

## Contact toxicity of essential oils of *Allium sativum* L. and *Citrus nobilis* var. *deliciosa* (Ten.) Swingle against adults of German cockroach, *Blattella germanica* (L.) (Dictyoptera: Blattellidae)

Wazifeshenas F, Moravvej G\*, Sadeghi H, Hatefi S

Department of Plant Protection, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, I. R. Iran.

Received November 30, 2014; Accepted September 16, 2015

### Abstract:

**Background:** The German cockroach, *Blattella germanica* (L.), is an important health and economic pest. Due to the development of resistance to insecticides and medical and economic importance of German cockroaches in urban areas, researches have been focused on using environmental-friendly biopesticides. This study aimed to evaluate the contact toxicity of essential oils of *Allium sativum* L. and *Citrus nobilis* var. *deliciosa* (Ten.) Swingle against adults of *B. germanica*.

**Materials and Methods:** The plant essential oils were obtained using a modified Clevenger-type apparatus through hydro-distillation. Bioassays were conducted using essential oil impregnated filter papers, which were placed at the bottom of plastic containers. The *A. sativum* oil was applied in the concentration ranges of 0.19-0.36 and 0.09-0.17 ml/m<sup>2</sup>, and the *C. nobilis* oil was applied in the ranges of 5.82-7.23 and 3.15-5.50 ml/m<sup>2</sup> on females and males, respectively.

**Results:** The results of probit analyses of mortality data after 24 hours indicated that mortality of cockroaches was increased with increasing oil concentration. The toxicity of *A. sativum* oil (with the LC<sub>50</sub> values of 0.12 and 0.26 ml/m<sup>2</sup> on males and females, respectively) was significantly higher than *C. nobilis* oil. Moreover, males were more susceptible than females to *A. sativum* and *C. nobilis* oils (2.24 and 1.58 times, respectively).

**Conclusion:** To have a healthy and safety environment, the use of environmental-friendly biopesticides including essential oils is suggested for integrated management of German cockroaches' populations in urban areas.

**Keywords:** Essential oils, Contact toxicity, *Blattella germanica*, *Allium sativum*, *Citrus nobilis*

\* Corresponding Author.

Email: moravej@um.ac.ir

Tel: 0098 915 053 3595

Fax: 0098 51 3878 8875

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, October, 2015; Vol. 19, No 4, Pages 309-318

Please cite this article as: Wazifeshenas F, Moravvej G, Sadeghi H, Hatefi S. Contact toxicity of essential oils of *Allium sativum* L. and *Citrus nobilis* var. *deliciosa* (Ten.) Swingle against adult of German cockroach, *Blattella germanica* (L.) (Dictyoptera: Blattellidae). Feyz 2015; 19(4): 309-18.

# سمیت تماسی اسانس سیر (Allium sativum L.) و نارنگی (Citrus nobilis var. deliciosa) روی حشرات کامل سوسنی آلمانی (Ten.) Swingle (Blattella germanica L.)

فاطمه وظیفه شناس<sup>۱</sup>، غلامحسین مروج<sup>۲\*</sup>، حسین صادقی<sup>۳</sup>، سعید هاتفی<sup>۴</sup>

## خلاصه:

سابقه و هدف: امروزه تحقیقات برای دست یابی به حشره‌کش‌های سازگار با محیط زیست بدلیل توسعه مقاومت به حشره‌کش‌های شیمیایی و اهمیت پژوهشی و اقتصادی سوسنی آلمانی (*Blattella germanica*) در اماکن شهری کماکان در حال افزایش است. در مطالعه حاضر سمیت تماسی اسانس‌های سیر (*Allium sativum*) و نارنگی (*Citrus nobilis* var. *deliciosa*) علیه حشرات کامل سوسنی آلمانی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: اسانس‌های گیاهی به وسیله دستگاه کلونجر به روش تقطیر با آب استخراج گردید. آزمایش‌ها از طریق آغشته نمودن کاغذ صافی در کف ظروف پلاستیکی با مقادیر متفاوت اسانس انجام شد. از اسانس سیر مقادیر بین ۰/۰۶ تا ۰/۳۶ میلی لیتر بر مترمربع روی حشرات ماده و مقادیر ۰/۰۹ تا ۰/۱۷ میلی لیتر بر مترمربع روی حشرات نر، و از اسانس نارنگی مقادیر بین ۵/۸۲ تا ۷/۲۳ میلی لیتر بر مترمربع روی حشرات نر استفاده گردید.

نتایج: نتایج آنالیز پروتئینی روی داده‌های مرگ و میر پس از ۲۴ ساعت نشان داد که با افزایش غلظت اسانس‌ها میزان مرگ و میر سوسنی‌ها افزایش یافت. سمیت اسانس سیر (با LC<sub>50</sub> معادل ۰/۱۲ و ۰/۲۶ میلی لیتر بر مترمربع به ترتیب روی حشرات نر و ماده) به طور معنی دار بیشتر از اسانس نارنگی بود. همچنین، حشرات نر در مقایسه با حشرات ماده نسبت به اسانس‌های سیر و نارنگی حساس‌تر بودند (به ترتیب ۲/۲۴ و ۱/۵۸ برابر).

نتیجه‌گیری: با توجه به لزوم رعایت بهداشت و ایمنی محیط زیست، کاربرد ترکیبات سازگار با محیط زیست از جمله اسانس‌های گیاهی در مدیریت کنترل جمعیت سوسنی آلمانی توصیه می‌گردد.

وازگان کلیدی: اسانس‌های گیاهی، سمیت تماسی، سوسنی آلمانی، سیر، نارنگی

دو ماهنامه علمی-پژوهشی فیض، دوره نوزدهم، شماره ۴، مهر و آبان ۱۳۹۴، صفحات ۳۱۸-۳۰۹

این آفت به طور معمول با استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی نظری هیدروکربن‌های کلره، ارگانوفسفره‌ها، پیرتروئیدها و کاربامات‌ها کنترل می‌شود [۵]. اما بدلیل توسعه مقاومت به حشره‌کش‌ها [۶-۹] و اهمیت پژوهشی و اقتصادی سوسنی آلمانی در اماکن شهری، تحقیقات برای دست یابی به حشره‌کش‌ها و روش‌های جدید مبارزه با آن کماکان ادامه دارد [۱۰]. تناوب شیمیایی و محصولات و استراتژی‌های متفاوت برای کاهش احتمال توسعه مقاومت در جمعیت سوسنی توصیه گردیده است [۱۱]. همچنین، کاربرد ترکیبات طبیعی سازگار با محیط زیست نظری اسانس‌ها و متابولیت‌های ثانویه فرار گیاهی مورد توجه قرار گرفته‌اند [۱۲]. اسانس‌های گیاهی دارای بوی قوی و چگالی پایین‌تر از آب هستند [۱۳، ۱۴]. در حال حاضر، در میان گیاهان عالی ۱۷/۵۰۰ اسانس شناخته شده است که ۳۰۰۰ وجود دارد و حدود ۳۰۰۰ اسانس از نظر تجاری برای صنایع دارویی، آرایشی، کشاورزی و مواد غذایی مهم هستند [۱۵]. سیر گیاهی چند ساله است که به طور وسیع در سراسر جهان به عنوان گیاه دارویی و ادویه‌ای استفاده می‌شود [۱۶-۱۸]. ترکیبات شیمیایی اصلی اسانس سیر شامل مونو-سولفیدها، دی‌سولفیدها و تری‌سولفیدها هستند. همچنین، فعالیت

## مقدمه

سوسنی آلمانی (*Blattella germanica* L.) یک آفت مهم پژوهشی و اقتصادی است [۱]. این حشره به طور گسترده در مناطق شهری گسترش یافته و معمولاً در محیط‌های داخلی و گرم نظیر آشپزخانه‌ها، حمام‌ها و انبارهای مواد غذایی یافت می‌شود. مدفعه و پوسته‌های ناشی از پوست‌اندازی آن‌ها می‌تواند باعث حساسیت در افراد حساس شود [۲]. همچنین، قادر به انتقال میکرووارگانیسم‌های زیادی از جمله ویروس‌ها، باکتری‌ها، پروتوزوئرها و کرم‌های روده‌ای می‌باشند که برای انسان و حیات وحش بیماری‌زا هستند [۳، ۴].

