Original Article

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^2, and the *C. nobilis* oil was applied in the ranges of 5.82-7.23 and 3.15-5.50 ml/m^2 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_{50} values of 0.12 and 0.26 ml/m^2 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* (Ten.) Swingle) روی حشرات کامل سوسری آلمانی (*Blattella germanica* (L.) (Dictyoptera: Blattellidae)

فاطمه وظیفه شناس [۱]، غلامحسین مروج [۲*]، حسین صادقی [۳]، سعید هاتفی [۴]

خلاصه:

سابقه و هدف: امروزه تحقیقات برای دست‌یابی به حشره‌کش‌های سازگار با محیط زیست به‌دلیل توسعه مقاومت به حشره‌کش‌های شیمیایی و اهمیت پزشکی و اقتصادی سوسری 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 سوسری آلمانی مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: اسانس‌های گیاهی به‌وسیله دستگاه کلونجر به‌روش 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 ۰/۱۹ تا ۰/۳۶ میلی‌لیتر بر مترمربع روی حشرات ماده و مقادیر ۰/۰۹ تا ۰/۱۷ میلی‌لیتر بر مترمربع روی حشرات نر، و از اسانس نارنگی مقادیر بین ۵/۸۲ تا ۷/۲۳ میلی‌لیتر بر مترمربع روی حشرات ماده و مقادیر ۳/۱۵ تا ۵/۵۰ میلی‌لیتر بر مترمربع روی حشرات نر استفاده گردید.

نتایج: نتایج آنالیز پروبیت روی داده‌های مرگ و میر پس از ۲۴ ساعت نشان داد که با افزایش غلظت اسانس‌ها میزان مرگ و میر سوسری‌ها افزایش یافت. سمیت اسانس سیر (با LC_{50} معادل ۰/۱۲ و ۰/۲۶ میلی‌لیتر بر مترمربع به‌ترتیب روی حشرات نر و ماده) به‌طور معنی‌دار بیشتر از اسانس نارنگی بود. هم‌چنین، حشرات نر در مقایسه با حشرات ماده نسبت به اسانس‌های سیر و نارنگی حساس‌تر بودند (به‌ترتیب 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 سوسری آلمانی توصیه می‌گردد.

واژگان کلیدی: اسانس‌های گیاهی، سمیت تماسی، سوسری آلمانی، سیر، نارنگی

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

مقدمه

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

این آفت به‌طور معمول با استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی نظیر هیدروکربن‌های کلره، ارگانوفسفره‌ها، پیرتروئیدها و کاربامات‌ها کنترل می‌شود [۵]. اما به‌دلیل توسعه مقاومت به حشره‌کش‌ها [۶-۹] و اهمیت پزشکی و اقتصادی سوسری آلمانی در اماکن شهری، تحقیقات برای دست‌یابی 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 سوسری توصیه گردیده است [۱۱]. هم‌چنین، کاربرد ترکیبات طبیعی سازگار با محیط زیست نظیر 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 گونه گیاهی معطر [۱۳] وجود دارد و حدود ۳۰۰۰ اسانس شناخته شده است که ۳۰۰ اسانس از نظر تجاری برای صنایع داروسازی، آرایشی، کشاورزی و مواد غذایی مهم هستند [۱۵]. سیر گیاهی چند ساله است که به‌طور وسیع در سراسر جهان به‌عنوان گیاه دارویی و ادویه‌ای استفاده می‌شود [۱۶-۱۸]. ترکیبات شیمیایی اصلی اسانس سیر شامل مونو-سولفیدها، دی‌سولفیدها و تری سولفیدها هستند. هم‌چنین، فعالیت

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

[۲] استادیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

[۳] استاد، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

[۴] مربی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

*** نشانی نویسنده مسئول:**

مشهد، میدان آزادی، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده کشاورزی، گروه گیاه پزشکی

تلفن: ۰۹۱۵ ۰۵۳۳۵۹۵ **دورنویس:** ۰۵۱۳۸۷۸۸۸۷۵

پست الکترونیک: moravej@um.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۳/۹/۹ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۴/۶/۲۵

