نشریه پژوهش‌های حفاظت گیاهان ایران (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۴۸۰-۴۶۹

Journal of Iranian Plant Protection Research
Vol. 35, No. 4, Winter 2022, P. 469-480

مقاله پژوهشی

تأثیر ترکیبات مختلف آلی و شیمیایی روی تراکم جمعیت سفیدبالک گلخانه و برخی ترکیبات ثانویه گیاه لوبیا

محمد کاراموزیان[۱]- مریم پهلوان یلی[۲*]- کمال احمدی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۲۸

چکیده

سفیدبالک گلخانه، *Trialeurodes vaporariorum* Westwood یکی از آفات مهم گیاه لوبیای معمولی است. در این تحقیق تاثیر برخی ترکیبات آلی شامل عصاره متانولی پوست گردو (MW)، عصاره ان‌هگزانی پوست گردو (NW)، عصاره متانولی دانه شوید (MD)، عصاره ان‌هگزانی دانه شوید (ND) و اسید سالیسیلیک (SA)، به تنهایی و در ترکیب با آفتکش اسپیروتترامات (SP) روی سفیدبالک گلخانه و برخی ترکیبات شیمیایی ثانویه گیاه لوبیا بررسی شد. آزمایش‌ها در شرایط گلخانه با محلول‌پاشی تیمارهای مورد بررسی روی گیاهان لوبیا انجام شد. نتایج تحقیق نشان داد که تراکم جمعیت سفیدبالک گلخانه و ترکیبات شیمیایی ثانویه گیاه به طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی بود. میزان فنل کل در تیمارهای مختلف بین ۵۸/۹۶ تا ۱۱۴/۰۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک متغیر بود که بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار آن به‌ترتیب در تیمارهای ترکیب اسپیروتترامات با عصاره متانولی دانه شوید و ترکیب اسپیروتترامات با عصاره ان‌هگزانی پوست گردو به‌دست آمد. بیش‌ترین مقدار فلاونوئید کل گیاه لوبیا نیز در تیمار ترکیب اسپیروتترامات با اسید سالیسیلیک بود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تراکم جمعیت سفیدبالک گلخانه در تیمار اسپیروتترامات به تنهایی کم‌تر از سایر تیمارها بود اما اختلاف معنی‌داری نیز با تیمارهای تلفیقی و تیمار عصاره متانولی پوست گردو نداشت. همچنین همه تیمارهای مورد مطالعه در مقایسه با شاهد به‌طور قابل توجهی موجب تغییر تراکم جمعیت این آفت و افزایش مقدار فنل کل گیاه لوبیا شدند. بنابراین می‌توان از این ترکیبات بویژه عصاره متانولی پوست گردو در برنامه‌های مدیریت تلفیقی این آفت استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: سفیدبالک گلخانه، اسید سالیسیلیک، عصاره گیاهی، فلاونوئید کل، فنل کل

مقدمه

حبوبات پس از غلات به عنوان دومین منبع غذایی بشر بعنوان عمده‌ترین منبع پروتئین گیاهی محسوب می‌شوند. در بین حبوبات از لحاظ سطح زیر کشت و ارزش اقتصادی مقام اول متعلق به لوبیا است (۴۹). لوبیای معمولی با نام علمی *Phaseolus vulgaris* L. گیاهی یکساله از تیره Fabaceae است. از نظر گیاه‌شناسی، لوبیا گیاهی حرارت دوست و به سرما و یخبندان بسیار حساس است و در بهار تا زمانی که درجه حرارت محیط به اندازه کافی بالا نرود نمی‌توان به کشت آن مبادرت ورزید. درجه حرارت مناسب برای رشد و نمو لوبیا حدود ۲۵ تا ۳۰ درجه سلسیوس است (۲۵). گیاه لوبیا مورد حمله آفات زیادی قرار می‌گیرد که از جمله آن‌ها می‌توان به سفیدبالک‌ها، شته‌ها، تریپس لوبیا، مگس گیاه‌خوار و کنه تار عنکبوتی اشاره کرد (۱۹).

سفیدبالک گلخانه، *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Hem., Aleyrodidae) آفتی با اهمیت اقتصادی بالا و پراکنش وسیع می‌باشد و بیشتر در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری فعالیت می‌کند (۱۲). تغذیه این حشره بیشتر روی انواع گیاهان زراعی و گلخانه‌ای مانند بادمجان، خیار، گوجه‌فرنگی، لوبیا، فلفل کاهو و غیره می‌باشد. این آفت می‌تواند به صورت مستقیم و غیر مستقیم باعث ایجاد خسارت در گیاهان میزبان شود. خسارت مستقیم از طریق مکیدن شیره گیاهی است که سبب پژمردگی زودرس گیاه و کاهش درصد رشد محصول می شود و در صورت تراکم بالای جمعیت آن روی گیاه، کلروز برگی، خشکی، ریزش زود هنگام برگ‌ها و مرگ گیاه اتفاق می‌افتد (۴۰). خسارت غیر مستقیم آن از طریق ترشح عسلک است که سبب رشد قارچ‌های دوده‌ای سیاه روی برگ‌ها

۱، ۲ و ۳- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشیار و استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: pahlavanm@uk.ac.ir)
DOI: 10.22067/JPP.2021.68750.1009

و میوه‌ها، کاهش فتوسنتز و نیز کاهش بازارپسندی محصول می‌شود (۷). هم‌چنین، انواع سفیدبالک‌ها قادر به انتقال ۱۱۴ ویروس گیاهی مختلف به گیاهان میزبان می‌باشند (۱۶).