۱ دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه گیاه‌پژوهشی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۲ استادیار، گروه گیاه‌پژوهشی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳ استاد، گروه گیاه‌پژوهشی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

۴ مری، گروه گیاه‌پژوهشی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

\*نشانی نویسنده مسئول؛

مشهد، میدان آزادی، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، گروه گیاه‌پژوهشی

تلفن: ۰۹۱۵-۰۵۳۳۵۹۵-۵۱۳۸۷۸۸۷۵

پست الکترونیک: moravej@um.ac.ir

تاریخ پذیرش نهایی: ۹۴/۶/۲۵

تاریخ دریافت: ۹۴/۹/۹

سازی سوسری‌ها، ماده‌های حامل کپسول تخم به طور انفرادی در ظروف جداگانه نگهداری شدند. ظروف پرورش در انکوباتور با شرایط دمای  $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ ، رطوبت نسبی  $40\pm 5$  درصد و دوره نوری ۱۲:۱۲ ساعت (روشنایی:تاریکی) نگهداری شدند. در فواصل بین ۱۰-۵ روز پس از ظهر حشرات کامل نر و ماده، از آن‌ها برای آزمایش‌های زیست‌سنگی استفاده شد. اسانس‌های دو گونه گیاه معطر سیر و نارنگی استخراج شدند. میوه نارنگی و پیازهای سیر به ترتیب در آبان و مرداد سال ۱۳۹۲ از بازار مرکزی مشهد جمع‌آوری شد. پس از تایید نام علمی آنها توسط بخش گیاهان دارویی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، اندام‌های موردنظر هر گیاه تحت شرایط سایه و تهیه مناسب خشک گردید. اسانس‌ها از طریق تقطیر با بخار آب با استفاده از دستگاه کلونجر به مدت ۴ ساعت استخراج شد و سپس با کمک سدیم سولفات آبگیری شد. اسانس‌های جمع‌آوری شده در ظروف شیشه‌ای تیره در یخچال (دما  $5^{\circ}\text{C}$ ) تا زمان استفاده نگهداری شد. آزمایش سمیت تماسی اسانس‌ها بر اساس روش Topondjon و همکاران (۲۰۰۵) با اندازی تغییرات روی کاغذ صافی (واتمن شماره ۱ Whatman) به قطر ۹ سانتی‌متر انجام گرفت [۴۱]. قبل از انجام آزمایش‌های اصلی جهت دست‌یابی به غلظت‌های مؤثر کشته شده اسانس‌ها به منظور تعیین  $\text{LC}_{50}$  و  $\text{LC}_{90}$  با انجام یکسری آزمایش‌های مقدماتی، محدوده غلظت‌های مناسب زیست‌سنگی با ایجاد تلفات بین ۲۰ تا ۹۰ درصد مشخص گردید. آزمایشات در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. آزمایش‌های اصلی در ۵ غلظت با فاصله لگاریتمی مساوی به علاوه شاهد، و در ۶ تکرار انجام گرفت. آزمایش‌ها روی سوسری‌های نر و ماده ۵ الی ۱۰ روزه به طور جداگانه صورت گرفت. اسانس سیر در مقادیر بین ۱/۲ تا ۲/۳ میکرولیتر (معادل ۰/۱۹ تا ۰/۳۶ میلی‌لیتر بر مترمربع) برای حشرات بالغ ماده و در مقادیر بین ۰/۰۹ تا ۰/۱۷ میلی‌لیتر بر مترمربع) برای حشرات بالغ نر استفاده شد. اسانس نارنگی در مقادیر بین ۱/۱ تا ۰/۶ میکرولیتر (معادل ۰/۱۷ میلی‌لیتر بر مترمربع) برای حشرات بالغ ماده و در مقادیر بین ۰/۲۳ تا ۰/۳۵ میکرولیتر (معادل ۳/۱۵ تا ۵/۵۰ میلی‌لیتر بر مترمربع) برای حشرات بالغ نر استفاده شد. غلظت‌های مختلف اسانس در ۱ میلی‌لیتر استون (ساخت شرکت مرک Merck آلمان) حل گردید و به کمک میکروپیپت روی سطح کاغذ صافی داخل ظروف پلاستیکی ریخته شد. در ظروف شاهد تها از استون استفاده شد. پس از گذشت ۵ دقیقه و تبخر حلال، تعداد ۱۰ سوسری آلمانی از هر جنس به صورت مجزا داخل ظروف آزمایش منتقل و درب ظرف روی آن قرار داده شد. بعد از ۲۴ ساعت، تعداد حشرات

حشره‌کشی اسانس سیر علیه آفات مختلف نشان داده شده است [۱۹-۲۲]. نارنگی متعلق به خانواده Rutaceae، درختانی کوتاه، همراه با گل‌های منفرد یا خوش‌های سفید و معطر هستند. ترکیب فعال موجود در اسانس پوست میوه مرکبات لیمون است. خواص حشره‌کشی پوست میوه تعدادی از گونه‌های مرکبات علیه برخی آفات گزارش شده است [۲۳-۲۶]. با توجه به فعالیت ضد باکتری، ضد قارچی و حشره‌کشی اسانس‌ها در طبیعت، این ترکیبات به طور گسترده در کنترل آفات به کار گرفته شده‌اند. علاوه بر این، سمیت کم برای پستانداران، موثر بودن در کنترل آفات مقاوم به حشره‌کش‌های مصنوعی و به طور کلی کاهش خطرات زیست محیطی، از جمله مزایای کاربرد اسانس‌های گیاهی در برنامه مدیریت تلفیقی آفات (IPM) ذکر شده است [۲۷]. اگرچه فعالیت حشره‌کشی تعداد زیادی از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی بر علیه چندین آفت اصلی کشاورزی و انباری نشان داده است [۲۸-۳۳]، اما مطالعات کمی برای کنترل سوسری آلمانی با استفاده از اسانس‌ها و ترکیبات مونوتربنوتید انجام شده است [۳۴-۳۶]. در مطالعات مختلف، فعالیت تنفسی اسانس‌های سیر (Allium sativum L.) [۳۷]، مرزنجوش (Origanum majorana L.) [۳۸] و فعالیت دورکنندگی نعناع (Mentha arvensis L.) [۳۹] و مرکبات (citrus) [۴۰] علیه سوسری‌ها مورد ارزیابی قرار گرفته است. در تحقیق حاضر برای اولین بار در ایران برخی اثرات بیولوژیک اسانس‌های گیاهی مشتق شده از سیر (Allium sativum) و نارنگی (Citrus nobilis) علیه حشرات بالغ سوسری آلمانی مورد بررسی قرار گرفته است.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش مداخله‌ای – آزمایشگاهی به بررسی سمیت تماسی اسانس سیر و نارنگی بر روی جمعیت حشرات کامل سوسری آلمانی پرداخت. آزمایشات زیست‌سنگی در آزمایشگاه سه شناسی دانشگاه فردوسی مشهد صورت گرفت و نتایج حاصل با استفاده از مدل پروبیت آنالیز گردید. از جمعیت سوسری آلمانی در خوابگاه‌ها و سلف دانشگاه فردوسی مشهد به روش صید دستی و تله گذاری نمونه برداری صورت گرفت. نمونه برداری‌ها معمولاً از اوایل شب تا نیمه‌های شب انجام می‌شد. سوسری‌ها پس از جمع‌آوری و انتقال به آزمایشگاه، جهت ازدیاد جمعیت در ظروف پلاستیکی حاوی نان خشک، بیسکویت، قند، سویا (به ترتیب به نسبت وزنی ۲، ۱، ۰/۱) پرورش داده شدند. جهت تامین آب مورد نیاز، از ظروف آبخوری پرنده‌گان استفاده شد. و از مقوا به عنوان پناهگاه در داخل ظروف پرورش استفاده گردید. به‌منظور همسن

