

تأثیر اسانس *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) بر مرگ و میر و فیزیولوژی سوسک برگ خوار نارون *Xanthogaleruca luteola* Mull. (Coleoptera: Chrysomelidae)

فرشته امیرمحمدی^۱ و جلال جلالی سندی^{۲*}

۱ و ۲ به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد حشره شناسی کشاورزی و دانشیار گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی دانشگاه
گیلان

تاریخ دریافت: ۹۲/۱/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۲/۴/۳۰

چکیده

سمیت و تاثیر اسانس گیاه رزماری *Rosmarinus officinalis* بر شاخص های تغذیه ای و فیزیولوژیکی لارو سن سوم و حشره بالغ سوسک برگ خوار نارون *Xanthogaleruca luteola* Mull. (Coleoptera: Chrysomelidae) در دمای 25 ± 1 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی بررسی شد. غلظت کشنده برای ۵۰ درصد از جمعیت برای لارو سن سوم و حشره بالغ به ترتیب ۲/۵۵ و ۱/۱۱ درصد برآورد شد. اثر غلظت کشنده برای ۵۰ درصد جمعیت بر شاخص های تغذیه جمعیت باقی مانده لارو سن سوم نیز بررسی شد. نتایج نشان داد که نرخ مصرف نسبی تغذیه، نرخ رشد نسبی، کارایی تبدیل غذای خورده شده و کارایی تبدیل غذای هضم شده به طور معنی داری در مقایسه با شاهد کاهش یافت. میزان کلسترول، اوره و اسیداوریک در مقایسه با شاهد در لارو سن سوم کاهش معنی داری را نشان داد ولی میزان LDH و گلوکز تفاوت معنی داری را نشان نداد اگر چه میزان گلوکز در حشرات کامل تیمار شده افزایش یافت. این نتایج نشان می دهد که اسانس این گیاه می تواند گزینه مناسبی برای کنترل این آفت باشد.

واژه های کلیدی: *Xanthogaleruca luteola*, *Rosmarinus officinalis*، شاخص های تغذیه ای، اسانس.

مقدمه

بررسی شده است (Senthil Nathan et al., 2005). متابولیت‌های ثانویه گیاهی می‌توانند تغذیه حشره را تحت تأثیر قرار دهد. شاخص‌های تغذیه‌ای نظیر نرخ مصرف نسبی، نرخ رشد و کارایی رشد پس از تأثیر متابولیت‌های گیاهی قابل ارزیابی است (Scriber and Slansky, 1981) (Rubenheimer and Simson, 1992). گیاه *Rosmarinus officinalis* دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است و ویژگی‌های دارویی نظیر کاهش تب یونجه و آلرژی است. این گیاه هم‌چنین دارای خاصیت دورکنندگی حشرات، ضد میکروبی و ضد ویروسی می‌باشد (Badarau et al., 2011). سوسک برگ‌خوار نارون (*Xanthogaleruca luteola*) یکی از آفات مهم درختان نارون است که در مراحل لاروی و بالغ از برگ‌های میزبان تغذیه می‌کند و باعث بدشکلی تاج درخت و اختلالات فیزیولوژیکی می‌شود و درختان را به آفات دیگر، عوامل بیماری‌زا و استرس‌های محیطی حساس می‌کند (Arbab et al., 2001). هدف پژوهش حاضر بررسی تأثیر اسانس رزماری بر مرگ و میر و شاخص‌های تغذیه‌ای سوسک برگ‌خوار نارون است. اندازه‌گیری برخی از متابولیت‌های مهم حشره نظیر کلسترول، اوره، اسید اوریک، گلوکز و LDH به منظور تعیین نحوه تأثیر آن نیز بررسی می‌شود.

مواد و روش‌ها

تخم و لارو سوسک برگ‌خوار نارون از درختان نارون شهر رشت در شمال ایران جمع‌آوری و در شرایط کنترل‌شده آزمایشگاه (25 ± 1 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد و شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) پرورش داده شد. لاروها در جعبه‌های پلاستیکی 20×10 سانتی‌متری با سرپوش توری قرارداد شدند. به منظور حفظ رطوبت ته جعبه‌ها با اسفنج‌های مرطوب پوشانده شده بود و برگ‌های حاوی لارو به صورت عمودی روی اسفنج قرار گرفتند و روزانه برگ تازه در اختیار لاروها و حشرات کامل آفت قرار داده شد.

