تقطیر با آب اسانس‌گیری شدند. هر سه اسانس برای تعیین ترکیبات شیمیایی با دستگاه کروماتوگرافی گازی و دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل شده به طیف‌سنجی جرمی تجزیه شدند. آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی در شرایط آزمایشگاهی (۲۷±۱) درجه سلسیوس، ۶۵±۱۰٪ رطوبت نسبی و ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) بررسی شد. به دلیل بررسی اثر بازدارندگی تخم‌ریزی، از یک جفت حشره کامل نر و ماده یک‌روزه استفاده شد و چهار روز بعد از اسانس‌دهی تعداد تخم‌های گذاشته شده شمارش شدند. همچنین برای تخم‌های یک‌روزه، از هر اسانس ۳ غلظت شامل ۳، ۱۲ و ۲۵ میکرولیتر بر لیتر هوا استفاده گردید و پس از ۹۶ ساعت بعد از اسانس‌دهی، درصد تفریح تخم محاسبه شد. آزمایش در ۵ تکرار انجام شد.

نتایج: نتایج نشان داد که کارواکرول ترکیب اصلی در مرزه خوزستانی (*S. khuzistanica*) را تشکیل می‌داد و در حدود ۹۱/۵٪ بود. تیمول (۴۸/۶٪)، پارا-سیمن (۲۱/۹٪) و گاما-ترینین (۱۸/۶٪) بیشترین مقدار ترکیبات را در مرزه سهندی (*S. sahendica*) داشتند و ترکیبات اصلی در اسانس مرزه ماکرانتا (*S. macrantha*) پارا-سیمن (۵۹/۵٪)، گاما-ترینین و تیمول (۱۳/۵٪) بود. هر سه اسانس، دارای خاصیت بازدارندگی از تخم‌ریزی بودند که میزان بازدارندگی از تخم‌ریزی با افزایش غلظت اسانس، افزایش یافت. غلظت‌های مختلف از سه اسانس مرزه نشان داد که میزان بازدارندگی از تخم‌ریزی در غلظت یک میکرولیتر برای اسانس مرزه خوزستانی، ۵۳/۷٪ و برای مرزه سهندی و ماکرانتا حدود ۴۰٪ بود. مقدار ۵۰٪ بازدارندگی از تخم‌ریزی برای دو اسانس دیگر با غلظت ۳ میکرولیتر مشاهده شد. از میان اسانس‌های مورد بررسی، مرزه خوزستانی بیشترین کشندگی و بازدارندگی از تخم‌ریزی را روی شب‌پره مدیترانه‌ای آرد نشان داد که دلیل آن مربوط به محتوای بالای کارواکرول مرزه خوزستانی نسبت به دو گونه دیگر مرزه است. برخلاف اثر حشره‌کشی کم اسانس *S. macrantha*، اثر بسیار خوبی را روی خاصیت بازدارندگی از تخم‌ریزی داشت.

نتیجه‌گیری: هر سه اسانس مرزه اثرهای خوب تخم‌کشی و ممانعت از تخم‌ریزی داشتند اما اسانس *S. khuzistanica* در کمترین غلظت خواص تخم‌کشی و بازدارندگی از تخم‌ریزی بهتری نسبت به *S. sahendica* و *S. macrantha* داشت که اثرگذاری در دوزهای کمتر اسانس، از نظر اقتصادی نیز توجیه‌پذیرتر است. براساس نتایج این تحقیق، اسانس مرزه های بومی ایران توانایی کنترل آفات انباری را دارد، تنها فراریت بالا و نامحلول بودن در آب محدودیت اصلی در استفاده گسترده از اسانس‌ها می‌باشد. با این حال، اسانس

نانو کپسول شده از طریق رهائش کنترل آن، بر محدودیت‌های استفاده از اسانس‌های گیاهی در انبار غلبه می‌کند. بنابراین مطالعات بیشتری برای استفاده از اسانس‌ها در کنترل آفات با استفاده از این روش مورد نیاز است.

واژه‌های کلیدی: *Satureja khuzistanica* Jamzad، *Satureja sahendica* Bornm، *Satureja macrantha* C. A. Mey. شب‌پره مدیترانه‌ای آرد، ممانعت از تخم‌ریزی، تخم‌کشی.

## مقدمه

حدود یک سوم مواد غذایی در دنیا در زمان فرایند داشت، برداشت و انبار کردن توسط آفات از بین می‌رود که باعث به‌وجود آمدن خسارت اقتصادی قابل ملاحظه‌ای شده است (Mathews et al., 2007). آفات انباری شامل تعداد زیادی از حشرات سخت بالپوش، بال پولکدار و کنه‌ها بوده که به دلیل تولیدمثل بالا، همه‌جازی و پلی‌فاژ بودن باعث خسارت بالا در فرایند انبارداری شده تا جایی که در انبارهایی با شرایط سنتی، میزان خسارت در حدود ۸۰-۱۰٪ گزارش شده است. در این میان، شب‌پره مدیترانه‌ای آرد با انتشار جهانی از آفات بسیار مهم در آرد و محصولات وابسته می‌باشد (Hill, 1990).

برای کاهش خسارت آفات انباری مبارزه شیمیایی به‌عنوان مؤثرترین، ارزان‌ترین و سریع‌ترین روش کنترل، بیشتر مورد استفاده قرار گرفته و منجر به ساخت سموم مختلف در دنیا شده است. از آنجایی که با کاربرد حشره‌کش‌های تماسی امکان وجود باقیمانده سموم در محصولات انباری و تغییر در کیفیت دانه از نظر طعم و بو نیز بیشتر می‌باشد، از این‌رو در کنترل آفات انباری، استفاده از ترکیبات شیمیایی گازی (Fumigants) مرسوم است. از جمله متداول‌ترین روش‌های کنترل آفات انباری، استفاده از سموم شیمیایی گازی مانند متیل بروماید و فسفین می‌باشد که متیل بروماید خطرات جبران‌ناپذیری برای انسان و محیط داشته و دیگر استفاده نمی‌شود ولی از فسفین همچنان برای کنترل آفات در انبارها استفاده می‌شود (Haque et al., 2000)؛ (Michael & Flanders, 2020). بنابراین استفاده از ترکیباتی که علاوه بر کنترل مؤثر آفات، کمترین زیان را برای انسان و محیط زیست داشته باشند امری ضروری به‌نظر می‌رسد. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که ترکیب‌های اسانسی از قبیل