الف و ب). در اثر اسانس نارنگی شبیخ طوط پروپیت حشرات ماده به طور معنی داری بزرگتر از حشرات نر ( $X^2=17.16, df=1, P<0.001$ ) بود (شکل شماره ۱، ج و د). مقایسه جفتی شبیخ طوط پروپیت بین اسانس ها در هر جنس حشره نشان داد که در حشرات نر بین شبیخ طوط پروپیت مرگ و میر در اثر اسانس سیر و اسانس نارنگی با یکدیگر اختلاف معنی داری وجود ندارد ( $X^2=1.75, df=1, P=0.19$ ): بنابراین شبیخ معادل  $8/71\pm 0/68$  به عنوان شبیخ مشترک بین دو اسانس برای خطوط پروپیت مرگ و میر حشرات نر محاسبه شد. شبیخ طوط پروپیت مرگ و میر حشرات ماده در اثر اسانس نارنگی به طور معنی داری بزرگتر از شبیخ نظری در اثر اسانس سیر بود ( $X^2=23.64, df=1, P<0.001$ ) نتایج مقایسه جفتی ثابت های خطوط پروپیت با استفاده از آزمون یکسان بودن خطوط نشان داد که بین ثابت های پروپیت مرگ و میر حشرات نر و ماده در اثر هر یک از اسانس های سیر ( $X^2=104.67, df=2, P<0.001$ ) و نارنگی ( $X^2=168.64, df=2, P<0.001$ ) اختلاف معنی داری وجود دارد. برای هر جنس حشره، مقایسه جفتی ثابت های خطوط پروپیت بین اسانس ها نشان داد که در حشرات نر ثابت خطوط پروپیت مرگ و میر در اثر اسانس های سیر و نارنگی با یکدیگر اختلاف معنی داری دارد ( $0/001$ ). هم چنین، نتایج مشابه برای حشرات ماده در اثر اسانس سیر و نارنگی به دست آمد ( $X^2=197.31, df=2, P<0.001$ ). مقادیر  $LC_{50}$  اسانس سیر بر علیه حشرات کامل نر و ماده بین  $0/026$  تا  $0/026$  میلی لیتر بر متربمیغ متغیر بود. فاکتور هتروژنیتی در اسانس سیر  $0/0$  برای حشرات ماده و برای حشرات نر  $0/006$  به دست آمد؛ فاکتور هتروژنیتی بزرگتر از ۱ برای افراد نر نشان دهنده اعمال فاکتور  $g$  ( $0/95$ ) در تصحیح مقادیر  $LC_{50}$  بود. مقادیر  $LC_{50}$  اسانس نارنگی محدوده ای از  $0/013$  تا  $0/052$  میلی لیتر بر متربمیغ به ترتیب علیه حشرات کامل نر و ماده به دست آمد. فاکتور هتروژنیتی در اسانس نارنگی برای افراد نر ( $0/039$ ) و ماده ( $0/019$ ) کمتر از یک به دست آمد. نتایج آنالیز پروپیت نشان داد که در همه موارد فاکتور  $g$  کمتر از  $0/05$  و مقدار آزمون  $t$  بیشتر از  $1/96$  است. مقایسه جفتی سمیت اسانس ها با استفاده از نسبت  $LC_{50}$  و حدود اطمینان  $95$  درصد نشان داد که برای هر یک از حشرات نر و ماده،  $LC_{50}$  اسانس نارنگی به طور معنی داری بزرگتر از  $LC_{50}$  اسانس سیر است (به ترتیب  $0/025$  و  $0/024$  برابر). مقایسه جفتی حساسیت حشرات نر و ماده نسبت به هر یک از اسانس ها نشان داد که شاخص  $LC_{50}$  اسانس سیر علیه حشرات ماده به طور معنی داری بزرگتر از میزان این شاخص در حشرات نر است ( $0/024$  برابر). هم چنین، شاخص  $LC_{50}$  اسانس

مرده ثبت گردید. حشراتی که قادر هر گونه حرکت بودند مرده در نظر گرفته شدند. داده های مرگ و میر حشرات بالغ برای هر یک از اسانس ها ۲۴ ساعت بعد از تیمار توسط مدل پروپیت آنالیز گردید و پارامترهای مختلف آن بین اسانس ها مقایسه شد. پارامترهای نظیر  $LC_{50}$  و حدود اطمینان  $95$  درصد، شبیخ و ثابت معادله های خطوط رگرسیون پروپیت مرگ و میر-غلظت، فاکتور  $g$ ، هتروژنیتی و نسبت  $t$  نیز مورد مقایسه قرار گرفتند. مقادیر  $LC_{50}$  و  $LC_{90}$  هر یک از اسانس ها توسط مدل پروپیت به کمک نرم افزار polo-pc و بروش فینی [۴۲] محاسبه گردید. مقایسه سمیت اسانس ها و  $LC_{50}$  یا  $LC_{90}$  با استفاده از نسبت  $t$  نیز مورد مقایسه قرار گرفتند. حدود اطمینان  $95$  درصد آنها با استفاده از روش روبرتسون و پریسلر صورت گرفت [۴۳].