در حدود یک سوم محصولات کشاورزی طی دوران کاشت و برداشت از بین می‌رود، این مقدار در کشورهای در حال توسعه به مراتب بیش‌تر است (Rakshani, 2002). امروزه بحث‌های بسیاری درباره استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی از نظر فواید و مضرات این ترکیبات وجود دارد. مهم‌ترین خطرات این آفت‌کش‌ها اثر آن‌ها بر اکوسیستم و سلامت بشر و هم‌چنین گیاهان و موجودات زنده است (Talebi Jahromi, 2007). میلیون‌ها سال پیش گیاهان و حشرات با هم تکامل یافته و به تقابل پرداخته‌اند. گیاهان از واسطه‌های شیمیایی به ویژه آلوکمی‌کال‌ها برای تقابل با حشرات و سایر گیاه‌خواران استفاده کرده‌اند. آلوکمی‌کال‌ها به روش‌های مختلف حشرات را تحت تأثیر قرار می‌دهند. این مواد نقش دورکنندگی، بازدارندگی تغذیه و هضم، افزایش گرده‌افشانی، کاهش باروری، تخم‌کشی یا لاروکشی دارند و یا با خصوصیات جذب‌کنندگی حشرات را به خود جلب می‌کنند و در نتیجه این‌گونه گیاه با خاصیت آنتی‌زئوزی یا آنتی‌بیوزی خود در روند زندگی طبیعی حشره اختلال ایجاد خواهد کرد (Akhtar and Isman, 2004). بیش‌تر این مواد مانند آلکالوئیدها، پلی‌فنل‌ها، تریپن‌ها، ایزوپرنوئیدها و سیانوژنیک‌ها به عنوان متابولیت‌های ثانویه طبقه‌بندی می‌شوند (Regnault-Roger, 1997). متابولیت‌های ثانویه فیزیولوژی حشرات را به روش‌های گوناگونی نظیر تاخیر در رشد لاروی، به عنوان ضد هورمون و یا ضد تغذیه تحت تأثیر قرار می‌دهند (Isman, 1997). در طول سه دهه گذشته، عصاره‌ها و ترکیبات با پایه گیاهی به عنوان روش حدواسط (جایگزین) برای کنترل حشرات آفت به کار رفته است (Isman, 2006). تاکنون حدود ۳۰۰۰ اسانس روغنی شناخته شده است و ۳۰۰ عدد از آن‌ها برای استفاده تجاری به‌ویژه دارو، کشاورزی، صنعت غذا، زیبایی و بهداشت مورد توجه می‌باشند (Bakkali et al., 2008). اسانس روغنی گیاهان اثرات گوناگونی چون سمیت، تنظیم‌کنندگی رشد، اثر دورکنندگی از میزبان و بازدارندگی از رشد و اثر ضدتغذیه‌ای دارند (Mauchline et al., 2005). نحوه اثر تعدادی از ترکیبات گیاهی روی حشرات

تهیه اسانس

برگ‌های گیاه رزماری از محوطه‌ی دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان تهیه شد و در سایه خشک شدند سپس با آسیاب دستی پودر شدند. سپس ۵۰ گرم از پودر خشک شده با ۷۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط شده و بعد از ۲۴ ساعت به دستگاه کلونیجر انتقال داده شده و به مدت دو ساعت اسانس‌گیری شد. سپس روغن به دست آمده با عبور آن از سولفات سدیم خشک شده و در دمای ۴ درجه سلسیوس قرار گرفتند.

زیست‌سنجی

سه غلظت ۱/۵، ۳ و ۶ درصد اسانس رزماری برای لارو سن سوم و ۳ غلظت ۰/۶، ۱/۲، ۲/۴ درصد اسانس برای حشره کامل به منظور بررسی سمیت و ارزیابی غلظت‌های کشنده ۵۰، ۳۰، ۱۰ درصد استفاده شدند. در هر تیمار از ۳۰ حشره با سه تکرار (۱۰ تایی) برای هر تیمار استفاده شد. بدین منظور غلظت‌های مختلف اسانس روی برگ‌های نارون پاشیده شد و اجازه داده شد در دمای اتاق خشک شود و سپس در اختیار لاروها قرار داده شد. در این آزمایش از متانول به عنوان شاهد استفاده شد. مرگ و میر پس از گذشت ۴۸ ساعت یادداشت و غلظت‌های کشنده با استفاده از نرم‌افزار Polo-PC تخمین زده شد (LeOra software, 1987).