مونوترپنوئیدها و سسکوئی ترپنوئیدها بر فعالیت‌های فیزیولوژیکی و رفتاری برخی از حشرات آفت از جمله آفات انباری به‌صورت سمیت تنفسی، تماسی، خاصیت دورکنندگی، ضدتغذیه‌ای، بازدارندگی تخم‌ریزی و اثر روی پارامترهای زیستی حشره و کم‌خطر بودن آن برای انسان و سایر پستانداران جایگاه ویژه‌ای پیدا کرده‌اند (Papachristos & Stamopoulos, 2002). با توجه به گزارش‌های موجود، خاصیت حشره‌کشی گونه‌های *S. spinos*، *S. thymbra*، *Satureja hortensis*، *S. montana* و *S. parnassica* sub sp. *Parnassica* بر روی ۲۱ گونه از حشرات ارزیابی شده است که بیشترین پژوهش‌های انجام شده روی شب‌پره مدیترانه‌ای آرد (*Ephestia kuehniella*) به‌دلیل پراکنش جهانی و حساسیت آن به ترکیبات مرزه بوده است (Ayvaz et al., 2010)؛ (Karaborklu et al., 2011)؛ (Maedeh et al., 2011). خواص حشره‌کشی، دورکنندگی، تخم‌کشی، علف‌کشی، نماتدکشی، ضد ویروسی، ضد لیشمانیا، پروتوزوا و کرم‌های روده‌ای گونه‌های مختلف مرزه تأیید شده است (Cetin et al., 2015)؛ (Tepe, 2015)؛ (Benelli et al., 2017)؛ (Ebadollahi, 2018)؛ (Jahan et al., 2019)؛ (Farahani et al., 2020)؛ (Ebadollahi & Setzer, 2020)؛ (Magierowicz et al., 2020)؛ (Kayedi et al., 2021).

با توجه به موارد مطرح شده، به‌نظر می‌رسد، استفاده از اسانس سه گونه مرزه انحصاری ایران (*S. sahendica*، *S. khuzistanica* و *S. macrantha*) می‌تواند در کنترل این آفت مؤثر باشد، از سوی دیگر، خواص دارویی و درمانی این گونه‌ها، پشتوانه محکمی را از نظر ایمن بودن برای انسان و محیط‌زیست مهیا می‌کند.

## مواد و روش‌ها جمع‌آوری گیاهان

سه گونه مرزه شامل مرزه خوزستانی، مرزه سهندی و مرزه ماکرانتا (شکل ۱) در مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور از مزارع گیاهان دارویی ایستگاه البرز در مرحله گلدهی و از حدود ۵ سانتی‌متری بالای خاک

برداشت شد و در شرایط سایه و تهویه مناسب در دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه سلسیوس خشک گردید. گیاهان خشک شده به منظور حفظ ماده مؤثره، بسته‌بندی شده و تا زمان اسانس‌گیری، در سردخانه و در دمای ۲۴- درجه سلسیوس نگهداری شدند.



شکل ۱- الف- مرزه خوزستانی (*Satureja khuzistanica* J.)، ب- مرزه ماکرانتا (*S. macrantha* C. A. Mey) و

ج- مرزه سهندی (*S. sahendica* Bornm.)

Figure 1. A- *Satureja khuzistanica* J., B- *Satureja macrantha* C. A. Mey, and C- *Satureja sahendica* Bornm.

## اسانس‌گیری

استخراج اسانس از هر سه گونه مرزه، به روش تقطیر با آب و استفاده از دستگاه کلونجر (Clevenger) انجام شد. برای این کار، ۱۰۰ گرم از نمونه آسیاب شده بخش‌های هوایی گیاه (شامل برگ و سرشاخه گلدار) در مرحله گلدهی کامل برداشت و در سایه خشک شد. گیاه خشک شده پس از آسیاب در یک بالون قرار داده شد و مقداری آب مقطر (حدود دو سوم حجم بالن) به آن اضافه و عمل تقطیر به مدت سه ساعت انجام گردید؛ اسانس حاصل با استفاده از سولفات سدیم آبگیری شد، اسانس‌های بدست آمده تا زمان تزریق به دستگاه‌های GC و GC/MS برای انجام آنالیز و آزمایش‌های زیست‌سنجی در شیشه‌های تیره در بسته، داخل یخچال (دمای ۴ °C) نگهداری شدند.

## شناسایی ترکیبات اسانس

تعیین ترکیبات اسانس با دستگاه GC و GC/MS انجام شد. پس از تزریق اسانس‌ها به دستگاه کروماتوگرافی گازی فوق سریع (GC)، ساخت کمپانی Thermo از کشور ایتالیا مدل Ultra Fast Module (UFM) و یافتن مناسب‌ترین برنامه‌ریزی حرارتی ستون (برای دستیابی به بهترین جداسازی)، اسانس‌های حاصل با دی کلرو متان رقیق شده و به دستگاه کروماتوگرافی جرمی مدل Varian 3400 متصل به طیف‌سنج جرمی Saturn II و مجهز به ستون DB-5 تزریق و طیف‌های جرمی و کروماتوگرام‌های مربوط بدست آمد. سپس با استفاده از زمان بازداری، شاخص بازداری کوتاس، مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه با ترکیب‌های استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در نرم‌افزار SATURN، ترکیب‌های تشکیل‌دهنده اسانس‌ها، شناسایی کمی و کیفی شد.