## نتایج

سمیت تماسی اسانس سیر و نارنگی روی حشرات بالغ نر و ماده سوسنی آلمانی از طریق مقایسه مقادیر  $LC_{50}$  حاصل از آزمایشات زیست‌سنجه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمایش ها نشان داد که در هر دو اسانس مورد مطالعه با افزایش غلظت اسانس، میزان مرگ و میر حشرات نر و ماده افزایش یافت (جدول شماره ۱). در اثر تماس با اسانس سیر در مدت ۲۴ ساعت، پایین-ترین میزان مرگ و میر در افراد نر ( $0/071$  درصد) و ماده ( $0/020$  درصد) به ترتیب با غلظت های  $0/009$  و  $0/019$  میلی لیتر بر متربمیغ حاصل گردید. بالاترین میزان تلفات در افراد نر ( $0/071$  درصد) و ماده ( $0/017$  درصد) در اثر اسانس سیر به ترتیب با غلظت های  $0/036$  و  $0/036$  میلی لیتر بر متربمیغ حاصل گردید. هم چنین، در اسانس نارنگی، پایین-ترین میزان مرگ و میر ( $0/020$  درصد) در افراد نر و ماده به ترتیب در غلظت های  $0/015$  و  $0/028$  میلی لیتر بر متربمیغ حاصل گردید. بالاترین میزان تلفات در افراد نر ( $0/028$  درصد) و ماده ( $0/020$  درصد) در اثر اسانس نارنگی به ترتیب با غلظت های  $0/023$  و  $0/027$  میلی لیتر بر متربمیغ حاصل گردید. همچنان که در گروه شاهد تحت تیمار با حلال استون وجود نداشت. معادله رگرسیون پروپیت مرگ و میر-غلظت و سایر پارامترهای آنالیز سمیت در جدول ۲ ارائه شده است. مقایسه بین مقادیر شبیخ و ثابت خطوط رگرسیون پروپیت مرگ و میر-غلظت به ترتیب بر اساس آزمون های فرضیه موازی بودن خطوط و فرضیه یکسان بودن خطوط صورت گرفت. مقایسه شبیخ طوط پروپیت مرگ و میر بر اساس آزمون فرضیه موازی بودن نشان داد که در اثر اسانس سیر، شبیخ طوط پروپیت حشرات نر به طور معنی داری بزرگتر از حشرات ماده ( $X^2=7.11, df=1, P<0.01$ ) بود (شکل شماره ۱).

سمیت تماسی اسانس سیر (Allium sativum L.) ...

شده بعد از ۲۴ ساعت نشان داد که اسانس سیر نسبت به اسانس نارنگی دارای سمیت تماسی بیشتری علیه حشرات کامل سوسنی آلمانی بود (جدول شماره ۲).

نارنگی علیه حشرات ماده به طور معنی‌داری بزرگتر (۱/۵۸) از شاخص نظیر علیه حشرات نر بود (جدول شماره ۳). همچنین، در مقایسه‌های جفتی بر اساس شاخص LC<sub>90</sub> نتایج مشابه به دست آمد (جدول شماره ۴). به طور کلی مقادیر LC<sub>50</sub> و LC<sub>90</sub> محاسبه

جدول شماره ۱- درصد مرگ و میر حشرات کامل سوسنی آلمانی در اثر سمیت تماسی اسانس‌های سیر و نارنگی در غاظت‌های مختلف پس از ۲۴ ساعت

نوع اسانس	جنس حشره	غاظت اسانس (ml/m <sup>2</sup> )	خطای معیار ± میانگین
سیر (Allium sativum)	نر	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰
	سیر	۲۱/۶۷±۱/۶۷	۰/۰۹
	نر	۲۸/۳۳±۴/۷۷	۰/۱۱
	نر	۵۵/۰۰±۴/۲۸	۰/۱۳
	سیر	۹۰/۰۰±۶/۲۲	۰/۱۵
	نر	۹۶/۶۷±۲/۱۱	۰/۱۷
	نر	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰
نارنگی (Citrus nobilis)	نارنگی	۲۰/۰۰±۳/۶۵	۰/۱۹
	نارنگی	۳۰/۰۰±۳/۶۵	۰/۲۲
	نارنگی	۴۶/۶۷±۴/۲۲	۰/۲۶
	نارنگی	۶۵/۰۰±۴/۲۸	۰/۳۱
	نارنگی	۸۱/۶۷±۴/۷۷	۰/۳۶
	نارنگی	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰
	نارنگی	۲۰/۰۰±۲/۵۸	۳/۱۵
ماده	نارنگی	۳۱/۶۷±۳/۰۷	۳/۶۲
	ماده	۵۰/۰۰±۲/۵۸	۴/۱۶
	نارنگی	۶۵/۰۰±۴/۲۸	۴/۷۹
	نارنگی	۸۶/۶۷±۳/۳۳	۵/۵۰
	نارنگی	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰
	نارنگی	۲۰/۰۰±۲/۵۸	۵/۸۲
	نارنگی	۴۸/۳۳±۴/۷۷	۶/۱۵
سیر	نارنگی	۵۰/۰۰±۳/۶۵	۶/۴۹
	نارنگی	۶۵/۰۰±۴/۲۸	۶/۸۵
	نارنگی	۸۰/۰۰±۵/۷۷	۷/۲۳
	نارنگی	۰/۰۰±۰/۰۰	۰/۰۰
	نارنگی	۲۰/۰۰±۲/۵۸	۳/۱۵
	نارنگی	۳۱/۶۷±۳/۰۷	۳/۶۲
	نارنگی	۵۰/۰۰±۲/۵۸	۴/۱۶

جدول شماره ۲- آنالیز پروبیت مرگ و میر غاظت ناشی از سمیت تماسی اسانس‌های سیر و نارنگی روی حشرات کامل سوسنی آلمانی پس از ۲۴ ساعت

نوع اسانس	جنس حشره	n	پروبیت مرگ و میر- غاظت	خطای معیار ± ثابت	خطای معیار ± ثبات	نسبت <sup>†</sup>	هetroژنیتی	فاکتور g	خطای معیار ± محدود اطمینان (%)
نارنگی	نر	۳۶۰	۸/۸۹ (±۰/۰۹)	۹/۵۹ (±۰/۹۷)	۰/۴۲	۴/۰۶	۹/۸۸	۰/۱۶	LC <sub>90</sub>
نارنگی	نارنگی	۳۶۰	۳/۶۰ (±۰/۴۸)	۶/۲۴ (±۰/۸۲)	۰/۰۷	۰/۱۲	۷/۶۵	۰/۴۲	LC <sub>50</sub>
سیر	نارنگی	۳۶۰	-۴/۷۹ (±۰/۶۰)	۷/۷۷ (±۰/۹۷)	۰/۰۶	۰/۳۹	۸/۰۱	۴/۱۳	LC <sub>90</sub>
سیر	نارنگی	۳۶۰	-۱۵/۰۳ (±۱/۹۹)	۱۸/۴۵ (±۲/۴۴)	۰/۰۷	۰/۱۹	۷/۵۶	۶/۵۲	LC <sub>50</sub>
نارنگی	نارنگی	۳۶۰	-۴/۷۹ (±۰/۶۰)	۷/۷۷ (±۰/۹۷)	۰/۰۶	۰/۳۹	۸/۰۱	۴/۱۳	LC <sub>90</sub>
نارنگی	نارنگی	۳۶۰	-۱۵/۰۳ (±۱/۹۹)	۱۸/۴۵ (±۲/۴۴)	۰/۰۷	۰/۱۹	۷/۵۶	۶/۵۲	LC <sub>50</sub>
نارنگی	نارنگی	۳۶۰	-۴/۷۹ (±۰/۶۰)	۷/۷۷ (±۰/۹۷)	۰/۰۶	۰/۳۹	۸/۰۱	۴/۱۳	LC <sub>90</sub>
نارنگی	نارنگی	۳۶۰	-۱۵/۰۳ (±۱/۹۹)	۱۸/۴۵ (±۲/۴۴)	۰/۰۷	۰/۱۹	۷/۵۶	۶/۵۲	LC <sub>50</sub>
نارنگی	نارنگی	۳۶۰	-۴/۷۹ (±۰/۶۰)	۷/۷۷ (±۰/۹۷)	۰/۰۶	۰/۳۹	۸/۰۱	۴/۱۳	LC <sub>90</sub>
نارنگی	نارنگی	۳۶۰	-۱۵/۰۳ (±۱/۹۹)	۱۸/۴۵ (±۲/۴۴)	۰/۰۷	۰/۱۹	۷/۵۶	۶/۵۲	LC <sub>50</sub>

n = تعداد حشرات مورد آزمایش

جدول شماره ۳- نسبت  $LC_{50}$  و حدود اطمینان ۹۵ درصد آنها جهت مقایسه سمیت تاماسی انسان‌های سیر و نارنگی علیه حشرات کامل