کنترل سفیدبالک گلخانه اغلب متکی بر استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی ودشمنان طبیعی است؛ اما، کاربرد حشره‌کش‌ها موجب توسعه مقاومت این آفت به بیشتر آفتکش‌ها شده است (۳۳). بنابراین، امروزه سعی می‌شود با استفاده از روش‌های سازگار با محیط زیست مانند استفاده از ترکیبات آلی طبیعی، میزان مصرف آفت‌کش‌های شیمیایی یا معدنی کاهش داده شود تا تاثیر سوء زیست محیطی آن‌ها به کمترین مقدار ممکن برسد (۴۳ و ۴۷).

گیاهان در مسیر تکاملی خود به یک سامانه‌ی دفاعی کارآمد برای مقابله با حمله گیاه‌خواران مجهز شده‌اند. وجود ترکیبات شیمیایی ثانویه مختلف در بافت یا رایحه گیاهان با دارا بودن خاصیت دورکنندگی یا ضدتغذیه‌ای برای حشرات، جزئی از این سامانه‌ی دفاعی محسوب می‌شود (۴۴).

گردو با نام علمی .*Juglans* spp (تیره Juglandaceae) در بیشتر مناطق ایران به وفور یافت می‌شود (۴۲). برگ درخت گردو حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی قوی از جمله ترکیبات فنولیک می‌باشد که این ترکیبات اثرات سمی زیادی برای بسیاری از حشرات، باکتری‌ها و قارچ‌ها دارند (۶ و ۲۷). همچنین عصاره آبی پوست سبز گردو به عنوان یک منبع ارزان قیمت و غنی از ترکیبات پلی فنول با خاصیت ضد اکسیداسیونی و ضد میکروبی می‌باشد (۱۱ و ۳۲)

گیاه شوید با نام علمی .*Anethum graveolens* L گیاهی یکساله و معطر از تیره Apiaceae می‌باشد که دارای ترکیبات فراری مانند فلاندرن، کاروون و لیمونن می‌باشد. بذر شوید نیز دارای ترکیبات مختلفی مانند دیلانوزید، کومارین، کامپفرول، ویسنین، میریستیسین و سایر فلاونوییدها، اسیدهای فنلی، پروتئین، چربی و... است (۴، ۱۵ و ۲۴). استفاده از اسانس شوید و یا کاشت آن به صورت گیاه همراه در مزرعه، اثر دورکنندگی موثری روی حشرات آفت دارد (۳۶ و ۳۷).

سالیسیلیک اسید یک ترکیب آلی طبیعی مهم دیگر در گیاهان محسوب می‌شود. این ماده یک گروه از ترکیبات فنولی است که در آن یک حلقه آروماتیک متصل به یک گروه هیدروکسیل است (۲۰) و به عنوان یک ماده شبه هورمونی نقش مهمی در تنظیم رشد و نمو گیاهان دارد. سالیسیلیک اسید به وسیله سلول‌های ریشه تولید می‌شود و نقش محوری در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیک مختلف مثل رشد و نمو گیاه، جذب یون‌ها، فتوسنتز و جوانه‌زنی ایفا می‌کند (۱۴) این ماده تحت تاثیر بسیاری از تنش‌های زیستی و غیرزیستی مانند باکتری‌ها، قارچ‌ها، ویروس‌ها، تنش سرمازدگی، تنش خشکی و تنش شوری در بافت‌های گیاهی تجمع یافته و در افزایش مقاومت گیاه به این تنش‌ها موثر است (۲، ۳۴ و ۴۱). گزارش شده است که در آلودگی گیاهان توسط آفاتی مانند شته، اسید سالیسیلیک جزء مهم‌ترین ترکیبات دفاعی گیاه می‌باشد که در مقاومت سیستمیک بسیاری از گیاهان علیه شته‌ها نقش دارد (۹ و ۲۸).

اسپیروتترامات یکی از آفت‌کش‌های شیمیایی رایج و موثر در کنترل سفیدبالک گلخانه می‌باشد. این حشره‌کش از مشتقات اسید تترامیک و جزء گروه آفت‌کش‌های کتوانول‌های حلقوی (Cyclic ketoenol) است که کارایی مناسبی روی بیشتر آفات مکنده مانند پسیل، شپشک، شته و سفیدبالک دارد. اسپیروتترامات با خاصیت سیستمیک خود قادر است در همه بافت‌های گیاهی مانند آوندهای آبکش، آوندهای چوبی، ساقه، برگ و ریشه گیاه گسترش یافته و با کاهش فعالیت استیل کوآنزیم A، از سنتز چربی‌ها در بدن حشرات جلوگیری کند (۳۰). این آفت‌کش در حشرات کامل موجب کاهش زادآوری و در پوره‌ها باعث پوست‌اندازی ناقص می‌شود (۳۱).

بسیاری از مواد آلی و شیمیایی مورد مصرف در کشاورزی از قبیل حشره‌کش‌ها، علف‌کش‌ها، اسانس و عصاره‌ها، مواد تنظیم کننده رشد گیاهان و کودها اثرات متفاوت و متنوعی روی گیاه‌خواران آفت دارند. این ترکیبات با تاثیر بر خواص شیمیایی گیاه ممکن است موجب تغییر در مقدار و غلظت متابولیت‌های گیاهی شوند و این تغییر می‌تواند علاوه بر کارایی آفات، میزان مقاومت گیاه به آفات را تحت تاثیر قرار دهد (۴۳). به همین منظور، در این مطالعه با توجه به اهمیت استفاده از ترکیبات سازگار با محیط زیست در کنترل آفات، تاثیر ترکیبات آلی مانند عصاره‌های متانولی و ان‌هگزانی دانه شوید و پوست گردو و اسید سالیسیلیک و نیز آفت‌کش شیمیایی اسپیروتترامات روی جمعیت سفیدبالک گلخانه و برخی ترکیبات شیمیایی ثانویه گیاه لوبیا مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه می‌تواند در طراحی مدیریت تلفیقی سفیدبالک گلخانه در مناطق تحت کشت لوبیا مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