شد و ۲ میکرولیتر اسانس خالص روی دیواره هر لیوان قرار داده شده و درب لیوان توسط توری ارگانزا پوشانده شد. توجه به اینکه بیشترین میزان تخم‌ریزی حشرات کامل در چهار تا پنج روز اول پس از خروج حشرات کامل از شفیره مشاهده می‌شود، بنابراین تا چهار روز بعد از اسانس‌دهی تعداد تخم‌های گذاشته شده در هر لیوان شمارش شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و ۴ تکرار بود و در هر تکرار از ۱۰ جفت حشره بالغ استفاده شد. داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS (version 22) تجزیه آماری شد. میانگین‌ها در سطح ۵٪ و با آزمون Tukey مقایسه گردید. برای تعیین اثر بازدارندگی تخم‌ریزی و مقایسه آنها با هم از فرمول زیر استفاده شد (Chaubet, 2008). تیمار شاهد بدون اسانس در نظر گرفته شد.

$$\%OD = \left[ 1 - \frac{NET}{NEC} \right] \times 100$$

OD (Oviposition deterrence)٪

Nt = تعداد تخم در تیمار

Nc = تعداد تخم در شاهد

### نتایج

جداسازی و شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس‌ها نتایج حاصل از تجزیه اسانس‌های سه گونه مرزه *S. sahendica* و *S. macrantha*، *Satureja khuzistanica* با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی نشان داد که ترکیب عمده تشکیل‌دهنده اسانس مرزه خوزستانی، کارواکول با مقدار ۹۱/۵٪ از کل مقدار اسانس بود. بیشترین مقدار ترکیبات در مرزه ماکرانتا برای پارا-سیمن با مقدار ۵۹/۵٪ و گاما-تریپین و تیمول با مقدار تقریبی ۱۳/۵٪ بود، اما در مرزه سهندی بیشترین ترکیبات مرتبط با تیمول با ۴۸/۶٪، پارا-سیمن با ۲۱/۹٪ و گاما-تریپین با ۱۸/۶٪ بود که در جدول ۱ نشان داده شده است.

### پرورش حشرات

آزمایش‌ها روی شب‌پره مدیترانه‌ای آرد (*E. kuehniella*) انجام شد. این حشره، روی آرد مخلوط با مخمر به نسبت ۱۰ به ۱ در دمای  $27 \pm 1$  درجه سلسیوس و رطوبت نسبی  $65 \pm 5$ ٪ و در تاریکی داخل اتاقک رشد پرورش یافت. روزانه تمامی حشرات بالغ خارج شده و برای تخم‌گیری به ظروف مخصوص که درب آن با توری پوشانده شده بود منتقل شد و تخم‌های یک روزه برای انجام آزمایش استفاده گردید.

بررسی تأثیر اسانس سه گونه مرزه بومی روی تخم‌کشی شب‌پره مدیترانه‌ای آرد

در این آزمایش از هر اسانس ۳ غلظت شامل ۳، ۱۲ و ۲۵ میکرولیتر بر لیتر هوا در نظر گرفته شد. آزمایش در پتری‌های ۹ سانتی‌متری انجام شد. در هر پتری غلظت مورد نظر روی کاغذ واتمن قرار داده شد و در هر تکرار نیز ۲۰ عدد تخم یک روزه قرار داده شد. با توجه به اینکه تخم‌ها یک روزه بوده و مدت زمان نشو و نمای تخم چهار روز است، ۹۶ ساعت بعد از اسانس‌دهی درصد تفریخ تخم محاسبه شد. از آنجایی که لاروها بلافاصله بعد از تفریخ شروع به خوردن تخم‌های تفریخ نشده می‌کنند برای جلوگیری از این تلفات، روی کف پتری‌ها از کاغذ صافی به قطر ۲ سانتی‌متر استفاده شد و تخم‌ها با چسب رولی به کاغذها چسبانده شدند و در هر کاغذ ۲۰ عدد تخم قرار داده شد. این آزمایش در ۴ تیمار و ۴ تکرار انجام شد. در تیمار شاهد از استون استفاده شد. کلیه داده‌ها با استفاده از فرمول آبوت (Abbott, 1925)، اصلاح و میانگین‌ها در سطح ۵٪ و با آزمون Tukey مقایسه شدند.

بررسی تأثیر اسانس مرزه روی میزان تخم‌ریزی شب‌پره مدیترانه‌ای آرد

در این آزمایش از لیوان‌های یک‌بار مصرف به ارتفاع ۶، قطر قاعده ۴/۲ و قطر دهانه ۶/۵ سانتی‌متر استفاده شد. در هر لیوان یک جفت حشره کامل نر و ماده یک روزه گذاشته

جدول ۱- ترکیب‌های اسانس گونه‌های مختلف مرزه (*Satureja spp.*) کاشته شده در مزرعه ایستگاه تحقیقات البرز، کرج

**Table 1. Essential oil compounds in different *Satureja spp.* cultivated under Alborz research station, Karaj**

<i>S. khuzistanica</i>			<i>S. macrantha</i>			<i>S. sahendica</i>		
Compound	%	RI	Compound	%	RI	Compound	%	RI
1 $\alpha$ -thujene	0.2	931.7	$\alpha$ -thujene	0.8	919.7	$\alpha$ -thujene	1.2	929.6
2 $\alpha$ -pinene	0.1	941.3	$\alpha$ -pinene	1.7	926.6	$\alpha$ -pinene	0.7	938.6
3 Terpinolene	0.5	1011.1	$\beta$ -pinene	1.3	967.3	Sabinene	1.9	957.1
4 $p$ -cymene	0.3	1032.1	myrcene	1.1	981.4	Myrcene	0.2	977.8
5 Linalool	0.6	1102.3	$p$ -cymene	59.5	1012.6	$\alpha$ -phellandrene	0.2	995.4
6 $\gamma$ -terpinene	1.5	1064.9	limonene	0.7	1017.2	$\alpha$ -terpinene	2.4	1031.5
7 Thymol	0.2	1296.9	$\gamma$ -terpinene	13.9	1041.7	$p$ -cymene	21.9	1044.6
8 Carvacrol	91.5	1314.7	cis sabinene hydrate	0.2	1050.3	limonene	0.2	1045.9
9 E-caryophyllene	0.3	1427.4	Borneol	0.9	1131.6	1,8-cineole	0.1	1041.2
10 $\beta$ -Bisabolene	1.0	1509.4	terpinene-4-ol	0.4	1142.5	$\gamma$ -terpinene	18.6	1074.3
11			$p$ -cymene-8-ol	0.5	1144.1	cis sabinene hydrate	0.2	1089.5
12			thymol	13.4	1271.4	terpinene-4-ol	0.3	1203.7
13			carvacrol	0.6	1275.5	Thymol	48.6	1314.9
14			E-caryophyllene	1.2	1369.4	carvacrol	1.8	1321.5
15			Germacrene D	0.6	1448.0	E-caryophyllene	1.0	1443.9
16			spathulenol	0.7	1526.4	spathulenol	0.2	1511.3
17			caryophyllene oxide	0.9	1529.5	caryophyllene oxide	0.2	1517.3