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 لیمونن 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 به‌طور گسترده در کنترل آفات به‌کار گرفته شده‌اند. علاوه بر این، سمیت کم برای پستانداران، موثر بودن در کنترل آفات مقاوم به حشره-کش‌های مصنوعی و به‌طور 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 شده است [۲۸-۳۳]، اما مطالعات کمی برای کنترل سوسری آلمانی با استفاده از اسانس‌ها و ترکیبات مونوترپنوئید 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 زیست‌سنجی در آزمایشگاه سم 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 معمولا 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 (به‌ترتیب به نسبت وزنی ۲، ۲، ۱، ۲) پرورش داده شدند. جهت تامین آب مورد نیاز، از ظروف آبخوری پرندگان استفاده شد. و از مقوا به‌عنوان پناهگاه در داخل ظروف پرورش استفاده گردید. به‌منظور همسن سازی سوسری‌ها، ماده‌های حامل کپسول تخم به‌طور انفرادی در ظروف جداگانه نگهداری شدند. ظروف پرورش در انکوباتور با شرایط دمای ۲۸±۲ °C، رطوبت نسبی ۴۰±۵ درصد و دوره نوری ۱۲:۱۲ ساعت (روشنایی:تاریکی) نگهداری شدند. در فواصل بین ۵-۱۰ روز پس از ظهور حشرات کامل نر و ماده، از آن‌ها برای آزمایش‌های زیست‌سنجی استفاده شد. اسانس‌های دو گونه گیاه معطر سیر و نارنگی استخراج شدند. میوه نارنگی و پیازهای سیر به‌ترتیب در آبان و مرداد سال ۱۳۹۲ از بازار مرکزی مشهد جمع-آوری شد. پس از تایید نام علمی آنها توسط بخش گیاهان دارویی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، اندام‌های مورد نظر هر گیاه تحت شرایط سایه و تهویه مناسب خشک گردید. اسانس‌ها از طریق تقطیر با بخار آب با استفاده از دستگاه کلونجر به‌مدت ۴ ساعت استخراج شد و سپس با کمک سدیم سولفات آبگیری شد. اسانس‌های جمع‌آوری شده در ظروف شیشه‌ای تیره در یخچال (دمای ۵ °C) تا زمان استفاده نگهداری شد. آزمایش سمیت تماسی اسانس‌ها بر اساس روش Topondjon و همکاران (۲۰۰۵) با اندکی 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 کشنده اسانس‌ها به‌منظور تعیین LC_{50} و LC_{90}، با انجام یکسری آزمایش-های مقدماتی، محدوده غلظت‌های مناسب زیست‌سنجی با ایجاد تلفات بین ۲۰ تا ۹۰ درصد مشخص گردید. آزمایشات در قالب طرح کاملا تصادفی انجام شد. آزمایش‌های اصلی در ۵ غلظت با فاصله لگاریتمی مساوی به‌علاوه شاهد، و در ۶ تکرار انجام گرفت. آزمایش‌ها روی سوسری‌های نر و ماده ۵ الی ۱۰ روزه به‌طور 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 ۰/۶ تا ۱/۱ میکرولیتر (معادل ۰/۰۹ تا ۰/۱۷ میلی‌لیتر بر مترمربع) برای حشرات بالغ نر استفاده شد. اسانس نارنگی در مقادیر بین ۳۷ تا ۴۶ میکرولیتر (معادل ۵/۸۲ تا ۷/۲۳ میلی‌لیتر بر مترمربع) برای حشرات بالغ ماده و در مقادیر بین ۲۰ تا 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 تنها از استون استفاده شد. پس از گذشت ۵ دقیقه و تبخیر حلال، تعداد ۱۰ سوسری آلمانی از هر جنس به‌صورت مجزا داخل ظروف آزمایش منتقل و درب ظرف روی آن قرار داده شد. بعد از ۲۴ ساعت، تعداد حشرات