پرورش گیاه میزبان

در این بررسی از گیاه لوبیا، رقم برلوتی تهیه شده از مرکز تحقیقات کشاورزی استان کرمان برای پرورش سفیدبالک گلخانه و انجام آزمایش‌ها استفاده شد. بذرهای لوبیا داخل گلدان‌هایی به قطر دهانه ۱۵ و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر با خاکی حاوی ۳۰ درصد خاک رس، ۴۰ درصد شن و ۳۰ درصد ورمی‌کمپوست کاشته شدند و پس از سبز شدن کامل، یک گیاه در گلدان باقی ماند. برای تامین نیاز آبی گیاه، گلدان‌ها داخل ظروف پلاستیکی قرار داده شدند تا به‌واسطه فشار اسمزی ناشی از آب ریخته شده به داخل ظروف پلاستیکی، رطوبت کافی به گیاه منتقل شود. سپس، این گلدان‌ها به درون قفس‌هایی از

جنس پارچه ارگانزا به ابعاد ۶۰ ×۶۰ × ۸۰ سانتی‌متر که دارای درب زیپ‌دار بودند، منتقل شدند. گیاهان در شرایط گلخانه‌ای در دمای ۳ ± ۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت ۱۰ ± ۵۰ درصد و دوره نوری طبیعی پرورش یافتند. این گیاهان در مرحله ۶ تا ۸ برگی برای انجام آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفتند.

پرورش حشره

کلنی سفیدبالک گلخانه از گلخانه‌های تحقیقاتی دانشگاه شهید باهنر کرمان تهیه شد. برای آلوده‌سازی گیاهان، از جمعیتی که روی بوته‌های گوجه‌فرنگی به مدت چندین نسل خالص‌سازی شده بود استفاده شد. بدین صورت که، گلدان حاوی گیاه سالم لوبیا در مجاورت گیاهان آلوده گوجه‌فرنگی گذاشته شد و مدت سه روز به حشرات کامل سفیدبالک گلخانه اجازه داده شد تا روی گیاه تخمگذاری کنند. سپس، گیاه آلوده لوبیا به گلخانه اصلی منتقل و داخل قفس در مجاورت سایر گیاهان لوبیا قرار گرفت تا به تدریج آلودگی به این گیاهان منتقل شود.

نحوه انجام آزمایش

برای ایجاد و استقرار سفیدبالک گلخانه، گیاهان سالم لوبیا داخل قفس‌های حاوی جمعیت بسیار بالای کلنی منتقل شدند. مدت ۴۸ تا ۷۲ ساعت به حشرات کامل سفیدبالک گلخانه اجازه داده شد تا روی این گیاهان که در مرحله هشت برگی هستند، تخمگذاری کنند. پس از آن، گیاهان مذکور از قفس‌ها خارج و با استفاده از قلم‌مو حشرات کامل از روی برگ‌ها حذف شدند. این گیاهان به درون سیلندرهایی به‌قطر ۴۰ سانتی‌متر و ارتفاع یک متر که از جنس ورقه‌های پلی استر ضخیم وشفاف با سرپوش توری منتقل شده و به مدت ۵ تا ۷ روز درون سیلندرها نگهداری شدند تا تخم‌های موجود روی برگ‌ها تفریخ شده و پوره‌های سفیدبالک روی برگ‌ها مستقر شوند.

برای بررسی تاثیر ترکیبات آلی و شیمیایی روی پوره‌های سفیدبالک گلخانه از ۱۲ تیمار مختلف شامل: ۱) آفتکش اسپیروتترامات (SP)، ۲) اسید سالیسیلیک (MW)، ۳) عصاره ان‌هگزانی دانه شوید (NW)، ۴) عصاره متانولی دانه شوید (MD)، ۵) عصاره ان‌هگزانی پوست گردو (ND)، ۶) عصاره متانولی پوست گردو (SA)، ۷) ترکیب اسپیروتترامات با اسید سالیسیلیک (SP+SA)، ۸) ترکیب اسپیروتترامات با عصاره ان‌هگزانی دانه شوید (SP+ND)، ۹) ترکیب اسپیروتترامات با عصاره متانولی دانه شوید (SP+MD)، ۱۰) ترکیب اسپیروتترامات با عصاره ان‌هگزانی پوست گردو (SP+NW) ۱۱) ترکیب اسپیروتترامات با عصاره متانولی پوست گردو (SP+MW)، و ۱۲) شاهد (آب) (CO) استفاده شد. غلظت تیمارهای مورد آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است (تعیین غلظت‌های نهایی پس از آزمایشات اولیه یا پیش تست صورت گرفته است).