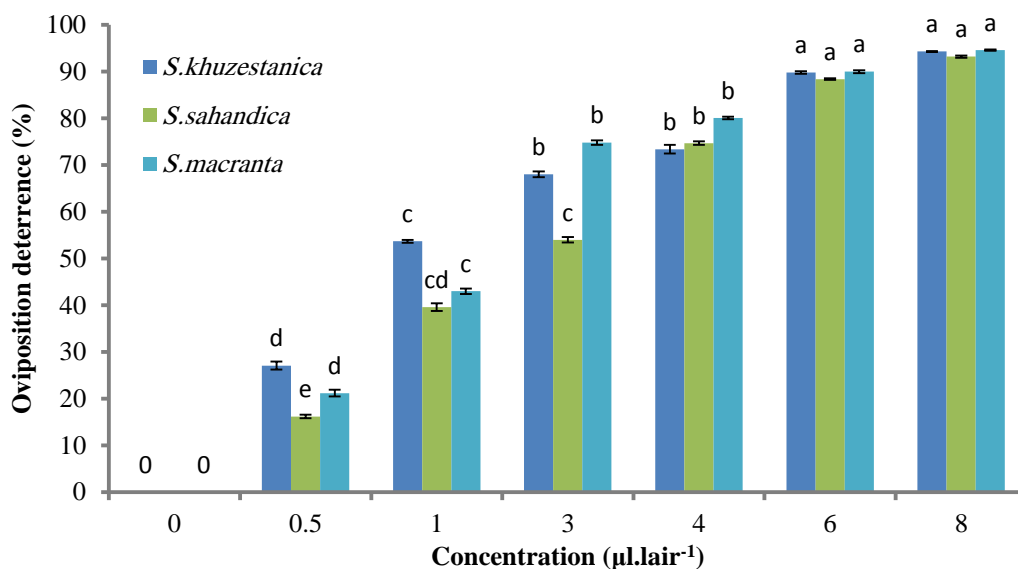
RI: Retention index

تخم‌ریزی شب‌پره مدیترانه‌ای آرد کاهش یافته است، به طوری که در غلظت ۳ میکرولیتر برای هر سه اسانس مرزه خوزستانی، سهندی و ماکراتنا میزان تخم‌ریزی نسبت به شاهد بیش از ۵۰٪ کاهش یافت که به ترتیب برابر با ۶۸، ۵۳ و ۷۵ درصد بود. شدت کاهش در حشرات تیمار شده با مرزه خوزستانی بیشتر بوده، به طوری که در غلظت ۰/۵ به ۱ میکرولیتر با شیب زیاد (۲۷٪ به ۵۴٪) روند کاهش تخم‌ریزی مشاهده می‌شود اما در دو گونه دیگر شدت کاهش تخم‌ریزی آهسته‌تر بود. در غلظت ۴ میکرولیتر، هر سه اسانس روند مشابهی پیدا کردند. از غلظت ۶ میکرولیتر به ۸ میکرولیتر درصد بازدارندگی از تخم‌ریزی بین ۸۴٪ تا ۹۴٪ برای هر سه اسانس بود که روند معنی‌داری در این دو غلظت نسبت به یکدیگر دیده نمی‌شد.

مطالعه خاصیت بازدارندگی از تخم‌ریزی اسانس روی شب‌پره مدیترانه‌ای آرد

میزان خاصیت بازدارندگی از تخم‌ریزی در حشرات تیمار شده با افزایش غلظت، افزایش یافت. غلظت‌های مختلف از سه اسانس مرزه نشان داد که در غلظت یک میکرولیتر با اسانس مرزه خوزستانی حدود ۵۳/۷٪ بازدارندگی از تخم‌ریزی مشاهده شد. در غلظت ۳ میکرولیتر میزان بازدارندگی از تخم‌ریزی برای هر سه مرزه خوزستانی، سهندی و ماکراتنا بالای ۵۰٪ و به ترتیب برابر ۶۸، ۵۴ و ۷۴ درصد بود و در غلظت‌های ۴-۸ میکرولیتر، مشابه هم و بالای ۹۵-۷۰٪ بازدارندگی از تخم‌ریزی مشاهده شد. برخلاف اثر حشره‌کشی کم اسانس مرزه ماکراتنا، این گیاه اثر بسیار خوبی بر خاصیت بازدارندگی از تخم‌ریزی داشت و مشابه دو مرزه دیگر عمل کرد (شکل ۲).