مرده ثبت گردید. حشراتی که فاقد هر گونه حرکت بودند مرده در نظر گرفته شدند. داده‌های مرگ و میر حشرات بالغ برای هر یک از اسانس‌ها ۲۴ ساعت بعد از تیمار توسط مدل پروبیت آنالیز گردید و پارامترهای مختلف آن بین اسانس‌ها مقایسه شد. پارامترهایی نظیر LC_{50} و حدود اطمینان ۹۵ درصد، شیب و ثابت معادله‌های خطوط رگرسیون پروبیت مرگ و میر–غلظت، فاکتور g، هتروژنیتی و نسبت t نیز مورد مقایسه قرار گرفتند. مقادیر LC_{50} و LC_{90} هر یک از اسانس‌ها توسط مدل پروبیت به کمک نرم افزار polo-pc و به‌روش فینی [۴۲] محاسبه گردید. مقایسه سمیت اسانس‌ها و حساسیت حشرات نر و ماده با استفاده از نسبت LC_{50} یا LC_{90} و حدود اطمینان ۹۵ 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 سوسری آلمانی از طریق مقایسه مقادیر LC_{50} حاصل از آزمایشات زیست‌سنجی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آزمایش‌ها 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، پایین‌ترین میزان مرگ و میر در افراد نر (۲۱/۶۷ درصد) و ماده (۲۰ درصد) به‌ترتیب با غلظت‌های ۰/۰۹ و ۰/۱۹ میلی‌لیتر بر مترمربع حاصل گردید. بالاترین میزان تلفات در افراد نر (۹۱/۶۷ درصد) و ماده (۸۱/۶۷ درصد) در اثر اسانس سیر به‌ترتیب با غلظت‌های ۰/۱۷ و ۰/۳۶ میلی‌لیتر بر مترمربع حاصل گردید. هم‌چنین، در اسانس نارنگی، پایین‌ترین میزان مرگ و میر (۲۰ درصد) در افراد نر و ماده به‌ترتیب در غلظت‌های ۳/۱۵ و ۵/۸۲ میلی‌لیتر بر مترمربع حاصل گردید. بالاترین میزان تلفات در افراد نر (۸۶/۶۷ درصد) و ماده (۸۰ درصد) در اثر اسانس نارنگی به‌ترتیب با غلظت‌های ۵/۵۰ و ۷/۲۳ میلی‌لیتر بر مترمربع حاصل گردید. هیچ مرگ و میری در گروه شاهد تحت تیمار با حلال استون وجود نداشت. معادله رگرسیون پروبیت مرگ و میر–غلظت و سایر پارامترهای آنالیز سمیت در جدول ۲ ارائه شده است. مقایسه بین مقادیر شیب و ثابت خطوط رگرسیون پروبیت مرگ و میر–غلظت به‌ترتیب بر اساس آزمون‌های فرضیه موازی بودن خطوط و فرضیه یکسان بودن خطوط صورت گرفت. مقایسه شیب خطوط پروبیت مرگ و میر بر اساس آزمون فرضیه موازی بودن نشان داد که در اثر اسانس سیر، شیب خطوط پروبیت حشرات نر به‌طور معنی‌داری بزرگتر از حشرات ماده (X^2=7.11, df =1, P<0.01) بود (شکل شماره ۱، الف و ب). در اثر اسانس نارنگی شیب خطوط پروبیت حشرات ماده به‌طور معنی‌داری بزرگتر از حشرات نر (X^2=17.16, df =1, P<0.001) بود (شکل شماره ۱، ج و د). مقایسه جفتی