جدول ۱- نام و غلظت نهایی ترکیبات مورد نیاز جهت انجام آزمایش

Table 1- Name and final concentration of required compounds for testing

Treatment تیمار	Concentration غلظت
Spirotetramat	0.5 L/1000
Salicylic acid	0.13 g/litr
Dill seed n-hexanic extract	50 µl/litr
Dill seed methanolic extract	50 µl/litr
Walnut husk n-hexanic extract	50 µl/litr
Walnut husk methanolic extract	50 µl/litr
Spirotetramat + Salicylic acid	
Spirotetramat + Dill seed n-hexanic extract	
Spirotetramat + Dill seed methanolic extract	
Spirotetramat + Walnut husk n-hexanic extract	
Spirotetramat + Walnut husk methanolic extract	
Control	

جهت تهیه عصاره پوست سبز گردو و دانه شوید نیز از دستگاه حمام التراسونیک مدل C250T (Ultrasonic Cleaner) استفاده شد. بدین منظور، در ابتدا پوست‌های سبز گردو از منطقه بافت استان کرمان جمع‌آوری و در دمای اتاق و دور از نور خورشید سبز خشک شدند. نمونه‌های گیاهی آماده شده (پوست سبز گردو و دانه شوید) به‌طور جداگانه، با استفاده از دستگاه آسیاب برقی به‌طور کامل پودر شدند. برای عصاره گیری، مقدار ۵۰ گرم از پودر گیاهی در داخل کیسه دستگاه سوکسله ریخته شد و مخزن حلال دستگاه نیز با ۵۰۰ میلی لیتر از محلول متانول (مرک) پر گردید. پس از گذشت چهار ساعت، عصاره استحصالی دستگاه با استفاده از کاغذ صافی واتمن

صاف و با دور ۱۲۰۰۰ (دور بر دقیقه) در مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس مایع رویی به‌وسیله‌ی دستگاه تبخیر کننده دوار تحت فشار خلاء تا حد امکان تغلیظ و آن‌گاه جهت خشک شدن، داخل پتری‌های استریل در دستگاه انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شد. عصاره خام خشک شده درون پتری‌ها با استفاده از تیغ اسکالپل زیر هود تراشیده و سپس به ظرف‌های مجزای درپوش دار استریل منتقل و در دمای ۲۲- درجه سلسیوس، جهت انجام ازمایش‌ها نگهداری شد.

عصاره‌های گیاهی پس از انجام آزمایش‌های اولیه با غلظت ۵۰ میکروگرم بر لیتر، سالسیلیک اسید با غلظت یک میلی‌مولار و اسپیروتترامات (Movento®) با غلظت نیم در هزار از فرم تجاری آن در آزمایشگاه تهیه و روی بوته‌های آلوده به پوره‌های سفیدبالک گلخانه محلول‌پاشی شدند. یک روز قبل از محلول‌پاشی، ۳۰ تا ۴۰ عدد برگ به طور تصادفی از هر تیمار انتخاب و با نخ رنگی نشانه‌گذاری شدند پنج روز بعد، برگ‌های مورد نظر از هر بوته جدا، درون کیسه پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل و با استریومیکروسکوپ بررسی شدند تا تلفات یا زنده‌مانی مراحل ثابت سفیدبالک گلخانه (شامل پوره‌های سنین دوم، سوم، چهارم و در صورت وجود شفیره این حشره) در پشت برگ‌های هر بوته شمارش و یادداشت شود.

بررسی تاثیر تیمارهای آزمایشی بر مقدار ترکیبات شیمیایی ثانویه گیاه لوبیا

تهیه عصاره گیاهی

در این آزمایش، ۴۸ ساعت پس از محلول‌پاشی گیاهان لوبیا با تیمارهای مورد بررسی، تعدادی از برگ گیاهان تیمار شده چیده شده و در دمای اتاق و در شرایط سایه به طور کامل خشک و با آسیاب به حالت پودر در آورده شدند. سپس، ۵ گرم از پودر برگ خشک گیاهان تیمار شده، با ۲۰ میلی‌لیتر حلال متانول با درجه خلوص ۹۵ درصد داخل ارلن‌های شیشه‌ای مخلوط شد. سر تمامی ظروف با فویل آلومینیومی بسته و در یک محل تاریک با دمای ۲۵ درجه سلسیوس نگهداری شدند. پس از گذشت ۴۸ ساعت، هر عصاره داخل لوله فالکون ۵۰ میلی‌لیتر ریخته شد و با دور ۶۰۰۰ هزار در مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس، مایع رویی عصاره‌ها صاف شده و داخل لوله فالکون تا زمان انجام آزمایش‌های بعدی در یخچال نگهداری شدند.

اندازه‌گیری میزان فنل کل

جهت اندازه‌گیری میزان فنل کل از روش پورمراد و همکاران (۳۵) استفاده شد. ابتدا، ۵ میلی‌لیتر از معرف فولین سیوکالتو با ۴ میلی‌لیتر از محلول کربنات سدیم یک مولار مخلوط شد. سپس، ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول هر عصاره گیاهی یا اسید گالیک به مخلوط اضافه شد. مخلوط‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شدند. پس از این مدت، میزان جذب نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Lambda 45-UV/Visible در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. نمونه‌ها در ۵ تکرار بررسی و منحنی استاندارد توسط غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰ و ۲۵۰ (میلی‌گرم بر لیتر) از محلول اسید گالیک تهیه شد. مقدار فنل کل در هر یک از تیمارهای آزمایشی به صورت معادل میلی‌گرم اسید گالیک (GAE) بر گرم وزن خشک محاسبه شد.

اندازه‌گیری میزان فلاونوئید کل

مقادیر فلاونوئید کل در نمونه عصاره‌های گیاهی مورد بررسی با روش رنگ‌سنجی اندازه‌گیری شد (۳۵). ابتدا، ۰/۱ میلی‌لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد را با ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار مخلوط کرده و سپس به آن‌ها ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر دو بار تقطیر اضافه شد. در مرحله بعد، ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول هر عصاره که با ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول مخلوط شده بود، به مخلوط کلرید آلومینیوم، استات پتاسیم و آب اضافه شد. مخلوط نهایی حاصل برای هر عصاره (با حجم ۵ میلی‌لیتر) برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. سپس، جذب مخلوط حاصل در طول موج ۴۱۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر مدل Lambda 45-UV/Visible اندازه‌گیری شد. مقدار فلاونوئید کل به صورت معادل میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک محاسبه و بیان شد. ارزیابی هر کدام از عصاره‌های گیاهی مورد بررسی در ۵ تکرار انجام پذیرفت.