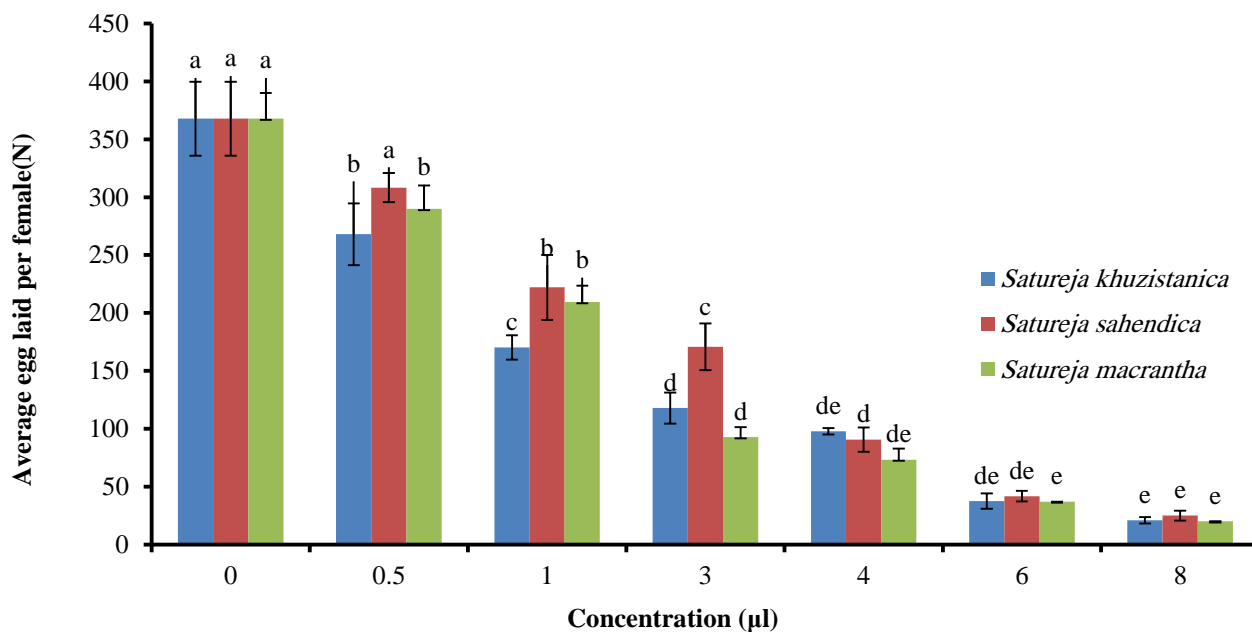
اثر اسانس سه گونه مرزه روی میزان تخم‌ریزی حشرات بالغ جفت‌گیری کرده شب‌پره آرد در شکل ۳ با مقایسه غلظت‌ها در هر اسانس مشاهده می‌شود که با افزایش غلظت در هر سه اسانس مرزه، میزان



شکل ۲- خاصیت بازدارندگی از تخم‌ریزی اسانس گونه‌های مختلف مرزه (*Satureja spp.*) روی حشره بالغ جفت شده یک روزه شب‌پره مدیترانه‌ای آرد

Figure 2. Oviposition deterrence of different *Satureja spp.* essential oils on one-day-old mated adults of the Mediterranean flour moth

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Tukey test).



شکل ۳- اثر اسانس گونه‌های مختلف مرزه (*Satureja spp.*) بر میزان تخم‌ریزی شب‌پره مدیترانه‌ای آرد

Figure 3. Different *Satureja spp.* essential oils effects on oviposition rate by Mediterranean flour moth

Means with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Tukey test).



## بحث

استفاده از ترکیب‌های طبیعی در غلظت‌های زیر کشنده می‌تواند جمعیت آفات را با تأثیر بر رشد و میزان تولیدمثل کنترل کند. یکی از راه‌های کنترل آلودگی آفات، کاهش میزان تخم‌ریزی آنهاست. براساس مرور منابع، برخی از اجزای اسانس‌ها فعالیت تخم‌کشی و حشره‌کشی بالایی را نشان می‌دهند. پژوهش‌ها نشان داده که ترکیب‌هایی مانند متیل سالیسیلات، اوژنول، کارواکرول، لینالول، ترپین-۴-آل، کاروئول، ژرانیول، نرولیدول، تیمول، آلفا-ترپینتول، ۱،۸-سینئول، لینالول، کارون، آنتول، آنیزول، آلفا-پینن، بتا-پینن، لیمونن، سالیسیل آلدیید، بنزآلدیید، سینامالدیید و بنزیل سینامات اثر تخم‌کشی بالایی در حشرات دارند (Dambolena et al., 2016). کارواکرول از ترکیب‌هایی است که در سه گونه مرزه مورد مطالعه در این تحقیق نیز وجود دارد اما در مرزه خوزستانی بیش از ۹۰٪ از حجم ترکیبات آن را شامل می‌شود که این مقدار از یک ترکیب در میان گونه‌های مختلف مرزه منحصر به فرد است و می‌توان نتیجه گرفت که دلیل بیشترین میزان تخم‌کشی در مرزه خوزستانی بین گونه‌های مورد آزمایش، مرتبط با مقدار بالای کارواکرول است.

یادآوری می‌شود که همه ترکیب‌های موجود در اسانس‌ها خاصیت حشره‌کشی و تخم‌کشی ندارند. بعضی از ترکیبات اسانس‌ها مانند منتول، ایزومنتول، نونیل الکل، بنزیل الکل، سیترونلول، منتون و استرهای استات منتول و لینالول، استیل‌لوزنول، کاریوفیلن، هومولن و ایزو اوژنول هیچ‌گونه فعالیت تخم‌کشی ندارند (Dambolena et al., 2016) که این ترکیبات در اسانس گیاهان مورد مطالعه در این تحقیق بسیار ناچیز بود و یا وجود نداشت.