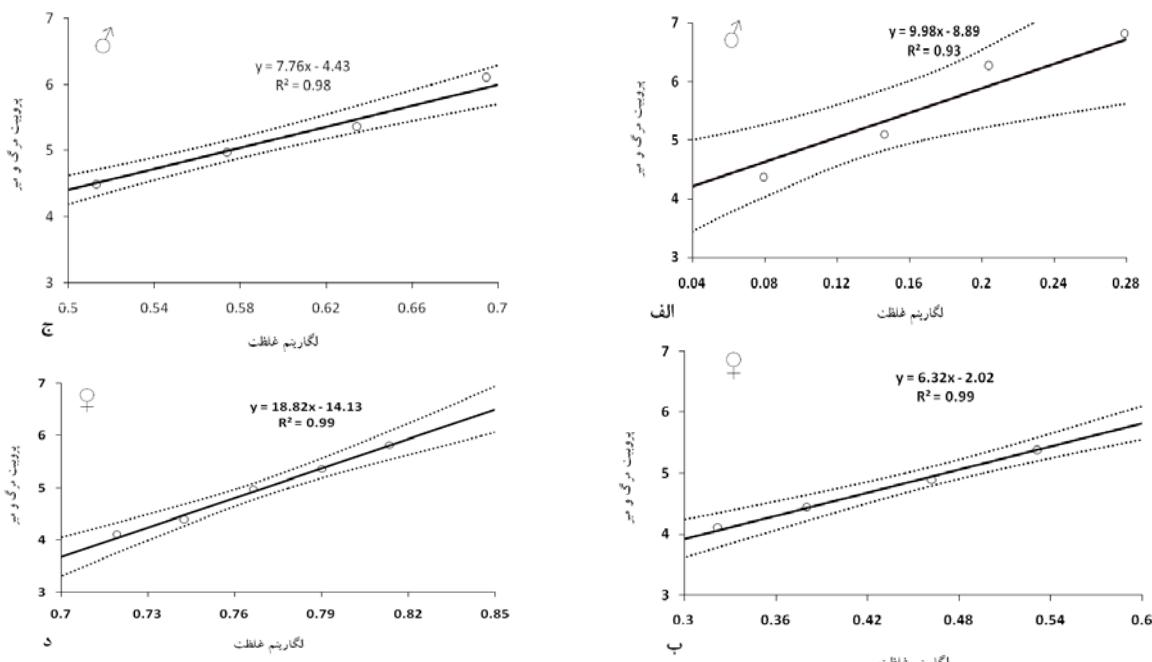
سوسزی آلمانی		نوع انسان	متغیر
حدود اطمینان ۹۵ درصد	$LC_{50}$ نسبت ماده		
مقایسه بین حساسیت حشرات نر و ماده	$LC_{50}$ نز: ماده	سیر	
۲/۰۹-۲/۴۱*	۲/۲۴	نارنگی	
۱/۵۰-۱/۶۶*	۱/۵۸		
جنس حشره (سیر: $LC_{50}$ نارنگی)	مقایسه بین سمیت انسان‌ها		
$LC_{50}$ ماده	۲۳/۱۹-۲۶/۱۷*	ماده	
$LC_{50}$ نر	۳۲/۹۱-۳۷/۲۶*	نر	

\* حدود اطمینان ۹۵ درصد بر اساس روش روپرتسون و پریسلر (۱۹۹۲) محاسبه شد [۴۳].

° اختلاف معنی‌داری بین  $LC_{50}$  های مقایسه شده در سطح ۵ درصد وجود دارد.جدول شماره ۴- نسبت  $LC_{90}$  و حدود اطمینان ۹۵ درصد آنها جهت مقایسه سمیت تاماسی انسان‌های سیر و نارنگی علیه حشرات کامل

سوسزی آلمانی		نوع انسان	متغیر
حدود اطمینان ۹۵ درصد	$LC_{90}$ نسبت ماده		
مقایسه بین حساسیت حشرات نر و ماده	$LC_{90}$ نز: ماده	سیر	
۲/۲۷-۳/۰۹*	۲/۶۴	نارنگی	
۱/۱۳-۱/۴۲*	۱/۲۷		
جنس حشره (سیر: $LC_{90}$ نارنگی)	مقایسه بین سمیت انسان‌ها		
$LC_{90}$ ماده	۱۵/۵۶-۲۰/۸۷*	ماده	
$LC_{90}$ نر	۳۳/۲۰-۴۲/۶۳*	نر	

\* حدود اطمینان ۹۵ درصد بر اساس روش روپرتسون و پریسلر (۱۹۹۲) محاسبه شد [۴۳].

° اختلاف معنی‌داری بین  $LC_{50}$  های مقایسه شده در سطح ۵ درصد وجود دارد.

شکل شماره ۱- رگرسیون پروریت مرگ و میر حشرات بالغ نر (♂) و ماده (♀) سوسزی آلمانی تحت تیمار انسان‌های سیر (الف و ب) و نارنگی (ج و د)

جمله فعالیت ضدتغذیه‌ای، دورکنندگی، مهار تنفس و رشد، کاهش باروری و تخریب کوتیکول گزارش شده است [۴۷-۴۴]. در تحقیقات برای جایگزین حشره‌کش‌های شیمیایی، انسان‌ها به طور گستردۀ مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. در مطالعه حاضر نتایج بررسی

### بحث

اغلب گیاهان قادر به تولید ترکیبات شیمیایی ثانویه هستند که آنها را جهت حفاظت یا دفاع از خود در مقابل حمله و تغذیه گیاه‌خواران به کار می‌گیرند. خواص متعددی برای این ترکیبات از