ارزیابی اسانس رزماری بر شاخص‌های تغذیه

این آزمایش در ۴ تکرار و با ۱۰ عدد لارو سن پنجم با سن ۲۴ ساعت در هر تکرار انجام گرفت. وزن لاروها با استفاده از ترازوی با دقت ۰/۱ میلی‌گرم اندازه‌گیری شد. دیسک‌های برگ‌گی (۸ سانتی‌متر قطر) در غلظت ۵ LC اسانس و محلول متانول به مدت ۱۰ ثانیه قرار داده شدند. بعد از خشک‌شدن در دمای اتاق، برگ‌ها به صورت تکی وزن شدند و در ظروف پتری با قطر ۸ سانتی‌متر جهت تغذیه لاروها قرار گرفتند و برگ‌های باقی‌مانده در انتهای هر روز جمع‌آوری و در آن (۴۵ درجه سلسیوس) خشک و سپس وزن شدند. این آزمایش به مدت ۳ روز ادامه یافت. در انتهای

آزمایش لاروها و مدفوع آن‌ها وزن شد و میزان مصرف غذا اندازه‌گیری شد. شاخص‌های تغذیه‌ای شامل کارایی تبدیل غذای خورده‌شده (ECI)، کارایی تبدیل غذای هضم‌شده (ECD)، نرخ رشد نسبی (RGR)، نرخ مصرف نسبی (RCR) و شاخص تقریبی هضم‌شوندگی (AD) با فرمول‌های ارائه شده توسط والدبوئر (Waldbauer, 1968) اندازه‌گیری شد.

آماده‌سازی نمونه برای آزمایش‌های بیوشیمیایی

در این آزمایش‌ها تعدادی از ترکیبات شیمیایی لارو سن سوم سوسک برگ‌خوار نارون مورد ارزیابی قرار گرفتند. دیسک‌های برگ‌گی با غلظت LC₅₀ روغن اسانس رزماری تیمار شدند. بدین منظور در هر آزمایش ۱۰ حشره (لارو و یا حشره کامل) با ۴ تکرار برای هر غلظت تیمار شدند. بعد از ۴۸ ساعت، لاروهای زنده به‌طور تصادفی انتخاب و در ۲ میلی‌لیتر آب مقطر یا بافر قرار داده شدند و سپس نمونه‌ها همگن شدند. مقدار گلوکز با استفاده از روش سیگرت اندازه‌گیری شد (Siegert, 1987) و کلسترول کل بر اساس توضیح ریچموند با هیدرولیز استرهای کلسترول به‌وسیله کلسترول اکسیداز، کلسترول استراز و پرواکسید اکسیداز و با استفاده از کیت کلسترول (Biochem Co, Iran) اندازه‌گیری شد (Richmonds, 1973). میزان اسیداوریک به‌وسیله آنزیم اوریکاز و جذب در طول موج ۵۰۰ نانومتر به روش والویج و بروکس، اندازه‌گیری شد (Valovage and Brooks, 1979) مقدار اوره به‌وسیله کیت urease-GDH (Biochem Co, Iran) و جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر با استفاده از میکروپلیت ریدر Awareness (مدل Stat fax @3200) قرائت شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل شاخص‌های تغذیه و ترکیبات بیوشیمیایی در تیمارهای مختلف با استفاده از نرم‌افزار ANOVA انجام شد. تفاوت بین تیمارها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از نرم‌افزار SAS مقایسه شد (SAS Institute, 1997).

نتایج

مقادیر LC₉₀، LC₅₀ و LC₁₀، با حدود اطمینان ۹۵٪، ۴۸ ساعت پس از در معرض بودن حشرات با غلظت‌های مختلف روغن اسانس رزماری برای لارو سن سوم و حشرات بالغ در جدول ۱ نشان داده شده است. مقدار LC₅₀ ۴۸ ساعت پس از تیمار برای لارو سن سوم و حشرات بالغ به ترتیب ۲/۵۵ و ۱/۱۱ درصد تخمین زده شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت اسانس میزان تلفات افزایش می‌یابد (جدول ۱).

اثر اسانس رزماری بر شاخص‌های تغذیه‌ای لارو سن سوم در جدول ۲ نشان داده شده است. شاخص‌های تغذیه‌ای شامل نرخ رشد نسبی (RGR)، نرخ مصرف نسبی (RCR)، کارایی غذای هضم شده (ECD)، کارایی غذای خورده شده (ECI) و شاخص تقریبی هضم شونده (AD) در لاروهای تیمار شده به ترتیب ۰/۰۸ میلی‌گرم/میلی‌گرم/روز، ۰/۵۷ میلی‌گرم/میلی‌گرم/روز، ۱۴/۴۶ درصد، ۱۶/۵۳ درصد و ۸۷/۵ درصد به دست آمد که در مقایسه با شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت.

اثر این اسانس بر سامانه متابولیکی و بیوشیمیایی در لارو سن سوم و حشرات بالغ *X. luteola* در جدول‌های ۳ و ۴ نشان می‌دهد که میزان کلسترول، لاکتات دهیدروژناز، اوره، اسیداوریک برای لارو سن سوم تیمار شده در مقایسه با شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۳) و هم‌چنین میزان اوره و گلوکز در حشرات کامل نسبت به شاهد به طور معنی‌دار افزایش نشان داد (جدول ۴).