شیب خطوط پروبیت بین اسانس‌ها در هر جنس حشره نشان داد که در حشرات نر بین شیب خطوط پروبیت مرگ و میر در اثر اسانس سیر و اسانس نارنگی با یکدیگر اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (X^2=1.75, df =1, P=۰/۱۹)؛ بنابراین شیب معادل ۸/۷۱±۰/۶۸ به‌عنوان شیب مشترک بین دو اسانس برای خطوط پروبیت مرگ و میر حشرات نر محاسبه شد. شیب خط پروبیت مرگ و میر حشرات ماده در اثر اسانس نارنگی به‌طور معنی‌داری بزرگ‌تر از شیب نظیر در اثر اسانس سیر بود (X^2 = 23.64, df =1, P<۰/۰۰۱) نتایج مقایسه جفتی ثابت‌های خطوط پروبیت با استفاده از آزمون یکسان بودن خطوط نشان داد که بین ثابت‌های پروبیت مرگ و میر حشرات نر و ماده در اثر هر یک از اسانس‌های سیر (X^2= ۰/۰۰۱) 168.64, df =2, P< و نارنگی (X^2=104.67, df =2, ۰/۰۰۱ P<) اختلاف معنی‌داری وجود دارد. برای هر جنس حشره، مقایسه جفتی ثابت‌های خطوط پروبیت بین اسانس‌ها نشان داد که در حشرات نر ثابت خطوط پروبیت مرگ و میر در اثر اسانس‌های سیر و نارنگی با یکدیگر اختلاف معنی‌داری دارد (۰/۰۰۱ P<, X^2=197.31, df =2). هم‌چنین، نتایج مشابه برای حشرات ماده در اثر اسانس سیر و نارنگی به‌دست آمد (X^2 = ۰/۰۰۱) 125.71, df =2, P<. مقادیر LC_{50} اسانس سیر بر علیه حشرات کامل نر و ماده بین ۰/۱۲ تا ۰/۲۶ میلی‌لیتر بر مترمربع متغیر بود. فاکتور هتروژنیتی در اسانس سیر ۰/۱۲ برای حشرات ماده و برای حشرات نر ۴/۰۶ به‌دست آمد؛ فاکتور هتروژنیتی بزرگ‌تر از ۱ برای افراد نر نشان‌دهنده اعمال فاکتور g (۰/۹۵) در تصحیح مقادیر LC_{50} بود. مقادیر LC_{50} اسانس نارنگی محدوده‌ای از ۴/۱۳ تا ۶/۵۲ میلی‌لیتر بر مترمربع به‌ترتیب علیه حشرات کامل نر و ماده به‌دست آمد. فاکتور هتروژنیتی در اسانس نارنگی برای افراد نر (۰/۳۹) و ماده (۰/۱۹) کمتر از یک به‌دست آمد. نتایج آنالیز پروبیت نشان داد که در همه موارد فاکتور g کمتر از ۰/۵ و مقدار آزمون t بیشتر از ۱/۹۶ است. مقایسه جفتی سمیت اسانس‌ها با استفاده از نسبت LC_{50} و حدود اطمینان ۹۵ درصد نشان داد که برای هر یک از حشرات نر و ماده، LC_{50} اسانس نارنگی به‌طور معنی‌داری بزرگ‌تر از LC_{50} اسانس سیر است (به‌ترتیب ۳۵/۰۲ و ۲۴/۶۳ برابر). مقایسه جفتی حساسیت حشرات نر و ماده نسبت به هر یک از اسانس‌ها نشان داد که شاخص LC_{50} اسانس سیر علیه حشرات ماده به‌طور معنی‌داری بزرگ‌تر از میزان این شاخص در حشرات نر است (۲/۲۴ برابر). هم‌چنین، شاخص LC_{50} اسانس