تحقیقات نشان می‌دهد که ترپین‌های اتری مانند ۱،۸-سینئول، آنیزول و آنتول و ترپین‌های هیدروکربنی مانند لیمونن، آلفا-پینن، بتا-پینن و گاما-ترپین فعال‌ترین ترکیبات در میزان حشره‌کشی ارزیابی شده بودند (Dambolena et al., 2016). در این تحقیق نیز دو گونه سهندی و ماکراتنا مقدار تقریباً مشابهی از گاما-ترپین

(حدود ۱۵٪) را داشتند که بر خاصیت حشره‌کشی اسانس مرزه سهندی و ماکراتنا مؤثر است. در تحقیقی که Enan (۲۰۰۵) روی *Drosophila melanogaster* انجام داد، بیان کرد که ترکیب‌های تیمول، کارواکرول، پارا-سیمن و آلفا-ترپینول اثر حشره‌کشی داشتند و تیمول و کارواکرول با گیرنده‌های تیرامینی در تعامل بودند. همچنین Zhu و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که ایزواسکاریدول و پارا-سیمن اثر سمیت تدخینی روی سوسری آلمانی (*Blattella germanica* (Linnaeus)) دارند. در این پژوهش نیز در مرزه ماکراتنا بیشترین ترکیب را پارا-سیمن با ۶۰٪ و در مرزه سهندی دو ترکیب تیمول با ۴۸/۶٪ و پارا-سیمن با ۲۲٪ از ترکیبات را شامل می‌شد که می‌توان اثرهای تخم‌کشی و ضد تخم‌ریزی بیشتر در مرزه ماکراتنا را مرتبط با مقدار پارا-سیمن دانست. زیرا مقادیر تیمول و گاما-ترپین در مرزه ماکراتنا نسبت به مقادیر تیمول و گاما-ترپین در مرزه سهندی کمتر بود. به همین دلیل می‌توان ادعا کرد که اثرهای خوب تخم‌کشی و ضد تخم‌ریزی ماکراتنا نسبت به مرزه سهندی به دلیل مقادیر بیشتر پارا-سیمن نسبت به مرزه سهندی می‌باشد. در تحقیقی که توسط Karaborklu و همکاران (۲۰۱۱) انجام شد، ترکیبات اسانس *S. thymbra* حاوی ۳۹٪ گاما-ترپین و ۲۵٪ تیمول بود که اثر حشره‌کشی و بازدارندگی از تخم‌ریزی خوبی را روی شب‌پره مدیترانه‌ای آرد نشان می‌داد، به طوری که با افزایش غلظت به ۹۰ میکرو لیتر بر لیتر هوا، میزان تخم‌ریزی به نصف کاهش یافت. از سوی دیگر، براساس مطالعات انجام شده توسط Ayvaz و همکاران (۲۰۱۰)، ترکیب اصلی در اسانس *S. thymbra* کارواکرول بود که حدود ۵۱٪ از ترکیبات را شامل می‌شد و پس از ۲۴ ساعت از تیمار شدن ۱۰۰٪ مرگ و میر روی شب‌پره مدیترانه‌ای آرد *E. kuhniella* ایجاد کرد که با توجه به اینکه مقدار کارواکرول نسبت به این تحقیق بسیار کمتر بوده اما نتایج مشابهی داشته است که می‌توان آن را مرتبط با استفاده از دوز بالاتر در آن پژوهش بیان کرد. در پژوهشی Sarac و Tunc (۱۹۹۵) اثر حشره‌کشی و تخم‌کشی بالایی را در اثر تیمار اسانس

به شدت کاهش یافت. اثر متفاوت اسانس در سه مرزه بومی را می‌توان هم به نسبت ترکیبات موجود در اسانس آن و هم به میزان نفوذ بیشتر آن ترکیب به درون تخم‌ها مرتبط دانست. آنچه که محرز است اثر تخم‌کشی و ممانعت از تخم‌ریزی در مرزه خوزستانی فقط مرتبط با مقدار کارواکرول موجود در اسانس گیاه است. اما در دو گونه دیگر مرتبط با مقادیر پارا-سیمن و تیمول می‌باشد. مقادیر گاما-تریپنن در هر دو گونه سهندی و ماکراتا تقریباً مشابه است. مرزه ماکراتا خاصیت تخم‌کشی و بازدارندگی از تخم‌ریزی بیشتری نسبت به سهندی داشت که می‌توان به مقدار پارا-سیمن آن مرتبط دانست که تقریباً دو برابر مقدار آن در مرزه سهندی است. علاوه بر بال پولکداران، اسانس مرزه روی سایر راسته‌های حشرات نیز آزمایش شده است، برای نمونه، در تحقیقی اثر تخم‌کشی اسانس *S. hortensis* روی تخم‌های سوسک *Xanthogaleruca luteola* (Mull.) بررسی شد و شواهد نشان داد در غلظت ۴۰۰ ppm، ۱۰۰٪ تخم‌ها از بین رفتند (Valizadeh et al., 2021).

نتایج دو پژوهش، حساسیت پشه *Culex quinquefasciatus* را نسبت به اسانس *S. hortensis* نشان داد (Pavela, 2009). حساسیت *Culex pipiens* نسبت به اسانس چهار گونه مرزه (*S. prnassica*, *S. spinosa*، *S. thymbra* و *S. montana*) ارزیابی شد، براساس این تحقیق ترکیب مهم اسانس این گونه‌ها مونوترین هیدروکربن‌ها و فنولیک مونوترین‌ها می‌باشد که اثر لاروکشی قابل ملاحظه‌ای را نشان دادند (Michaelakis et al., 2007). سمیت تدخینی اسانس *S. hortensis* روی سفیدبالک پنبه (*Bemisia tabaci*) بررسی گردید (Aslan et al., 2004؛ Zandi-Sohani, 2011). طبق گزارش Zandi-Sohani (۲۰۱۱)، اسانس این گیاه مرگ و میر بالایی را (2 μL/L air) طی ۲۴ ساعت ایجاد کرد که مقدار مرگ و میر با افزایش زمان و غلظت، افزایش می‌یافت. نتایج حاصل از پژوهش Aslan و همکاران (۲۰۰۴) نیز مرگ و میر ۵۳/۴۷ درصدی را نشان داد. نتایج این تحقیقات نشان‌دهنده