بحث

مؤلفین زیادی روی سمیت اسانس‌های گیاهان مطالعه کرده‌اند. سمیت تدخینی اسانس *Lavandula hybrid* و *Rosmarinus officinalis* نسبت به تخم‌های سوسک لویا (*Acanthoscelides obtectus* Say.) ارزیابی شده است. بخار اسانس برای تخم‌ها به مقدار LC₅₀ بین ۱/۳ و ۳۵/۱ میکرولیتر بر لیتر هوا محاسبه شد (Papachristos and Stamopoulos, 2004). بر اساس نتایج جدول ۱ حشره کامل سوسک برگ‌خوار نارون حساسیت بیشتری به این اسانس نسبت به تخم و لارو نشان می‌دهد. نتایج میراسماعیلی

و همکاران (Miresmailli, 2006) نیز به روشنی نشان داد که اسانس رزماری می‌تواند به عنوان یک کنه‌کش در کنترل کنه‌ی تارتن دولکه‌ای (*Tetranychus urticae* Koch.) استفاده شود. گزارش شده که اسانس‌های گیاهان خانواده Lamiaceae در مقابل چندین حشره آفت انباری مؤثر است (Shaaya et al., 1991, 1997, 1999). نتایج حاضر نیز با منابع فوق منطبق است.

کارایی تغذیه‌ای، توانایی گونه‌های حشره در استفاده از غذا برای تبدیل آن به مواد مورد نیاز بدن است. اسانس رزماری توانست این شاخص را تحت غلظت ۲/۵۵ درصد اسانس مهار کند. سنتیل‌ناتان (Senthil Nathan, 2006) گزارش کرد که در *Cnaphalocoris medinalis* تیمار شده با آزادی‌راختین میزان رشد نسبی کاهش یافت که با پژوهش حاضر همخوانی دارد و می‌تواند بیانگر این باشد که با کاهش این شاخص تغذیه‌ای می‌توان از سایر روش‌های کنترلی به نحو مؤثرتری استفاده کرد. رشد نسبی تابعی از وزن موجود زنده است و این شاخص می‌تواند برای تشخیص ترجیح نوع میزبان توسط حشره مورد استفاده قرار گیرد (Srinivasan and Uthamasamy, 2005). جانسون و گروت (Jansen and Groot, 2004) گزارش کردند که RGR کاهش یافته ممکن است به خاطر خسارات‌های جبران‌ناپذیر بر سلول‌های دیواره معده‌ی مسئول جذب مواد غذایی و غشای معده باشد.

اسانس گیاه رزماری سبب کاهش ECI در لارو سن سوم سوسک برگ‌خوار نارون شده است که مشابه با نتایجی است که به وسیله چن و همکاران (Chen et al., 1996) در بررسی عصاره *Melia toosendan* بر میزان ECI، در حشره *Pridroma saucia* به دست آمده است. ECD کاهش یافته نشان دهنده‌ی نامناسب بودن غذا برای حشره و عدم دسترسی غذای مورد نیاز برای حشره است (Koul et al., 2004) و در نتیجه در روند رشد حشره اختلال ایجاد می‌کند و علاوه بر این که موجب کنترل آفت می‌شود باعث فراهم شدن بستر مناسب‌تری برای استفاده از سایر روش‌های کنترل

اسیداوریک همولنف ممکن است به دلیل مسیر متابولیکی تغییر یافته پس از تیمار باشد که از ترشح طبیعی اسیداوریک از بدن حشره جلوگیری کرده است (Etebari and Matindoost., 2004a) هم چنین نتایج مشابه در مورد اوره در لارو تیمار شده مشاهده شد.

اعتباری و متین دوست (Etebari and Matindoost., 2004b) گزارش کردند که اگر فعالیت تغذیه طبیعی باشد مقادیر گلوکز و کلسترول در همولنف کرم ابریشم افزایش می یابد. وقتی که تغذیه لارو به هر حال متوقف شود مقدار این متابولیت ها به شدت کاهش می یابد (Etebari and Matindoost 2004 c).

تعداد زیادی از فعالیت های حشرات وابسته به متابولیزم کربوهیدرات ها است. لذا تعیین مقدار گلوکز، نشان دهنده متابولیزم کربوهیدرات ها در سلول های حشره است (Satake 2000). نتایج حاضر نشان می دهد که مقدار کلسترول پس از ۴۸ ساعت در لارو و حشرات بالغ تیمار شده با اسانس کاهش یافت اما میزان گلوکز همولنف افزایش یافت. رادها کریشنا و دوی (Radhakrishna and Devi, 1992). نشان دادند که تیمار لارو کرم ابریشم با ترکیبات ارگانوفسفر میزان گلوکز را کاهش داد. نت (Nath, 2003) گزارش داد که غلظت های کشنده و زیرکشنده اتیون و فیتروتیون مقدار گلوکز و تری هالوز را در کرم ابریشم کاهش داد که دلیل آن می تواند عدم توانایی در حفظ فرایند هموستازی (انعقاد خون) کرم ابریشم باشد که با نتایج حاضر نیز مشابه می باشد.