نارنگی علیه حشرات ماده به‌طور معنی‌داری بزرگتر (۱/۵۸ برابر) از شاخص نظیر علیه حشرات نر بود (جدول شماره ۳). هم‌چنین، در مقایسه‌های جفتی بر اساس شاخص LC_{90} نتایج مشابه به‌دست آمد (جدول شماره ۴). به‌طور کلی مقادیر LC_{50} و LC_{90} محاسبه شده بعد از ۲۴ ساعت نشان داد که اسانس سیر نسبت به اسانس نارنگی دارای سمیت تماسی بیشتری علیه حشرات کامل سوسری آلمانی بود (جدول شماره ۲).

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

نوع اسانس	جنس حشره	غلظت اسانس (ml/m^2)	خطای معیار± میانگین
سیر (*Allium sativum*)	نر	۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۰
		۰/۰۹	۲۱/۶۷±۱/۶۷
		۰/۱۱	۲۸/۳۳±۴/۷۷
		۰/۱۳	۵۵/۰۰±۴/۲۸
		۰/۱۵	۹۰/۰۰±۶/۳۲
		۰/۱۷	۹۶/۶۷±۲/۱۱
	ماده	۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۰
		۰/۱۹	۲۰/۰۰±۳/۶۵
		۰/۲۲	۳۰/۰۰±۳/۶۵
		۰/۲۶	۴۶/۶۷±۴/۲۲
		۰/۳۱	۶۵/۰۰±۴/۲۸
		۰/۳۶	۸۱/۶۷±۴/۷۷
نارنگی (*Citrus nobilis*)	نر	۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۰
		۳/۱۵	۲۰/۰۰±۲/۵۸
		۳/۶۲	۳۱/۶۷±۳/۰۷
		۴/۱۶	۵۰/۰۰±۲/۵۸
		۴/۷۹	۶۵/۰۰±۴/۲۸
		۵/۵۰	۸۶/۶۷±۳/۳۳
	ماده	۰/۰۰	۰/۰۰±۰/۰۰
		۵/۸۲	۲۰/۰۰±۲/۵۸
		۶/۱۵	۲۸/۳۳±۴/۷۷
		۶/۴۹	۵۰/۰۰±۳/۶۵
		۶/۸۵	۶۵/۰۰±۴/۲۸
		۷/۲۳	۸۰/۰۰±۵/۷۷

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

نوع اسانس	جنس حشره	n	پروبیت مرگ و میر- غلظت		نسبت t	هتروژنیتی	فاکتور g (٪۹۵)	غلظت کشنده (ml/m^2) (حدود اطمینان ٪۹۵)	
			(خطای معیار±) ثابت	(خطای معیار±) شیب				LC_{50}	LC_{90}
سیر	نر	۳۶۰	۸/۸۹(±۰/۸۹)	۹/۵۹(±۰/۹۷)	۹/۸۸	۴/۰۶	۰/۴۲	۰/۱۲ (۰/۱۰-۰/۱۴)	۰/۱۶ (۰/۱۴-۰/۲۸)
	ماده	۳۶۰	۳/۶۰(±۰/۴۸)	۶/۲۴(±۰/۸۲)	۷/۶۵	۰/۱۲	۰/۰۷	۰/۲۶ (۰/۲۵-۰/۲۸)	۰/۴۲ (۰/۳۸-۰/۵۱)
نارنگی	نر	۳۶۰	-۴/۷۹(±۰/۶۰)	۷/۷۷(±۰/۹۷)	۸/۰۱	۰/۳۹	۰/۰۶	۴/۱۳ (۳/۹۴-۴/۳۳)	۶/۰۴ (۵/۵۵-۶/۹۰)
	ماده	۳۶۰	-۱۵/۰۳(±۱/۹۹)	۱۸/۴۵(±۲/۴۴)	۷/۵۶	۰/۱۹	۰/۰۷	۶/۵۲ (۶/۴۰-۶/۶۵)	۷/۶۵ (۷/۳۷-۸/۱۴)

n =تعداد حشرات مورد آزمایش

جدول شماره ۳- نسبت LC_{50} و حدود اطمینان ۹۵ درصد[¥] آن‌ها جهت مقایسه سمیت تماسی اسانس‌های سیر و نارنگی علیه حشرات کامل سوسری آلمانی

متغیر	نسبت LC_{50}	حدود اطمینان ۹۵ درصد
نوع اسانس	(LC_{50} نر: LC_{50} ماده)	مقایسه بین حساسیت حشرات نر و ماده
سیر	۲/۲۴	۲/۰۹-۲/۴۱*
نارنگی	۱/۵۸	۱/۵۰-۱/۶۶*
جنس حشره	(LC_{50} سیر: LC_{50} نارنگی)	مقایسه بین سمیت اسانس ها
ماده	۲۴/۶۳	۲۳/۱۹-۲۶/۱۷*
نر	۳۵/۰۲	۳۲/۹۱-۳۷/۲۶*

[¥]. حدود اطمینان ۹۵ درصد بر اساس روش روبرتسون و پریسلر (۱۹۹۲) محاسبه شد [۴۳].