ترتیب با  $LC_{50}$  ۰/۰۱۳ و ۰/۰۲۹ میلی گرم بر سانتی متر مریع روی حشرات نر و ماده بیشتر از اسانس مرزنگوش و پروپوکسور در تحقیق فوق است. مطالعه Zhu و همکاران روی سمیت تماسی اسانس سلمه تره (*Chenopodium ambrosioides*) و ۳ ترکیب اصلی تشکیل دهنده آن روی حشرات بالغ سوسنی آلمانی  $LD_{50}$  معادل ۲۲/۰۲ میکرو گرم بر وزن بدن حشره سمی ترین ترکیب است [۵۵]. سمیت تماسی اسانس های *Mentha*, *Cymbopogen citratus*, *Eucalyptus citriodora arvensis* بر علیه سوسنی آمریکایی *Periplaneta americana* مورد بررسی قرار گرفته است [۵۶]. نتایج نشان داد اسانس *C. citratus* بالاترین سمیت تماسی را در فواصل زمانی ۲، ۴، ۶ تا ۲۴ ساعت با  $LC_{50}$  معادل ۷/۰۵، ۸/۰۱ و ۴/۸۹ و ۳/۳۹ دارد. در یک مطالعه سمیت موضعی اسانس نعناع روی سوسنی آمریکایی و آلمانی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد مقادیر  $LD_{50}$  اسانس نعناع برای سوسنی آمریکایی و سوسنی آلمانی به ترتیب ۲/۵۷ و ۲/۵۷ درصد از ۱۰ میکرولیتر و ۳/۸۳ درصد از ۲ میکرولیتر است [۳۹]. در مطالعات سایر پژوهشگران سمیت تماسی ترکیبات موئوتپن و اسانس های گیاهی حاوی این ترکیبات روی آفات مختلف گزارش گردیده است. Mishra و همکاران سمیت تماسی اسانس پوست میوه مرکبات بر علیه حشرات کامل شپشه آرد (*Tribolium castaneum*) و شپشه برنج (*Sitophilus oryzae*) را مورد بررسی قرار دادند و مقادیر  $LC_{50}$  تماسی اسانس پوست نارنگی پس از ۲۴ ساعت تحت تاثیر اسانس را به ترتیب ۲۵/۷۹ و ۲۴/۴۷ میکرولیتر گزارش کردند [۵۷]. با توجه به روش به کار رفته در تحقیق فوق، این میزان به ترتیب معادل ۴/۰۵ و ۳/۸ میلی لیتر بر متر مریع می باشد که با میزان  $LC_{50}$  اسانس نارنگی در تحقیق حاضر علیه حشرات کامل نر سوسنی (معادل ۴/۱۳ میلی لیتر بر متر مریع) تطابق دارد. Ho و همکاران با مطالعه سمیت تماسی اسانس سیر، شاخص  $KD_{50}$  (Knock down) روی حشرات کامل شپشه آرد و شپشه ذرت (*Sitophilus zeamais*) را به ترتیب معادل ۱/۳۲ و ۷/۶۵ میلی گرم بر سانتی متر مریع ۲۴ ساعت پس از تیمار گزارش کردند [۵۸]. شاخص های به دست آمده بسیار بیشتر از شاخص های  $LC_{50}$  گزارش شده برای سوسنی آلمانی در تحقیق حاضر می باشد (با  $LC_{50}$  معادل ۰/۰۱۳ و ۰/۰۲۹ میلی گرم بر سانتی متر مریع به ترتیب علیه جنس نر و ماده). در مطالعه Chew و Ho سمیت تماسی اسانس سیر به روش موضعی روی حشرات کامل شپشه آرد موردن بررسی قرار گرفت و میزان  $LD_{50}$  آن ۳/۱۱ میلی گرم بر گرم وزن بدن حشره گزارش گردید [۵۹]. نتیجه بررسی مذکور به دلیل

سمیت تماسی اسانس های سیر و نارنگی پس از ۲۴ ساعت روی حشرات کامل سوسنی آلمانی نشان داد که میزان تلفات وابسته به نوع اسانس و غلظت است؛ به طور کلی با افزایش غلظت اسانس میزان مرگ و میر حشرات کامل افزایش یافت. وجود روابط مثبت بین میزان تلفات و غلظت به وسیله آنالیز پروبیت نیز تایید گردید. در مطالعات سایر محققان روی ترکیبات شیمیایی مختلف وجود روابط مثبت بین غلظت با میزان تلفات آفات مختلف گزارش شده است [۴۸، ۴۹]. مقادیر  $LC_{50}$  محاسبه شده نشان داد که اسانس سیر در مقایسه با اسانس نارنگی فعالیت تماسی شدیدتری بر علیه هر دو جنس نر و ماده سوسنی آلمانی دارد. در این مطالعه مقادیر  $LC_{50}$  اسانس سیر برای حشرات نر و ماده سوسنی به ترتیب معادل ۰/۱۲ و ۰/۲۶ میلی لیتر بر متر مریع بود. مقایسه حساسیت حشرات نر و ماده با استفاده از نسبت  $LC_{50}$  و حدود اطمینان ۹۵ درصد آنها نشان داد که حشرات نر در مقایسه با حشرات ماده نسبت به اسانس ها حساس تر هستند (به ترتیب ۲/۲۴ و ۱/۵۸ برابر). تفاوت حساسیت حشرات نر و ماده به اسانس ها ممکن است ناشی از تفاوت در اندازه بدن، میزان چربی و نیز تفاوت در میزان فعالیت آنها باشد. به طور کلی این نتایج با نتایج مطالعه Lee Chia و منطبق است که نشان دادند حشرات نر سوسنی آلمانی در مقایسه با حشرات ماده حساسیت پیش تری نسبت به سموم دی کلورووس و پروپوکسور دارند [۵۰]. همچنین، در بررسی های Appel و Phillips حساسیت مراحل مختلف سنی سوسنی آلمانی به سمیت تماسی ۱۲ ترکیبات اسانس به ترتیب پوره های کوچک، متوسط، نرهای بالغ، پوره های بزرگ، ماده های باردار، ماده های بالغ کاهش یافته [۵۱]. ماده های بالغ و پوره های بزرگ نسبت به ماده های باردار و نرهای بالغ چربی نسبتاً بیشتری در بدن دارند [۵۲]. اسانس های گیاهی به دلیل حلالت در چربی، ممکن است در چربی بدن به دام افتاده و از رسیدن آن به محل ترکیب توسط رفتار هر مرحله سنی تحت تاثیر قرار گیرد. تحرک مراحل رشدی و فیزیولوژیکی برخی مراحل سنی نسبت به دیگر مراحل بیشتر هستند؛ به عنوان مثال سوسنی های نر بالغ بیشتر از پوره های ماده های بالغ بیشتر از ماده های باردار فعال هستند [۵۴]. مطالعات اندکی روی اثر سمیت تماسی اسانس ها علیه سوسنی ها انجام شده است. مطالعه Jang و همکاران نشان داد که اسانس مرزنگوش (*Origanum majorana*) با  $LC_{50}$  معادل ۰/۰۸ میلی گرم بر سانتی متر مریع نسبت به پروپوکسور  $LC_{50}$  معادل ۰/۱۸ میلی گرم بر سانتی متر مریع (برای سوسنی آلمانی سمی تر است [۳۸]. بر اساس نتایج مطالعه حاضر سمیت اسانس سیر (به-

بیشتر سازگاری داشته باشد.

### نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که انسانس سیر و نارنگی به عنوان جایگزین آفت کش‌های شیمیایی می‌تواند جهت کنترل سوسنی آلمانی مفید باشد. در واقع انسانس‌های گیاهی محصولات تجدید پذیر و قابل تجزیه هستند. از آنجایی که انسانس‌ها در دوزهای پایین عمل می‌کنند، مقرون به صرفه هستند و اثرات زیست محیطی کمی دارند. با این حال، برای استفاده عملی از این انسانس‌ها و ترکیبات مونوتربوتیوئید به عنوان حشره‌کش، مطالعات بیشتری در مورد اینها روی پستانداران و توسعه فرمولاسیون‌های مناسب برای بهبود اثربخشی و ثبات آنها مورد نیاز است.

### تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول می‌باشد. از معاونت محترم پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد به خاطر پشتیبانی مالی صمیمانه تشکر می‌کنیم. هم‌چنین، از سرکار خانم مهندس منفرדי کارشناس آزمایشگاه گروه گیاه‌پزشکی آن دانشگاه و مهندس سعید هاتفی به‌خاطر همکاری در طی انجام آزمایشات کمال تشکر را داریم.