*S. thymbra* روی *E. kuhniella* مشاهده کردند. در این تحقیق دوزهای استفاده شده بین ۱۳۵-۱۰۸ μL.L-1 air و زمان تیمار شدن بین ۱۴۴-۲۴ ساعت بود که دوزها و زمان آزمایش بسیار بالاتر از این تحقیق بود که باز هم می‌تواند به درصد پایین‌تر ترکیب‌های مؤثر در مرزه مورد آزمایش باشد. اسانس مرزه گونه *S. hortensis* نیز روی شب‌پره مدیترانه‌ای آرد توسط Maede و همکاران (۲۰۱۱) آزمایش شد. براساس این آزمایش بیشترین مقدار ترکیبات مرتبط با کارواکرول و گاما-تریپنن بود که مقدار LC<sub>50</sub> آن روی لارو شب‌پره آرد پس از ۹ ساعت تیمار برابر ۸۰/۹ μL.L-1 air بود. در تحقیقی Hamraoui و Regnault-Roger (۱۹۹۵) نشان دادند که مونوترین‌های آنتول، کارواکرول، تیمول، لینالول، اوژنول و پارا-سیمن دارای اثر بازدارندگی از تخم‌ریزی در حشرات کامل *Acanthoscelides obtectus* Say (Bruchidae) می‌باشند. نتایج پژوهشی دیگر نشان داد که *S. hortensis* اثر بازدارندگی تخم‌ریزی و تغذیه‌ای شدید را روی تخم و لارو شب‌پره (*crobasis advenella*) دارد (Magierowicz et al., 2020)، به نحوی که اثر بازدارندگی *S. hortensis* روی تخم‌ریزی *A. advenella* کاهش شدیدی برابر ۳/۹ نشان داد (Magierowicz et al., 2020). سمیت تنفسی اسانس *S. thymbra* بر شب‌پره مدیترانه‌ای آرد (*E. kuehniella*) و *Plodia interpunctella* (Hübner) نشان داد که ۱۰۰٪ تخم‌ها در غلظت ۲۰۰ μl/L پس از ۹۶ ساعت از بین رفتند، این در حالیست که در این تحقیق با اسانس مرزه خوزستانی بیش از ۵۰٪ بازدارندگی از تخم‌ریزی در غلظت یک میکرولیتر مشاهده شد. این مقدار برای دو اسانس مرزه دیگر با غلظت ۳ میکرولیتر مشاهده گردید و در غلظت ۶ میکرولیتر نزدیک به ۹۰٪ بازدارندگی از تخم‌ریزی با اسانس هر سه مرزه مورد استفاده دیده شد. اسانس هر سه مرزه، عقیم‌کنندگی خیلی خوبی در حشرات بالغ نشان دادند، به طوری که در بسیاری از تکرارها با افزایش غلظت تعداد جفت‌هایی که هیچ تخمی نمی‌گذاشتند نیز به طور محسوسی افزایش می‌یافت. همچنین در غلظت‌های کم با وجود اثر حشره‌کشی، میزان تخم‌ریزی

سوسک متمرکز است. با این حال، با کیسوله‌سازی، میکرو و نانو امولسیون براساس تکنیک‌های رهاسازی کنترل شده، می‌توان علاوه بر استفاده از مقادیر کمتر اسانس، ماندگاری آنها را نیز افزایش داد. این مواد با سمیت بسیار پایین ممکن است به کشاورزی و حفاظت از محیط زیست کمک کنند و می‌تواند به کشورهایی که مقادیر بسیار زیادی از آفت‌کش‌های سنتزی را استفاده می‌کنند، پیشنهاد شود. با این حال، تأثیر بر موجودات مفید و غیرهدف، باقیمانده روی محصولات غذایی و مهمتر از آن، در نظر گرفتن روشی برای کاهش هزینه اسانس‌ها و اجزای آنها نیز باید مورد بررسی قرار گیرد.

### سپاسگزاری

از سرکار خانم دکتر سمانه اسدی‌صنم، جناب آقای دکتر خلیل کریم‌زاده و جناب آقای مهندس فریدون رضایی برای تهیه اسانس کمال تشکر را دارم. همچنین از تمامی همکاران در بخش گیاهان دارویی و محصولات فرعی مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور که در شناسایی و انجام این طرح من را یاری کردند سپاسگزارم.

اثرهایی مانند دفع حشرات، بازدارنده رشد و سایر اثرهای نامطلوب روی تغذیه، چرخه زندگی، تخم‌ریزی و تفریح تخم‌ها، اختلالات بیوشیمیایی مانند کاهش محتوای کلی استراز و مهار عملکرد مونواکسیژنازهای استیل کولین استراز و سیتوکروم P450 روی طیف وسیعی از حشرات، مانند دوبالان، سخت‌بال‌پوشان و بال‌پولکداران و همین‌طور روی آفات بهداشتی مانند پشه‌های بیماری‌زا نیز می‌باشد که چنین اثرهای چندگانه اسانس‌ها و ترکیبات آنها، علاوه بر کاهش مقاومت در آفات، می‌تواند طیف وسیعی از آفات را تحت تأثیر قرار دهد (Isman, 2006; Regnault-Roger et al., 2012).

براساس نتایج این پژوهش، اسانس مرزه‌های بومی ایران قابلیت کنترل آفات انباری را دارند. در بین سه گونه مرزه مورد مطالعه، مرزه خوزستانی در کمترین غلظت خواص تخم‌کشی و بازدارندگی از تخم‌ریزی بهتری نسبت به مرزه سهندی و ماکرانتا داشت که اثرگذاری در دوزهای کمتر اسانس، از نظر اقتصادی نیز توجیه‌پذیرتر است. تنها فراربت زیاد یا عدم ماندگاری و نامحلول بودن در آب از محدودیت‌های اصلی در تجاری‌سازی و کاربرد گسترده اسانس‌ها می‌باشد. بر این اساس، کاربرد آنها عمدتاً در برابر آفات غیر زراعی مانند آفات انباری و بهداشتی مانند مگس و