ویژگی حشره کشی اسانس *R. officinalis* بر سوسک برگ خوار نارون به صورت گوارشی برای لارو سن سوم و حشرات بالغ سوسک برگ خوار صدق می کند. نتایج حاضر (جدول ۱) نشان می دهد که حشرات بالغ نسبت به لاروها به اسانس حساس ترند. جلالی سندی و همکاران (Jalali Sendi et al., 2005) گزارش کردند که حشرات بالغ نسبت به لاروها در برابر چندین عصاره گیاهی حساس ترند. تریپاتی و همکاران (Tripathi et al., 2000) نشان دادند که حشرات بالغ *T. castaneum* به سینثول که از گیاه *Artemisia annua* گرفته شده بود، حساس ترند که تحقیق

می شود. مقدار ECI و ECD به میزان فعالیت آنزیم های هضم کننده بستگی دارد (Bradway and Duffy, 1988; Haung et al., 2004). تغییری که در مقدار AD در غلظت ۲/۵۵ درصد اسانس دیده شد با گزارش Senthil Nathan (2006) تناقض دارد بدین صورت که در لارو *Cnaphalocrocis medinalis* میزان AD بعد از تیمار غذا با *Melia azedarach* تغییر نیافت. نتایج نشان دادند که کاهش در AD و ECI در لارو سن سوم به وسیله اسانس *R. officinalis* باعث می شود که حشره از غذا (در واقع از مواد و انرژی حاصل از غذا برای مبارزه با اثرات منفی اسانس بهره می برد) برای غیر سمی کردن اسانس استفاده کند پس فقط مقدار کمی برای رشد استفاده شده و باعث کاهش ECI و ECD شد (Senthil Nathan, et al., 2005). بر اساس گزارش این محققین عوامل مختلف ممکن است فرآیندهای آنزیمی و غیر آنزیمی را تحت تأثیر قرار دهد مثل آب و هوا، رژیم غذایی، مواد شیمیایی، و غیره. نتایج حاضر نشان داد که اسانس *R. officinalis* به طور معنی داری چندین ترکیب شیمیایی نظیر کلسترول، اوره، اسید اوریک، گلوکز و LDH را در سوسک برگ خوار نارون تحت تأثیر قرار می دهد. تعداد زیادی از حشره کش ها اثر ضد تغذیه دارند و کارایی تغذیه حشره را کاهش می دهند که به دنبال آن بیوسنتز و تجمع پروتئین تحت تأثیر قرار می گیرد (Etebari et al., 2007).

از آن جایی که اوره و اسیداوریک ماده دفعی حشرات است و مقدار آن به مقدار پروتئین در بدن حشره بستگی دارد پس این افزایش مقدار اوره در حشرات بالغ تیمار شده و یا کاهش میزان اوره در لارو تیمار شده می تواند به دلیل تغییرات میزان پروتئین باشد (در این بررسی مقدار پروتئین لارو و حشرات کامل تیمار شده بررسی نشد)، دونگرن و بریگل (Dungern and Briegel, 2001) گزارش کردند که سطح فعالیت زانتین دهیدروژناز (آنزیمی که زانتین و هیپو زانتین را به اوریک اسید تبدیل می کند) به دلیل وجود میزان بالای پروتئین در همولنف افزایش یافت. در ۴۸ ساعت مقدار اسیداوریک در همولنف لاروهای تیمار شده این تحقیق کاهش یافت. این نتیجه نشان می دهد که کاهش در

اثرات برگشت‌ناپذیری روی متابولیت‌های شیمیایی و فرآیندهای بیولوژیکی حشره نیز دارد. استفاده از حشره‌کش مصنوعی، طبیعت و زنجیره غذایی را تحت تأثیر قرار می‌دهند، درحالی که حشره‌کش‌های بیولوژیکی با پایه گیاهی بدون اثرات جنینی اند یا اثرات جنینی کمی بر طبیعت و زنجیره غذایی دارند (Talebi Jahromi, 2007). از این رو استفاده از حشره‌کش‌های گیاهی برای حفظ سلامتی محیط پیشنهاد می‌شود و باید بررسی بیشتری برای یافتن آفت‌کش‌های بیولوژیکی انجام شود.