تفاوت در روش انجام آزمایش و نوع حشره مورد آزمایش با نتایج بررسی حاضر قابل قیاس نمی‌باشد. در یک سمیت تماشی دو ترکیب عمده انسانس سیر، متیل آلیل دی سولفید و دی آلیل تری سولفید، بر علیه حشرات بالغ شپشه ذرت و شپشه آرد مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که دی آلیل تری سولفید به ترتیب با مقدار LD<sub>50</sub> معادل ۶/۳۲ و ۰/۸۳ میلی گرم بر میلی گرم وزن بدن حشره برای بالغین این دو گونه حشره نسبت به متیل آلیل دی سولفید سمی‌تر است [۶۰]. هم‌چنین، نتیجه بررسی مذکور بهدلیل تفاوت در روش انجام آزمایش و نوع حشره مورد آزمایش با نتایج بررسی حاضر قابل قیاس نمی‌باشد. آنالیز شیمیایی انسانس‌های گیاهی سیر و نارنگی نشان می‌دهد که اصلی ترین ترکیب‌ها در انسانس سیر ترکیبات حاوی گوگرد از قبیل دی آلیل دی سولفید، دی آلیل تری سولفید و متیل آلیل تری سولفات، و در انسانس نارنگی لیموزن است [۶۱]. بنابراین، مونوتربوتین‌ها و سایر متابولیت‌های ثانویه ممکن است اثر سمیت تماشی انسانس‌های سیر و نارنگی روی سوسنی آلمانی در بررسی حاضر را توجیه کند. اگرچه روش تماشی انجام شده در این آزمایش از طریق کاغذ صافی نسبت به روش رایج قطvre گذاری روی بدن حشرات با دقت کمتری فعالیت تماشی ترکیبات را برآورد می‌کند، ولی به نظر می‌رسد در شرایط صحراوی استفاده از این روش با شرایط کاربردی

### References:

- [1] Roberts J. Cockroaches Linked with Asthma. *BMJ* 1996; 312(7047): 1630-7.
- [2] Schal C, Hamilton RL. Integrated suppression of synanthropic cockroaches. *Ann Rev Entomol* 1990; 35: 521-51.
- [3] Roth LM, Willis ER. The Biotic Association of Cockroaches. Coll: Smithsonian Misc 1960. p. 1-470.
- [4] Roth LM, Willis ER. The Medical and Veterinary Importance of Cockroaches. Washington: Smithsonian Institution; 1957.
- [5] Rust MK, Reierson DA, Ziechner BC. Relationship between insecticide resistance and performance in choice tests of field collected German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae). *J Econ Entomol* 1993; 86(4): 1124-30.
- [6] Rust MK, Reierson DA. Chlorpyrifos resistance in German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae) from restaurants. *J Econ Entomol* 1991; 84(3): 736-40.
- [7] Dong K, Valles SM, Scharf ME, Zeichner B, Bennett GW. The knockdown resistance (kdr) mutation in pyrethroidresistant German cockroaches. *Pestic Biochem Physiol* 1998; 60: 195-204.
- [8] Holbrook GL, Roebuck J, Moore CB, Schal C. Prevalence and magnitude of insecticide resistance in the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *Proceedings of the 3rd International Conference of Urban Pests* 1999. p. 141-5.
- [9] JiaLin Z, MingSheng W, JianMing C. Resistance investigation of *Blattella germanica* to six insecticides and control strategy in Hefei city. *Chinese J Vector Bio Cont* 2007; 18: 98-99.
- [10] Alali FQ, Kaakeh W, Bennett GW, McLaughlin JL. Annoaceous are acetogenins as natural pesticides: Potent toxicity against insecticide susceptible and resistant German cockroach. *J Econ Entomol* 1998; 91(3): 641-9.
- [11] Barclay SJ. Cockroaches, In: S.A. Hedges, Editor. *Handbook of Pest Control*. Richfield, OH: GIE Media Inc; 2004. p. 121-215.
- [12] Isman MB. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Ann Rev Entomol* 2006; 51: 45-66.
- [13] Bruneton J. *Pharmacognosy, Phytochemistry, Medicinal Plants: Essential Oils*. 2<sup>nd</sup> ed. New York: Lavoisier Publishing; 1999. p. 461-780.

- [14] Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils. A review. *Food Chem Toxicol* 2008; 46(2): 446-75.
- [15] Tripathi AK, Prajapati V, Aggarwal KK, S KSP, and Kumar S. A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. *J Physiol Pathophysio* 2009; 93: 43-7.
- [16] Li T, Ito K, Sumi S, Fuwa T, Horie T. Protective effect of aged garlic extract (AGE) on the apoptosis of intestinal epithelial cells caused by methotrexate. *Cancer Chemother Pharmacol* 2009; 63(5): 873-80.
- [17] Namazi H. The role of garlic in the prevention of ischemia-reperfusion injury: a new mechanism. *Mol Nutr Food Res* 2008; 52(6): 739-40.
- [18] Sfaxi IH, Ferraro D, Fasano E, Pani G, Limam F, Marzouki MN. Inhibitory effects of a manganese superoxide dismutase isolated from garlic (*Allium sativum* L.) on in vitro tumoral cell growth. *Biotechnol Prog* 2009; 25(1): 257-64.
- [19] Dugravot S, Sanon A, Thibout E, and Huignard J. susceptibility of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae) and its *Parasitoid Dinarmus basalis* (Hymenoptera: Pteromalidae) to Sulphur-Containing Compounds: Consequences on Biological Control. *Environ Entomol* 2002; 31: 550-7.
- [20] Kimbaris AC, Kioulos E, Koliopoulos G, Polissiou MG, Michaelakis A. Coactivity of sulfide ingredients: a new perspective of the larvicidal activity of garlic essential oil against mosquitoes. *Pest Manag Sci* 2009; 65(3): 249-54.
- [21] Park IK, Choi KS, Kim DH, Choi IH, and Kim LS. Fumigant activity of plant essential oils and components from horseradish (*Armoracia rusticana*), anise (*Pimpinella anisum*) and garlic (*Allium sativum*) oils against *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae). *Pest Manag Sci* 2006; 62: 728-32.
- [22] Park IK, Shin SC. Fumigant activity of plant essential oils and components from garlic (*Allium sativum*) and clove bud (*Eugenia caryophyllata*) oils against the Japanese termite (*Reticulitermes speratus* Kolbe). *J Agric Food Chem* 2005; 53(11): 4388-92.
- [23] Don-Pedro KN. Toxicity of some citrus peels to *Dermestes maculatus* Deg. and *Callosobruchus maculatus* (F.). *J Stored Prod Res* 1985; 21(1): 31-34.
- [24] Elhag EA. Deterrent effects of some botanical products on oviposition of the cowpea bruchid *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Int J Pest Manage* 2000; 46(2): 109-13.
- [25] Moravvej G, Abbar S. Fumigant Toxicity of Citrus Oils against Cowpea Seed Beetle *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Pakistan J Biol Sci* 2008; 11(1): 48-54.
- [26] Moravvej G, Hassanzadeh-khayyat M, Abbar S. Vapor activity of essential oils extracted from fruit peels of two Citrus species against adults of *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Bruchidae). *Turk Entomol Derg* 2010; 34(3): 279-88.
- [27] Regnault-Roger C. The potential of botanical essential oils for insect pest control. *Integ Pest Manag Reviews* 1997; 2(1): 25-34.
- [28] Regnault-Roger C, Hamraoui A, Holeman M, Theron E, Pinel R. Insecticidal effect of essential oils from Mediterranean plants upon *Acanthoscelides obtectus* (Say)(Coleoptera: Bruchidae) a pest of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J Chem Ecol* 1993; 19(6): 1231-42.
- [29] Lee SE, Lee BH, Choi WS, Park BS, Kim JG, Campbell BC. Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plants towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). *Pest Manag Sci* 2001; 57(6): 548-53.
- [30] Papachristos DP, Stamopoulos DC. Toxicity of vapours of three essential oils to the immature stages of *Acanthoscelides obtectus* (Say.) (Coleoptera: Bruchidae). *J Stored Prod Res* 2002; 38(2): 365-73.
- [31] Kim SI, Park C, Ohh MH, Cho HC, Ahn YJ. Contact and fumigant activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Lasioderma serricorne* (Coleoptera: Anobiidae). *J Stored Prod Res* 2003; 39: 11-9.
- [32] Park IK, Choi KS, Kim DH, Choi IH, Kim LS. Fumigant activity of plant essential oils and components from horseradish (*Armoracia rusticana*), anise (*Pimpinella anisum*) and garlic (*Allium sativum*) oils against *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae). *Pest Manag Sci* 2006; 62: 728-32.
- [33] Rozman V, Kalinovic I, Korunic Z. Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored product insects. *J Stored Prod Res* 2007; 43: 349-55.
- [34] Chang KS, Ahn YJ. Fumigant activity of (E)-anethole identified in *Illicium verum* fruit against *Blattella germanica*. *Pest Manag Sci* 2001; 58(2): 161-6.
- [35] Peterson CJ, Nemetz LT, Jones LM, Coats JR. Behavioral activity of Catnip (Lamiaceae) essential oil components to the German cockroach (Blattodea: Blattellidae). *J Econ Entomol* 2002; 95(2): 377-80.
- [36] Lee S, Peterson CJ, Coats JR. Fumigation toxicity of monoterpenoids to several stored product insects. *J Stored Prod Res* 2003; 39: 77-85.
- [37] Tunaz H, Kubilay M, Isikber A. Fumigant toxicity of plant essential oils and selected monoterpenoid components against the adult German Cockroach, *Blattella germanica* (L.) (Dictyoptera: Blattellidae). *Turk J Agric For* 2009; 33(2): 211-7.