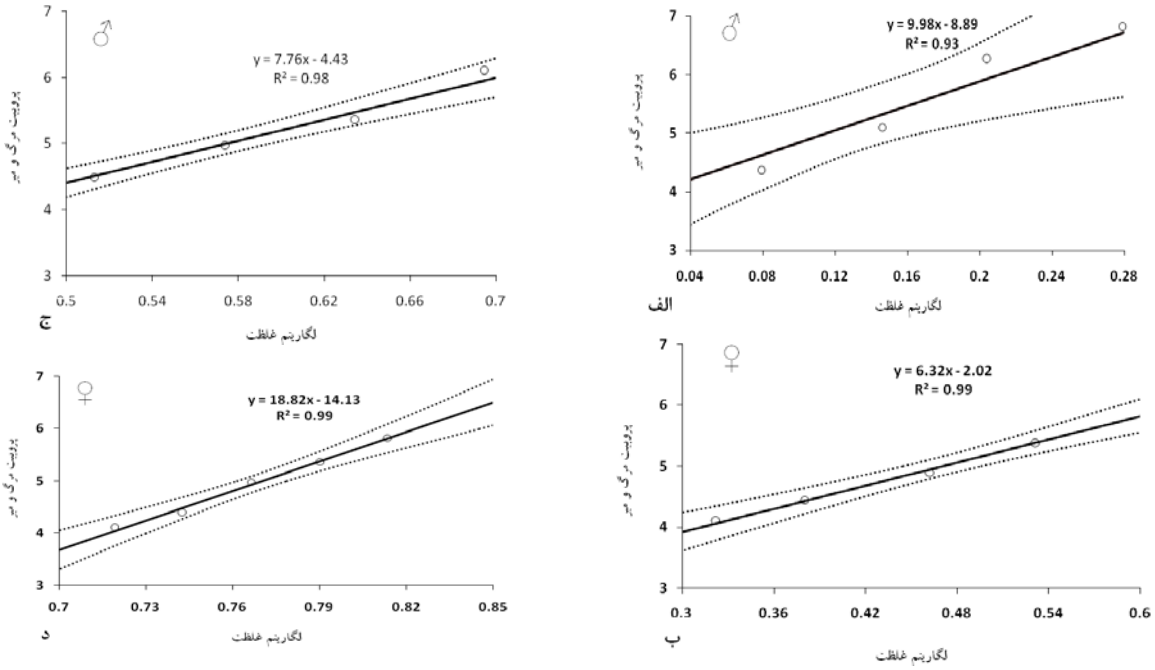
*. اختلاف معنی‌داری بین LC_{50} های مقایسه شده در سطح ۵ درصد وجود دارد.

جدول شماره ۴- نسبت LC_{90} و حدود اطمینان ۹۵ درصد[¥] آن‌ها جهت مقایسه سمیت تماسی اسانس‌های سیر و نارنگی علیه حشرات کامل سوسری آلمانی

متغیر	نسبت LC_{90}	حدود اطمینان ۹۵ درصد
نوع اسانس	(LC_{90} نر: LC_{90} ماده)	مقایسه بین حساسیت حشرات نر و ماده
سیر	۲/۶۴	۲/۲۷-۳/۰۹*
نارنگی	۱/۲۷	۱/۱۳-۱/۴۲*
جنس حشره	(LC_{90} سیر: LC_{90} نارنگی)	مقایسه بین سمیت اسانس ها
ماده	۱۸/۰۲	۱۵/۵۶-۲۰/۸۷*
نر	۳۷/۶۲	۳۳/۲۰-۴۲/۶۳*

[¥]. حدود اطمینان ۹۵ درصد بر اساس روش روبرتسون و پریسلر (۱۹۹۲) محاسبه شد [۴۳].

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



شکل شماره ۱- رگرسیون پروبیت مرگ و میر حشرات بالغ نر (♂) و ماده (♀) سوسری آلمانی تحت تیمار اسانس های سیر (الف و ب) و نارنگی (ج و د)

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 به‌کار می‌گیرند. خواص متعددی برای این ترکیبات از جمله فعالیت ضدتغذیه‌ای، دورکنندگی، مهار تنفس و رشد، کاهش باروری و تخریب کوتیکول گزارش شده است [۴۴-۴۷]. در تحقیقات برای جایگزین حشره‌کش‌های شیمیایی، اسانس‌ها به‌طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. در مطالعه حاضر نتایج بررسی