تجزیه داده‌ها

پیش از تجزیه آماری داده‌ها، توزیع نرمال داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگوروف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov test) در نرم‌افزار SPSS 23.0 ارزیابی شد. تجزیه داده‌ها با آزمون تجزیه واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) و با استفاده از نرم‌افزار SPSS 23.0 انجام شد. مقایسه میانگین‌های مربوط به تراکم پوره‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای (Student-Newman- SNK Keuls) و مقایسه میانگین‌های مربوط به ترکیبات شیمیایی ثانویه با استفاده از آزمون توکی (Tukey's test) در سطح احتمال پنج درصد صورت گرفت.

نتایج

تاثیر تیمارهای آزمایشی روی تراکم جمعیت سفیدبالک گلخانه

بر اساس نتایج به دست آمده، تاثیر تیمارهای آزمایشی بر تراکم

جمعیت پوره‌های سفیدبالک گلخانه معنی‌دار بود ($P < ۰/۰۰۰۱$; $F_{۱۱،۴۲۱} = ۱۷/۵۴$). به طوری‌که، محلول‌پاشی گیاهان لوبیا با تیمارهای آزمایشی مختلف، تراکم جمعیت پوره‌های سفیدبالک گلخانه را نسبت به تیمار شاهد کاهش داد. میانگین تراکم جمعیت سفیدبالک گلخانه در تیمار اسپیروتترامات با ۰/۳۲ ± ۱/۷۶ پوره و ترکیب اسپیروتترامات با عصاره متانولی دانه شوید با ۰/۵۷ ± ۳/۵۳ پوره در هر برگ کم‌ترین و در تیمار شاهد با ۱/۴ ± ۱۴/۹۶ پوره در هر برگ بیش‌ترین بود (جدول ۲).

جدول ۲- میانگین (±SE) تراکم جمعیت پوره‌های سفیدبالک گلخانه (*Trialeurodes vaporariorum* Westwood) روی برگ گیاهان لوبیای محلول‌پاشی شده با تیمارهای مختلف

Table 2- Mean (±SE) Population density of *Trialeurodes vaporariorum* Westwood nymphs on bean plants leaves, sprayed with different treatments

Treatment تیمار	N تکرار	Density of nymph per leaf of plant تراکم پوره به‌ازای هر برگ در بوته
Spirotetramat	38	$1.76±0.32^{e}$
Spirotetramat + Salicylic acid	31	$4.45±0.68^{de}$
Spirotetramat + Dill seed methanolic extract	39	$3.53±0.57^{e}$
Spirotetramat + Walnut husk methanolic extract	40	$3.87±0.72^{de}$
Spirotetramat + Dill seed n-hexanic extract	40	$5.30±0.67^{de}$
Spirotetramat + Walnut husk n-hexanic extract	39	$4.23±0.70^{de}$
Dill seed n-hexanic extract	35	$10.77±1.33^{b}$
Walnut husk n-hexanic extract	33	$10.69±1.26^{b}$
Salicylic acid	32	$7.38±1.06^{cd}$
Walnut husk methanolic extract	39	$4.85±0.66^{de}$
Dill seed methanolic extract	32	$9.47±1.06^{bc}$
Control	24	$14.96±1.39^{a}$

حروف کوچک متفاوت بیانگر اختلاف معنی‌دار بین تیمارها است (آزمون SNK، $P < ۰/۰۵$).

Different lowercase letters indicate significant differences among treatments (SNK test, $P < 0.05$)

*SP: اسپیروتترامات؛ SP+SA: ترکیب اسپیروتترامات با اسید سالیسیلیک ؛ SP+MD: ترکیب اسپیروتترامات با عصاره متانولی دانه شوید؛ SP+MW: ترکیب اسپیروتترامات با عصاره متانولی پوست گردو؛ SP+ND: ترکیب اسپیروتترامات با عصاره ان‌هگزان دانه شوید ؛ SP+NW: ترکیب اسپیروتترامات با عصاره ان‌هگزان پوست گردو ؛ ND: عصاره ان‌هگزانی دانه شوید؛ NW: عصاره ان‌هگزانی پوست گردو ؛ SA: اسید سالیسیلیک ؛ MW: عصاره متانولی پوست گردو ؛ MD: عصاره متانولی دانه شوید؛ CO: شاهد

*SP:Spirotetramat; SP+SA: Spirotetramat combined with Salicylic acid; SP+MD: Spirotetramat combined with methanolic extract of dill seed; SP+MW: Spirotetramat combined with methanolic extract of walnut husk; SP+ND: Spirotetramat combined with n-hexanic extract of dill seed; SP+NW: Spirotetramat combined with n-hexanic extract of walnut husk; ND: n-hexanic extract of dill seed; NW: n-hexanic extract of walnut husk; SA: Salicylic acid; MW: Methanolic extract of walnut husk; MD: Methanolic extract of dill seed; CO: Control

تاثیر تیمارهای آزمایشی بر مقدار ترکیبات شیمیایی ثانویه گیاه لوبیا

نتایج به دست آمده حاکی از تاثیر معنی‌دار تیمارهای مورد بررسی بر میزان فنل کل گیاه لوبیا بود (جدول ۳). میزان فنل کل در تیمارهای مختلف بین ۵۸/۹۶ تا ۱۱۴/۰۷ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک متغیر بود که بیش‌ترین و کم‌ترین مقدار آن به ترتیب در تیمارهای اسپیروتترامات با عصاره متانولی دانه شوید و شاهد به دست آمد (جدول ۳). هم‌چنین، میزان فنل کل در تیمارهای عصاره متانولی پوست گردو، ترکیب اسپیروتترامات با عصاره متانولی پوست گردو، اسید سالیسیلیک، عصاره ان‌هگزانی پوست گردو، عصاره متانولی دانه شوید، ترکیب اسپیروتترامات با اسید سالیسیلیک و عصاره ان‌هگزانی دانه شوید بیش‌تر از سایر تیمارها بود (جدول ۳).