- [38] Jang YS, Yang YC, Chio DS, Ahn YJ. Vapor Phase Toxicity of Marjoram Oil Compounds and Their Related Monoterpoids to *Blattella germanica* (Orthoptera: Blattellidae). *J Agric Food Chem* 2005; 53(20): 7892-8.
- [39] Appel AG, Gehret MJ, and Tanley MJ. Repellency and toxicity of mint oil to American and German Cockroaches (Dictyoptera: Blattidae and Blattellidae). *J Agric Urban Entomol* 2001; 18(3): 149-56.
- [40] Yoon C, Kang SH, Yang JO, Noh DJ, Indiragandhi P, Kim GH. Repellent activity of citrus oils against the cock-roaches *Blattella germanica*, *Periplaneta Americana* and *P. fuliginosa*. *J Pestic Sci* 2009; 34: 77-88.
- [41] Topondjon AL, Adler C, Fontem DA, Bouda H, Reichmuth C. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Tribolium confusum* du val. *J Stored Prod Res* 2005; 41(1): 91-102.
- [42] Finney DL. Probit Analysis. 3<sup>rd</sup> ed. Cambridge: Cambridge University Press; 1971.
43. Robertson JL, Preisler HK. Pesticide bioassays with arthropods. Florida: C. Press, Editor; 1992. p. 127.
- [44] Akthar Y, Isman MB. Comparative growth inhibitory and antifeedant effects of plant extracts and pure allelochemicals on four phytophagous insect species. *J Appl Entomol* 2004; 128(1): 32-8.
- [45] Enan E. Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2001; 130(3): 325-37.
- [46] Isman MB. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protect* 2000; 19(8-10): 603-8.
- [47] Kostyukovsky M, Rafaeili A, Gileady C, Demchenko N, Shaaya E. Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: possible mode of action against insect pests. *Pest Manag Sci* 2002; 58(11): 1101-6.
- [48] Mahfuz I, and Khalequzzaman M. Contact and fumigant toxicity of essential oils against *Callosobruchus maculatus*. *Rajshahi Univ J Zool* 2007; 26: 63-6.
- [49] Owolabi MS, Oladimeji MO, Lajide L, Singh G, Marimuthu P, Isidorov VA. Bioactivity of three plant derived essential oils against the maize weevils *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) and cowpea weevils *Callosobruchus maculatus* (Fabricius). *Electron J Environ Agric Food Chem* 2009; 8(9): 828-35.
- [50] Chia PR, Lee CY. Insecticide resistance profiles and synergism in field populations of the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) from Singapore. *J Econ Entomol* 2010; 103(2): 460-71.
- [51] Phillips AK, Appel AG. Fumigant Toxicity of essential oils to the German Cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *J Econ Entomol* 2010; 103(3): 781-90.
- [52] Abd-Elghafar SF, Appel AG, Mack TP. Toxicity of several insecticide formulations against adult German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae). *J Econ Entomol* 1990; 83(6): 2290-4.
- [53] Yu SJ. The Toxicology and Biochemistry of Insecticides, ed. T. Francis. Bacon Raton, FL: CRC Press; 2008.
- [54] Dingha BN, Appel AG, Eubanks MD. Discontinuous carbon dioxide release in the German cockroach, *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae), and its effect on respiratory transpiration. *J Insect Physiol* 2005; 51(7): 825-36.
- [55] Zhu WX, Zhao K, Chu SS, Liu ZL. Evaluation of essential oil and its three main active ingredients of *Chinese Chenopodium ambrosioides* (Family: Chenopodiaceae) against *Blattella germanica*. *J Arthropod Borne Dis* 2012; 6(2): 90-7.
- [56] Manzoor F, Munir N, Ambreen A, Naz S. Efficacy of some essential oils against American cockroach, *Periplaneta americana* (L.). *J Med Plants Res* 2012; 6(6): 1065-9.
- [57] Mishra B, Tripathi SP, Tripathi CPM. Contact Toxicity of Essential Oil of *Citrus reticulate* Fruits Peel Against Stored Grain Pests *Sitophilus oryzae* (Linnaeus) and *Tribolium castaneum* (Herbst). *J Zool* 2011; 6: 307-11.
- [58] Ho SH, Koh L, Ma Y, Huang Y, Sim KY. The oil of garlic, *Allium sativum* L. (Amaryllidaceae), as a potential grain protectant against *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Motsch. *Postharvest Biol Technol* 1996; 9(1): 41-8.
- [59] Chew JZG, Ho SH. Bioactivities of Pepper Extract and Garlic Oil on *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). *J Stored Prod Res* 2002; 36: 217-28.
- [60] Huang Y, Chen SX, Ho SH. Bioactivities of methyl allyl disulfide and diallyl trisulfide from essential oil of garlic to two species of stored-product pests, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *J Econ Entomol* 2000; 93(2): 537-43.
- [61] Ariga T, Oshima S, Tamada T. Platelets aggregation inhibition in garlic. *Lancet* 1981; 1(8212): 1-150.