حاضر نیز حساسیت بیش‌تر حشرات بالغ را در مقایسه با لارو سن سوم در برابر اسانس رزماری نشان می‌دهد. اثر اسانس *R. officinalis* بر رشد لاروی نشان می‌دهد که اسانس رفتار تغذیه‌ای را تحت تأثیر قرار می‌دهد و به‌عنوان یک دورکننده عمل می‌کند یا بر فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی شامل هضم و متابولیسم اثر می‌گذارد (Akhtar and Isman, 2004).

با توجه به نتایج تحقیق حاضر اسانس‌رز ماری نه‌تنها برای سوسک برگ‌خوار نارون سمی و اثر ضد تغذیه دارد بلکه

جدول ۱- تأثیر LC₁₀، LC₅₀ و LC₉₀ اسانس *Rosmarinus officinalis* بر لارو سن سوم و بالغین *Xanthogaleruca luteola* (۴۸)

ساعت پس از تیمار)

Table1. Effect of LC10, LC50 and LC90 of *Rosmarinus officinalis* essential oil on *Xanthogaleruca luteola* 3rd larvae and adults (48 h after treatment).

CL: Confidence Limit which has been calculated with 95% confidence.

Development stage	LC ₁₀ (95% CL)	LC ₅₀ (95% CL)	LC ₉₀ (95% CL)	slope±SE
3 rd instar larvae	1.12(0.62- 1.5)	2.55(2.05- 3.11)	5.84(4.47-9.74)	3.57± 0.68
Adult	0.53 (0.29-0.71)	1.11(0.87-1.33)	2.34(1.87-3.47)	3.98 ±0.89

جدول ۲- شاخص‌های تغذیه‌ای لارو سن سوم *Xanthogaleruca luteola* پس از استفاده از LC₅₀ اسانس *Rosmarinus officinalis*

Table2. Nutritional indices of third instar larvae of *Xanthogaleruca luteola* after treatment with LC₅₀ concentration of *Rosmarinus officinalis* essential oil.

	control	treatment
RCR(mg/mg/day)	1.3±0.01a	0.57±0.008b
RGR(mg/mg/day)	1.7±0.01a	0.08±0.004b
ECI(%)	19.2±0.36a	14.46±0.59b
ECD(%)	20.3±0.69a	16.53±0.6b
AD(%)	94.18±1.7a	87.5±1.4b

Data with similar letters in each row are not significantly different (p 0.05); AD – approximate digestibility; CCI – efficiency of conversion of ingested food; CCD – efficiency of conversion of digested food; RGR – relative growth rate; RCR; Relative consumption Rate

جدول ۳- تاثیر غلظت LC₅₀ اسانس روغنی *Rosmarinus officinalis* بر برخی از ترکیبات بیوشیمیایی لارو سن سوم *Xanthogaleruca luteola* ۴۸ ساعت پس از تیمار

Table 3. Effects of LC₅₀ concentration of *Rosmarinus officinalis* essential oil on some biochemical compounds of *Xanthogaleruca luteola* 3rd larvae (48 h after treatment).

	Treatment	Control
Cholesterol(mg/dl)	211.12 ± 7.6b	281 ± 13.05118a
LDH(IU/L)	1180 ± 330.05a	1319.66 ± 30.22a
Urea(mg/dl)	1.59 ± 0.06b	1.99 ± 0.09a
Uric acid(mg/dl)	5.73 ± 0.26b	9.51 ± 0.5a
Glucose(mg/dl)	1024.52 ± 46.3a	940.33 ± 44.51a

Data with similar letters in each row are not significantly different (p 0.05)

جدول ۴- تاثیر غلظت LC₅₀ اسانس روغنی *Rosmarinus officinalis* بر برخی از ترکیبات بیوشیمیایی حشرات بالغ *Xanthogaleruca luteola* (۴۸ ساعت پس از تیمار)

Table 4. Effects of LC 50 concentration of *Rosmarinus officinalis* essential oil on some biochemical compounds of *Xanthogaleruca luteola* adult insect (48 h after treatment).

Data with similar letters in each row are not significantly different (P 0.05)

	Treatment	Control
Cholesrol(mg/dl)	243.14 ± 5.03a	558.17 ± 29.08a
LDH(IU/L)	4189.08 ± 1931.66a	6880 ± 452.99a
Urea(mg/dl)	2.85 ± 0.06a	1.93 ± 0.03b
Uric acid(mg/dl)	7.2 ± 0.5a	7.63 ± 0.20a
Glucose(mg/dl)	1612.24 ± 18.96a	995.65 ± 81.92b