میزان فلاونوئید کل گیاه لوبیا نیز به طور معنی‌داری تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت (جدول ۳). به طوری‌که، بیش‌ترین مقدار فلاونوئید کل در تیمار ترکیب اسپیروتترامات با اسید سالیسیلیک و کم‌ترین مقدار آن در شاهد و عصاره متانولی پوست گردو بود (جدول ۳). میزان فلاونوئید کل در تیمار ترکیب اسپیروتترامات و عصاره ان‌هگزانی پوست گردو و پس از آن در ترکیب اسپیروتترامات با عصاره متانولی دانه شوید بیش‌تر از سایر تیمارها بود (جدول ۳).

جدول ۳- میزان فنل کل و فلاونوئید کل (میانگین ± SE) گیاهان لوبیای محلول‌پاشی شده با تیمارهای مختلف

Table 3- Total phenol and total flavonoid content (Mean± SE) of bean plants sprayed with different treatments

Treatments تیمارها	Total Phenol فنل کل (mg/ g dry weight)	Total Flavonoid فلاوونویید کل (mg/ g dry weight)
Spirotetramat	73.14±1.51^{c}	63.32±4.07^{de}
Spirotetramat + Salicylic acid	92.46±0.91^{b}	117.47±3.17^{a}
Spirotetramat + Dill seed methanolic extract	114.07±1.38^{a}	80.87±2.72^{bc}
Spirotetramat + Walnut husk methanolic extract	97.15±2.88^{b}	67.25±4.43^{cde}
Spirotetramat + Dill seed n-hexanic extract	71.55±5.49^{c}	68.26±7.04^{cde}
Spirotetramat + Walnut husk n-hexanic extract	66.79±1.14^{cd}	84.12±4.38^{b}
Dill seed n-hexanic extract	89.66±1.68^{b}	66.30±0.97^{cde}
Walnut husk n-hexanic extract	93.18±6.02^{b}	74.82±0.61^{bcd}
Dill seed methanolic extract	92.9±5.42^{b}	63.97±7.46^{de}
Walnut husk methanolic extract	97.48±7.07^{b}	33.71±4.62^{f}
Salicylic acid	93.53±4.94^{b}	57.08±7.04^{e}
Control	58.96±2.64^{d}	30.73±2.27^{f}
F	15.26	23.12
df	11,59	11,59
P	<0.0001	<0.0001

میانگین‌های با حروف متفاوت در هر ستون، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد دارند (آزمون توکی، ۰/۰۵ > *P*).

Means followed by different letters in each column are significantly different (Tukey test, $P < 0.05$).

بحث

بر اساس نتایج به دست آمده، تیمارهای آزمایشی مورد بررسی تراکم جمعیت پوره‌های سفیدبالک گلخانه را تحت تاثیر قرار دادند. با این وجود، ترکیب آفت‌کش اسپیروتترامات با عصاره‌های دانه شوید و گردو و نیز اسید سالیسیلیک در مقایسه با محلول‌پاشی غیر ترکیبی این آفت‌کش روی گیاه لوبیا تاثیر معنی‌داری روی تراکم جمعیت سفیدبالک گلخانه نداشته است. به طوری که، همه تیمارهای مورد مطالعه در مقایسه با شاهد موجب کاهش تراکم جمعیت پوره‌های سفیدبالک گلخانه شدند. بنابراین از آن جا که مصرف سم در تیمارهای تلفیقی کاهش نیافته است و نیز با توجه به عدم وجود اختلافات معنی‌دار بین تیمارها، می‌توان گفت کاربرد اسپیروتترامات به تنهایی در مقایسه با تیمارهای تلفیقی کنترل این آفت بصرفه تر و موثرتر می‌باشد. همچنین مصرف این آفت‌کش در مقایسه با کاربرد اسید سالیسیلیک، عصاره‌های دانه شوید و عصاره ان هگزانی پوست گردو به تنهایی تاثیر قابل توجهی در کاهش جمعیت سفیدبالک گلخانه نشان داد اما در مقایسه با کاربرد عصاره متانولی پوست گردو اختلاف معنی‌داری نداشت. بنابراین در بین تیمارهای مورد مطالعه، کاربرد عصاره متانولی پوست گردو به تنهایی روی تراکم جمعیت این آفت تاثیر قابل توجهی داشت و در نتیجه می‌تواند جایگزین مناسبی برای آفت‌کش باشد. لازم به ذکر است که عصاره پوست گردو روی گیاه گیاه‌سوزی ایجاد می‌کند و باید ملاحظات لازم را در این مورد در نظر گرفت. سان و همکاران (۴۵) با کاربرد عصاره‌های الکلی و کلروفرمی برگ گردو گزارش کردند که این دو عصاره خاصیت کشندگی روی لاروهای پروانه ابریشم بافناجور و بید کلم داشتند. این محققین، خاصیت حشره‌کشی عصاره‌های مذکور را با غلظت بالای ماده‌ای به نام juglone مرتبط دانستند. کاربرد عصاره متانولی گردو در غلظت‌های مختلف توسط رستمی جیوان و همکاران (۳۸) نیز، حاکی از ایجاد مرگ و میر بیش‌تر این عصاره روی لاروهای سن دوم سوسک کلرادوی سیب‌زمینی بود. دیناری و همکاران (۸) گزارش کردند که کاربرد غلظت ۸۰۰ میکرومولار اسید سالیسیلیک در گیاه گندم موجب کاهش طول عمر حشرات کامل شته روسی گندم و تراکم جمعیت پوره‌های آن شد. خانی و بساوند (۱۸) نشان داد که استفاده از اسانس بذر شوید، سمیت تدخینی بالایی روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات داشت. نتایج بررسی‌های موسوی (۲۹) و ساراریت و اومچرون (۳۹) به ترتیب نشان داد که اسانس شوید خاصیت کشندگی روی مراحل زیستی مختلف سفیدبالک گلخانه و شته جالیز و اثر کنه‌کشی و دورکنندگی روی کنه‌های تارتن *Tetranychus truncatus* Ehara و *T. urticae* Koch داشت. در مطالعه دیگری، محلول‌پاشی گیاه لوبیا با اسید سالیسیلیک با تاثیر بر بقاء و تولیدمثل کنه تارتن دولکه‌ای موجب کاهش تراکم جمعیت این کنه روی گیاه لوبیا گردید (۵). هم‌چنین، تاثیر منفی آفت‌کش اسپیروتترامات روی جمعیت سفیدبالک پنبه در گیاه پنبه و تاثیر ۹۶ درصدی آن روی تخم و پوره‌های سفیدبالک گوجه‌فرنگی در گیاه گوجه‌فرنگی به ترتیب در تحقیقات کومار و همکاران (۲۲) و ون و همکاران (۴۸) اثبات شده است. یافته‌های تحقیق حاضر در زمینه تاثیر منفی هر کدام از عصاره‌های دانه شوید و پوست گردو، اسید سالیسیلیک و آفت‌کش اسپیروتترامات به تنهایی بر جمعیت سفیدبالک گلخانه همسو با نتایج گزارش‌های اخیر مبنی بر اثرات منفی ترکیبات مذکور روی جمعیت