### References

- Abbott, W.S., 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267.
- Aslan, I., Ozbek, H., Calmasur, O. and Sahin, F., 2004. Toxicity of essential oil vapours to two greenhouse pests, *Tetranychus urticae* Koch and *Bremisia tabaci*. *Genn Industrial Crop Productions*, 19: 167-173.
- Ayvaz, O., Sagdic, S., Karaborklu, S. and Ozturk, I., 2010. Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored-product insects. *Journal of Insect Science*, 10: 21.
- Benelli, G., Pavela, R., Canale, A., Cianfaglione, K., Ciaschetti, G., Conti, F., Nicoletti, M., Senthil-Nathan, S., Mehlhorn, H. and Maggi, F., 2017. Acute larvicidal toxicity of five essential oils (*Pinus nigra*, *Hyssopus officinalis*, *Satureja montana*, *Aloysia citrodora* and *Pelargonium graveolens*) against the *filariasis* vector *Culex quinquefasciatus*: Synergistic and antagonistic effects. *Parasitology International*, 66: 166-171.
- Cetin, H., Ser, O., Arserim, S.K., Polat, Y., Ozabek, T., Civril, M., Cinbilgel, I. and Ozbel, Y., 2018. Fumigant toxicity of *Satureja cuneifolia* and *Ziziphora clinopodioides* essential oils on field collected sand flies (Diptera: Psychodidae: Phlebotomie). *Fresenius Environmental Bulletin*, 27: 4258-4262.
- Chaubet, M.K., 2008. Fumigant toxicity of essential oils from some common spices against pulse beetle, *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Oleo Science*, 57(3):171-179.
- Ebadollahi, A., 2020. Estragole-rich essential oil of summer savory (*Satureja hortensis* L.) as an eco-friendly alternative to the synthetic insecticides in management of two stored-products insect pests. *Acta agriculturae Slovenica*, 115: 307-314.
- Ebadollahi, A. and Setzer, W.N., 2020. Evaluation of the toxicity of *Satureja intermedia* C. A. Mey

- essential oil to storage and greenhouse insect pests and a predator ladybird. *Foods*, 9(6): 712.
- Farahani, S., Bandani, A. and Amiri, A., 2020. Toxicity and repellency effects of three essential oils on two populations of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Persian Journal of Acarology*, 9: 67-82.
  - Hill, D.S. 1990. Pests of stored products and their control. Belhaven Press a division of Pineter Publishers, London, 274p.
  - Haque, M.A., Nakakita, H., Ikkenaga, H. and Sota, N., 2000. Development inhibiting activity of some tropical plants against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Stored Products Research*, 36: 281-287.
  - Isman, M.B., 2006. Botanical insecticidal, deterrents, and repellents in modern agriculture and increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology*, 51: 45-66.
  - Jahan, F., Abbasipour, H. and Hasanshahi, G., 2019. Fumigant toxicity and nymph production deterrence effect of five essential oils on adults of the black bean aphid, *Aphis fabae* Scop. (Hemiptera: Aphididae). *Advanced Food Science*, 41: 48-53.
  - 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: 1212-1219.
  - Kayedi, M.H., Haghdoost, A.A., Salehnia, A. and Khamisabadi, K., 2021. Evaluation of repellency effect of essential oils of *Satureja khuzestanica* (Carvacrol), *Myrtus communis* (Myrtle), *Lavandula officinalis* and *Salvia sclarea* using standard WHO repellency tests. *Journal of Arthropod-Borne Diseases*, 8: 60-68.
  - Maedeh, M., Hamzeh, I., Hossein, D., Majid, A. and Reza, R.K., 2011. Bioactivity of essential oil from *Satureja hortensis* (Lamiaceae) against three stored-product insect species, *African Journal of Biotechnology*, 10(34): 6620-6627.
  - Magierowicz, K., Górska-Drabik, E. and Golan, K. 2020. Effects of plant extracts and essential oils on the behavior of *Acrobasis advenella* (Zinck.) caterpillars and females. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 127: 63-71.
  - Mathews, C.R., Brown, M. and Bottrell, D., 2007. Leaf Extrafloral Nectaries Enhance Biological Control of a Key Economic Pest, *Grapholita molesta* (Lepidoptera: Tortricidae), in Peach (Rosales: Rosaceae). *Environmental Entomology*, 36(2): 383-389.
  - Michael, D.T. and Flanders, K., 2020. Stored Product Insect Management. UGA Extension Special Bulletin 28, Georgia Pest Management Handbook, Commercial Edition.
  - Michaelakis, A., Theotokatos, S.A., Koliopoulos, G. and Chorianopoulos, N.G., 2007. Essential oils of *Satureja* species: Insecticidal effect on *Culex pipiens* larvae (Diptera: Culicidae). *Molecules*, 12: 2567-2578.
  - Papachristos, D.P. and Stamopoulos, D.C., 2002. Toxicity of vapors of three essential oils to the immature stages of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 38: 365-373.
  - Pavela, R., 2009. Larvicidal property of essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Industrial Crops and Products*, 30: 311-315.
  - Regnault-Roger, C. and Hamraoui, A., 1995. Antifeedant effect of Mediterranean plant essential oils upon *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera), bruchid of kidney beans, *Phaseolus vulgaris* L. 2: 837-840, In: Highley, E., Wright, E.J., Banks H.J. and Champ, B.R. (Eds.), *Stored Product Protection*, Wallingford, UK.
  - Regnault-Roger, C., Vincent, C. and Arnasson, J.T., 2012. Essential oils in insect control: Low-risk products in a high-stakes world. *Annual Review of Entomology*, 57: 405-425.
  - Sarac, A. and Tunc, I., 1995. Toxicity of essential oil vapors to stored-product insects. *Z. Pflanzen k. Pflanzen*. 102(1): 69-74.
  - Tepe, B., 2015. Inhibitory Effect of *Satureja* on Certain Types of Organisms. *Record of Natural Product*, 9(1): 1-18.
  - Valizadeh, B., Jalali Sendi, J., Oftadeh, M., Ebadollahi, A. and Krutmuang, P., 2021. Ovicidal and Physiological Effects of Essential Oils Extracted from Six Medicinal Plants on the Elm Leaf Beetle, *Xanthogaleruca luteola* (Mull.), *Agronomy*, 11(10): 2015.
  - Zandi-Sohani, N., 2011. Efficiency of Labiateae plants essential oils against adults of cotton whitefly (*Bemisia tabaci*). *Indian Journal of Agricultural Sciences*. 81: 1164-1167.