References

- Akhtar, Y. and Isman, M. B.** 2004. Comparative growth inhibitory and antifeedant effects of plant extract and pure allelochemicals on some phytophagous insect species, **Journal of Applied entomology** 128: 32–38.
- Arbab, A., Jalali, J. and Sahragard, A.** 2001. On the biology of elm leaf beetle *Xanthogaleruca luteola* (Coleoptera: Chrysomellidae) in laboratory conditions. **Journal of the Entomological Society of Iran** 21: 73–85.
- Badarau, C. L., Marculescu, A., Chiru, N., Damsa, F., Nistor, A.,** 2011. Effects of *Rosmarinus officinalis* oil treatments on the photosynthetic pigments in healthy and potato virus Y infected plants *Solanum tuberosum* L. **Romanian Biotechnological Letters** 16(1): 19-25.
- Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and Idamor, M.** 2008. Biological effects of essential oils. **Food Chemical Toxicology** 46: 446-475.
- Bizhannia, A. R., Etebari, K. and Sorati, R.** 2005. The effects of juvenile hormone analogue, Admiral, application on protein metabolism of silkworm larvae, **Journal of the Entomological Society of Iran** 25: 43–56.
- Bradway, R. M. and Duffey, S. S.** 1988. The effect of plant protein quality on insect digestive physiology and the toxicity of plant proteinase inhibitors. **Journal of Insect Physiology** 34: 1111-1117.
- Chen, C. C., Chang, S. J. and Hou, R. F.** 1996. Effects of chinaberry fruit extract on feeding, growth and fecundity of the diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Yponomeutidae). **Journal of Applied Entomology** 10(2): 149-155.
- Dungern, P. and Briegel, H.** 2001. Protein catabolism in mosquitoes: ureotely and uricotely in larval and imaginal *Aedes aegypti*. **Journal of Insect Physiology** 74:131–141.
- Etebari, K. and Matindoost, L.** 2004a. A study on the effects of larval age on biochemical macromolecules abundance of haemolymph in silkworm *Bombyx mori* L. (Lepidoptera: Bombycidae), **Journal of the Entomological Society of Iran** 24: 1–16.
- Etebari K. and Matindoost, L.** 2004b. The study on effects of larval age and starvation stress on biochemical macromolecules abundance of hemolymph in silkworm *Bombyx mori*. Proceedings of the 16th Iranian Plant Protection Congress, General Entomology Symposium, August 28th–September 1st, 2004, The University of Tabriz, Iran, p. 435.
- Etebari, K. and Matindoost, L.** 2004c. Effects of hypervitaminosis of vitamin B3 on silkworm biology, **Journal of Bioscience** 29: 417–422.
- Isman, M. B.** 1997. Neem and other botanical insecticides: barrier to commercialization. **Phytoparasitica**. 25(4): 339-344.
- Isman, M. B.** 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology** 51: 45–66.
- Jalali Sendi, J., Arbab, A. and Aliakbar, A. R.** 2005. The efficacy of aqueous plant extracts of wormwood and dwarf elder against elm leaf beetle *Xanthogaleruca luteola* Mull. (Coleoptera: Chrysomelidae), **Agricultural Knowledge** 15 : 115–120.
- Jansen, B. and Groot, A.** 2004. Occurrence, biological activity and synthesis of drimane sesquiterpenoids. **Natural Products Reports** 21: 449-477.
- Koul, O., Singh, R., Singh, J., Singh, W., Daniewski, M. and Berlozecki, S.** 2004. Bioefficacy and mode of action of some limonoids of salannin group from *Azadirachta indica* and their role in a multicomponent system against Lepidopteran larvae. **Journal of Biosciences** 29 (4): 409-416.
- LeOra software** 1987. Polo-Pc user guide to probit or logit analysis. LeOra software. Berkely, California.
- Mauchline, A. L., Osborne, J. L., Martin, A. P., Poppy, G. M. and Powell, W.** 2005. The effect of non-host plant essential oil volatiles on the behavior of the pollen beetle *Meligethes aeneus*. **Entomologia Experimentalis et Applicata** 114: 181-188.
- Miresmailli, S., Bradbury, R. and Isman, M. B.** 2006. Comparative toxicity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* Koch (Acaria: Tetranychidae) on two different host plants. **Pest Management Science** 62: 366-371.
- Nath, B. S.** 2003. Shifts in glycogen metabolism in hemolymph and fat body of the silkworm, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae) in response to organophosphorus insecticide toxicity, **Pesticide Biochemistry and Physiology** 74: 73–84.