آفات مختلف است.

نتایج بررسی حاضر نشان داد که میزان فنل و فلاونوئید کل گیاه لوبیا تحت تاثیر تیمارهای مورد بررسی بود. میزان فنل کل در تیمار ترکیب اسپیروتترامات با عصاره متانولی دانه شوید و هم‌چنین در تیمارهای عصاره متانولی گردو، ترکیب اسپیروتترامات با عصاره متانولی گردو، اسید سالیسیلیک، عصاره ان‌هگزانی گردو، عصاره متانولی دانه شوید، ترکیب اسپیروتترامات با اسید سالیسیلیک و عصاره ان‌هگزانی دانه شوید بیش‌تر از سایر تیمارها بود. هم‌چنین، میزان بالای فلاونووئید کل در تیمار ترکیب اسپیروتترامات با اسید سالیسیلیک و نیز در تیمار ترکیب اسپیروتترامات با عصاره ان‌هگزانی پوست گردو به دست آمد. منتشلو و همکاران (۲۶) مقدار فنل و فلاونوئید را در عصاره‌های اتانولی، متانولی، کلروفرمی و اتیل‌استاتی پوست تنه و شاخه درخت بید اندازه‌گیری و گزارش کردند که مقدار فنل و فلاونوئید در عصاره اتانولی پوست تنه و شاخه درخت بید بیش‌تر از سایر عصاره‌ها بود. در بررسی انجام شده توسط آشاو همکاران (۳) نیز، عصارهای کلروفرمی، اتیل‌استاتی، اتانولی و متانولی پوست درخت گردو دارای مقادیر متفاوتی از فنل و فلاونوئید بودند. به طوری‌که، در عصاره اتیل‌استاتی مقدار ترکیبات شیمیایی ثانویه مذکور بیش‌تر از سایر تیمارها بود. نتایج دو گزارش اخیر حاکی از تاثیر متفاوت حلال‌های مختلف روی مقدار حلالیت متابولیت‌های ثانویه است. از طرف دیگر، محلول‌پاشی گیاهان با عصاره‌ها ممکن است مقدار ترکیبات شیمیایی گیاه تیمار شده را نیز تحت تاثیر قرار دهد. چنان‌که در بررسی ال‌یازال (۱۰)، محلول‌پاشی گیاه اسفناج با عصاره پروپولیس (بره‌موم) موجب تغییر مقدار برخی ترکیبات شیمیایی مانند کلروفیل a و b، غلظت کاروتنوئیدهای کل، آنتوسیانین، کربوهیدرات‌ها، اسیدآمینه‌های آزاد، پرولین آزاد، فنل کل و مقدار عناصری مانند نیتروژن، پتاسیم و فسفر در گیاه اسفناج شد. در بررسی حاضر، هر چند ترکیبات شیمیایی موجود در ساختار هر عصاره تعیین نشد ولی یافته‌های تحقیق حاضر در زمینه تاثیر نوع عصاره بر مقدار ترکیبات شیمیایی ثانویه گیاه لوبیا حاکی از تحت تاثیر قرار گرفتن مقدار فنل و فلاوونوئید کل گیاهان تیمار شده بود. در بررسی انجام شده توسط تومونارو و همکاران (۴۶)، تیمار گیاه گوجه‌فرنگی با سالیسیلیک اسید موجب افزایش ترکیبات شیمیایی ثانویه مانند مقدار فنل کل گردید. طبق نظر این محققین، اکسیداسیون فنل ترکیبات دفاعی زیادی مانند هیدروژن پراکساید، سوپراکساید و رادیکال‌های آزاد تولید می‌کند که موجب تغییر فیزیولوژی و متابولیسم گیاه و فعال شدن آنزیم‌های دفاعی گیاه شده و به این ترتیب به‌طور مستقیم یا غیر مستقیم باعث مقاومت در برابر تنش‌های مختلف می‌شود. بکر و همکاران (۵) نیز ثابت کردند که تیمار گیاه لوبیا با اسید سالیسیلیک موجب افزایش برخی ترکیبات دفاعی گیاه مانند آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز، فنل و فلاونوئید کل گردید. کاربرد آفت‌کش‌های شیمیایی نیز ممکن است مقدار ترکیبات شیمیایی ثانویه مانند فلاونوئیدها، هیدروکسی‌سینامیک‌اسیدها، آنتوسیانین‌ها، آلکالوئیدها و مواد فرار ترپنوئیدی را تغییر دهد (۱۳). یافته‌های بررسی حاضر نیز نشان داد که کاربرد آفت‌کش اسپیروتترامات به تنهایی و یا در ترکیب با سایر تیمارهای آزمایشی بر مقدار دو ترکیب شیمیایی ثانویه مهم گیاه لوبیا یعنی فنل و فلاونوئید کل موثر بود.