سمیت تماسی اسانس‌های سیر و نارنگی پس از ۲۴ ساعت روی حشرات کامل سوسری آلمانی نشان داد که میزان تلفات وابسته به نوع اسانس و غلظت است؛ به‌طورکلی 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 نیز 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 سوسری آلمانی دارد. در این مطالعه مقادیر LC_{50} اسانس سیر برای حشرات نر و ماده سوسری به‌ترتیب معادل ۰/۱۲ و ۰/۲۶ میلی‌لیتر بر مترمربع 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 اسانس‌ها حساس‌تر هستند (به‌ترتیب ۲/۲۴ و ۱/۵۸ برابر). تفاوت حساسیت حشرات نر و ماده به اسانس‌ها ممکن است ناشی از تفاوت در اندازه بدن، میزان چربی و نیز تفاوت در میزان فعالیت آن‌ها باشد. به‌طور کلی این نتایج با نتایج مطالعه Chia و Lee منطبق است که نشان دادند حشرات نر سوسری آلمانی در مقایسه با حشرات ماده حساسیت بیش‌تری نسبت به سموم دی‌کلروس و پروپوکسور دارند [۵۰]. هم‌چنین، در بررسی‌های Phillips و Appel حساسیت مراحل مختلف سنی سوسری آلمانی به سمیت تماسی ۱۲ ترکیبات اسانس به‌ترتیب پوره‌های کوچک، متوسط، نرهای بالغ، پوره‌های بزرگ، ماده‌های باردار، ماده‌های بالغ کاهش یافت [۵۱]. ماده‌های بالغ و پوره‌های بزرگ نسبت به ماده‌های باردار و نرهای بالغ چربی نسبتا بیشتری در بدن دارند [۵۲]. اسانس‌های گیاهی به‌دلیل حلالیت در چربی، ممکن است در چربی بدن به دام افتاده و از رسیدن آن به محل هدف جلوگیری شود [۵۳]. هم‌چنین، ممکن است سمیت یک ترکیب توسط رفتار هر مرحله سنی تحت تاثیر قرار گیرد. تحرک مراحل رشدی و فیزیولوژیکی برخی مراحل سنی نسبت به دیگر مراحل بیشتر هستند؛ به‌عنوان مثال سوسری‌های نر بالغ بیشتر از پوره‌ها و ماده‌های بالغ بیشتر از ماده‌های باردار فعال هستند [۵۴]. مطالعات اندکی روی اثر سمیت تماسی اسانس‌ها علیه سوسری‌ها انجام شده است. مطالعه Jang و همکاران نشان داد که اسانس مرزنجوش (*Origanum majorana*) با LC_{50} معادل ۰/۰۸ میلی‌گرم بر سانتی‌متر مربع نسبت به پروپوکسور (LC_{50} معادل ۰/۱۸ میلی‌گرم بر سانتی‌متر مربع) برای سوسری آلمانی سمی‌تر است [۳۸]. بر اساس نتایج مطالعه حاضر سمیت اسانس سیر (به‌ترتیب با LC_{50} ۰/۰۱۳ و ۰/۰۲۹ میلی‌گرم بر سانتی‌متر مربع روی حشرات نر و ماده) بیشتر از اسانس مرزنجوش 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 سوسری آلمانی نشان داد که ascaridole (Z) با مقادیر LD_{50} معادل ۲۲/۰۲ میکروگرم بر وزن بدن حشره سمی‌ترین ترکیب است [۵۵]. سمیت تماسی اسانس‌های *Cymbopogen citratus*، *Mentha arvensis*، *Eucalyptus citriodora* بر علیه سوسری 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 ۸/۰۱، ۷/۰۵، ۴/۸۹ و ۳/۳۹ دارد. در یک مطالعه سمیت موضعی اسانس نعناع روی سوسری آمریکایی و آلمانی مورد بررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد مقادیر LD_{50} اسانس نعناع برای سوسری آمریکایی و سوسری آلمانی به‌ترتیب ۲/۵۷ درصد از ۱۰ میکرولیتر و ۳/۸۳ درصد از ۲ میکرولیتر است [۳۹]. در مطالعات سایر پژوهشگران سمیت تماسی ترکیبات مونوترپن و اسانس‌های 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 oryza*) را مورد بررسی قرار دادند و مقادیر LC_{50} تماسی اسانس پوست نارنگی پس از ۲۴ ساعت تحت تاثیر اسانس را به‌ترتیب ۲۵/۷۹ و ۲۴/۴۷ میکرولیتر گزارش کردند [۵۷]. با توجه به‌روش به‌کار رفته در تحقیق فوق، این میزان به‌ترتیب معادل ۴/۰۵ و ۳/۸ میلی‌لیتر بر مترمربع می‌باشد که با میزان LC_{50} اسانس نارنگی در تحقیق حاضر علیه حشرات کامل نر سوسری (معادل ۴/۱۳ میلی‌لیتر بر مترمربع) 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 به‌ترتیب معادل ۱/۳۲ و ۷/۶۵ میلی-گرم بر سانتی‌متر مربع ۲۴ ساعت پس از تیمار گزارش کردند [۵۸]. شاخص‌های به‌دست آمده بسیار بیشتر از شاخص‌های LC_{50} گزارش شده برای سوسری آلمانی در تحقیق حاضر می‌باشد (با LC_{50} معادل ۰/۰۱۳ و ۰/۰۲۹ میلی‌گرم بر سانتی‌متر مربع به‌ترتیب علیه جنس نر و ماده). در مطالعه Chew و Ho سمیت تماسی اسانس سیر به‌روش موضعی روی حشرات کامل شپشه آرد مورد بررسی قرار گرفت و میزان LD_{50} آن ۳/۱۱ میلی‌گرم بر گرم وزن بدن حشره گزارش گردید [۵۹]. نتیجه بررسی مذکور به‌دلیل