- Papachristos, D. P., Stampoulos, D. C.** 2004. Fumigant toxicity of three essential oils on the eggs of *Acanthoscelids obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). **Journal of Stored Products Research** 40: 517-525.
- Radhakrishna, P. G. and Delvi, M. R.** 1992. Effect of organophosphorus insecticides on food utilization in different races of *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae), **Sericologia** 23: 71-85.
- Rakhshani, E.** 2002. Principles of Agricultural Toxicology. Farhange Jame Publications, Tehran 347 pp.
- Regnault-Roger, C.** 1997. The potential of botanical essential oils for insect pest control. **Integrated Pest Management Review** 2: 25-34.
- Richmond, W.** 1973. Preparation and properties of cholesterol oxidase from *Nocardia* sp. And its application to enzymatic assay of total cholesterol in serum, **Clinical Chemistry** 19: 1350-1356.
- SAS Institute.** 1997. SAS/STAT User's Guide for Personal Computers, SAS Institute, Cary, NC.
- Satake, S. Kawabe, Y. and Mizoguchi, A.** 2000. Carbohydrate metabolism during starvation in the silkworm *Bombyx mori* L. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology** 44: 90-98.
- Scriber, J. M. and Slansky, F.** 1981. The nutritional ecology of immature insects. **Annual Review of Entomology** 26: 183-211.
- Senthil Nathan, S., Kalaovani, K. and Chung, P. G.** 2005. The effect of azadirachtin and nucleopolyhydrovirus on midgut enzymatic profile of *Spodoptera litura* Fab. (Lepidoptera: Noctuidae). **Pesticide Biochemistry and Physiology** 83: 46-57.
- Senthil Nathan, S.** 2006. Effects of *Melia azedarach* on nutritional physiology and enzyme activities of the rice leaffolder *Cnaphalocrocis medinalis* (Gnene) (Lepidoptera: Pyralidae), **Pesticide Biochemistry and Physiology** 84: 98-108.
- Shaaya, E., Ravid, U., Paster, N., Juven, B., Zisman, U. and Pissarev, V.** 1991. Fumigant toxicity of essential oils against four major stored product insects. **Journal of Chemical Ecology** 17: 499-501.
- Shaaya, E., Kostyukovski, M., Eilberg, J. and Sukprakarn, C.** 1997. Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. **Journal of Stored Products Research** 33: 7-15.
- Shaaya, E., Kostyukovski, M., Atsmi, S. and Chen, B.** 1999. Alternatives to methyl bromide for control of insects attacking stored products and cut flowers. In: Zuxun, J., Quan, L., Yongsheng, L., Xianchang, T., Lianghua, G. (Eds.), Stored Product Protection. Proceeding of the Seventh International Working Conference on Stored-Product Protection, 14-19 October 1998, Beijing, China. pp. 526-530.
- Siegert, K. J.** 1987. Carbohydrate metabolism in *Manduca sexta* during late larval development. **Journal of Insect Physiology** 33: 421-427.
- Talebi Jahromi, Kh.** 2007. Pesticides Toxicology. University of Tehran Press. PP. 492.
- Tripathi, A. K. V. Prajapati, A. K. Aggarwal-Khanuja, S. P. S. and Kumar, S.** 2000. Repellency and toxicity of oil from *Artemisia annua* to certain stored-product beetles. **Journal of Economic Entomology** 93: 43-47.
- Valovage, W. D. and Brooks, M. A.** 1979. Uric acid quantities in the fat body of normal and aposymbiotic German cockroaches *Blattella germanica* **Annals of the Entomological Society of America** 72: 687-689.
- Waldbauer, G. P.** 1968. The consumption and utilization of foods by insects. **Advances in Insect Physiology** 5: 229-288.

The effect of essential oil of *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) on mortality and physiological parameters of *Xanthogaleruca luteola* Mull. (Coleoptera: Chrysomelidae)

F. Amirmohammadi¹ and J. Jalali Sendi*²

1, 2 former Msc. student of Agricultural Entomology and Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Guilan

(Received: April 3, 2013- Accepted: July 21, 2013)

Abstract

Essential oil of *Rosmarinus officinalis* was investigated on toxicity and physiological aspect of elm leaf beetle *Xanthogaleruca luteola* Mull. for 3rd instar larvae and adults in controlled condition (25 ± 2 °C; 14:10LD; 65% RH). LC₅₀ were estimated 2.55 and 1.11 for 3rd instar larvae and adults respectively. The effect of LC₅₀ dose on remaining insects were investigated on nutritional indices. Results indicated that the relative consumption rate (RCR), relative growth rate (RGR), efficiency of conversion of ingested food (ECI), efficiency of conversion of digested food (ECD) in 3rd larvae were reduced compared with the controls. The essential oil reduced cholesterol, urea and uric acid compared with the controls in 3rd larvae. However, LDH and glucose showed no significant differences with the controls. In adults the glucose was increased after treatment. These results indicate that this plant has the potential for controlling this important insect pest.

Key words: *Xanthogaleruca luteola*, *Rosmarinus officinalis*, nutrition indices, Essential oil.

*Corresponding author: jjalali@guilan.ac.ir.