تفاوت در روش انجام آزمایش و نوع حشره مورد آزمایش با نتایج بررسی حاضر قابل قیاس نمی‌باشند. در یک سمیت تماسی دو ترکیب عمده اسانس 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 به‌ترتیب با مقادیر LD_{50} معادل ۶/۳۲ و ۰/۸۳ میلی‌گرم بر میلی‌گرم 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 اسانس‌های گیاهی سیر و نارنگی نشان می‌دهد که اصلی‌ترین ترکیب‌ها در اسانس سیر ترکیبات حاوی گوگرد از قبیل دی آلیل دی سولفید، دی آلیل تری سولفید و متیل آلیل تری سولفات، و در اسانس نارنگی لیمونن است [۶۱]. بنابراین، مونوترپن‌ها و سایر متابولیت-های ثانویه ممکن است اثر سمیت تماسی اسانس‌های سیر و نارنگی روی سوسری آلمانی در بررسی حاضر را توجیه کند. اگرچه روش تماسی انجام شده در این آزمایش از طریق کاغذ صافی نسبت به‌روش رایج قطره گذاری روی بدن حشرات با دقت کمتری فعالیت تماسی ترکیبات را برآورد می‌کند، ولی به‌نظر می-رسد در شرایط صحرایی استفاده از این روش با شرایط کاربردی بیشتر سازگاری داشته باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اسانس سیر و نارنگی به-عنوان جایگزین آفت کش‌های شیمیایی می‌تواند جهت کنترل سوسری آلمانی مفید باشد. در واقع اسانس‌های گیاهی محصولات تجدید پذیر و قابل تجزیه هستند. از آنجایی‌که اسانس‌ها در دوزهای پایین عمل می‌کنند، مقرون به‌صرفه هستند و اثرات زیست محیطی کمی دارند. با این‌حال، برای استفاده عملی از این اسانس-ها و ترکیبات مونوترپنوئید به‌عنوان حشره‌کش، مطالعات بیشتری در مورد ایمنی آن‌ها 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 به‌خاطر پشتیبانی مالی صمیمانه تشکر می‌کنیم. هم‌چنین، از سرکار خانم مهندس منفردی کارشناس آزمایشگاه گروه گیاه‌پزشکی آن دانشگاه و مهندس سعید هاتفی به-خاطر همکاری در طی انجام آزمایشات کمال تشکر را داریم.

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 Biotoc 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 toxisity against insecticide susceptible and resistsnce German cockroach. ***J Econ Entomol*** 1998; 91(3): 641-9.

[11] Barcay 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. 2nd 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. usceptibility 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 Cowpes Seed Beetle *Callosobruchus maculates* (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 Monoterpenoids 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, Indira-gandhi 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. 3rd 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* (Fabricus). ***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, Oshiba S, Tamada T. Platelets aggregation inhibition in garlic. ***Lancet*** 1981; 1(8212): 1-150.