بر اساس گزارش لیشتنستین و همکاران (۲۳)، گیاه شوید دارای چهار ترکیب مهم است که علاوه بر خاصیت حشره‌کشی، باعث تشدید اثر آفت‌کش فسفره و کارباماته می‌شود. این ترکیبات عبارتند از: d-carvone که در بخش‌های هوایی به ویژه در دانه‌ها، myristicin که در بخش هوایی و ریشه، apiol و ایزومر آن dillapiol که فقط در ریشه‌ها است. طبق نظر این محققین، عصاره قسمت‌های هوایی به ویژه بذرها به دلیل غلظت بالای d-carvone خاصیت حشره‌کشی و تشدید اثر بالاتری نسبت به عصاره ریشه دارد. نتایج بررسی حاضر نیز حاکی از آن است که عصاره متانولی بذر شوید نقش موثری در افزایش کارایی آفت‌کش اسپیروتترامات از طریق افزایش ترکیبات دفاعی گیاه به ویژه فنل کل داشت. افزایش کمی یا کیفی مکانیسم دفاعی گیاه در مقابل آفات در واکنش به محرک‌های شیمیایی یا فیزیکی خارجی تحت عنوان مقاومت اکتسابی شناخته می‌شود (۴۴). در نتیجه این مقاومت، ترکیبات شیمیایی دفاعی مختلفی مانند پروتئین‌های ضدتغذیه، فنولیک‌ها، فلاوونوئیدها، پروتئین‌های مهارکننده آنزیمی و غیره در گیاه تولید می‌شود (۱). تداوم مقاومت اکتسابی می‌تواند در کاهش نرخ رشد جمعیت حشرات گیاه‌خوار و تولیدمثل آن‌ها موثر باشد (۲۱). این احتمال وجود دارد که کاهش جمعیت سفیدبالک گلخانه و افزایش ترکیبات دفاعی گیاه لوبیا در گیاهان محلول‌پاشی شده با ترکیب اسپیروتترامات و عصاره متانولی شوید ناشی از القاء مقاومت در گیاه لوبیا باشد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تراکم جمعیت سفیدبالک گلخانه در تیمار اسپیروتترامات به تنهایی کم‌تر از سایر تیمارها بود اما اختلاف معنی‌داری نیز با تیمارهای تلفیقی و تیمار عصاره متانولی پوست گردو نداشت. همچنین همه تیمارهای مورد مطالعه در مقایسه با شاهد روی تراکم جمعیت سفیدبالک گلخانه و افزایش مقدار فنل کل گیاه لوبیا نقش داشت. مصرف آفت‌کش‌ها به تنهایی ممکن است پیامدهای مضری مانند بروز سریع مقاومت در آفات را به همراه داشته باشد که همین عامل دلیل موجهی برای مصرف ترکیبات آلی به ویژه عصاره متانولی پوست گردو می‌باشد. با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه و کم خطر بودن ترکیبات آلی در کنترل تلفیقی آفات بر موجودات غیرهدف، استفاده از این ترکیبات برای کنترل سفیدبالک گلخانه قابل توصیه است. هم‌چنین، با توجه به دامنه وسیع این ترکیبات پیشنهاد می‌شود تا در خصوص تلفات ایجاد شده روی جمعیت آفت، تاثیر احتمالی بر ویژگی‌های زیستی و تولیدمثلی آفت و تاثیر روی سایر

ترکیبات ثانویه گیاه پژوهش‌های بیش‌تری صورت بگیرد.

سپاسگزاری

این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه شهید باهنر کرمان انجام شد که بدین وسیله قدردانی می‌شود.

منابع

1. Agrawal A.A., and Karban R. 1999. Why induced defenses may be favored over constitutive strategies in plants. In: Tollrian, R. and Harvell, C.D. (eds) The ecology and evolution of inducible defenses. Princeton University press, Princeton, NJ., pp. 45-61.
2. Al-Hakimi A.N. 2008. Effect of salicylic acid on biochemical changes in wheat plants under khat leaves residue. Plant Soil and Environment 54: 288-293.
3. Asha K., Sucheta G., Kavita M., Nirmala D., and Jyoti S. 2010. Quantification of phenolics and flavonoids by spectrophotometer from Juglans regia. International Journal of Pharma and Bio Sciences 3: 1-4.
4. Babri R.A., Khokhar I., Mahmood Z. and Mahmud S. 2012. Chemical composition and insecticidal activity of the essential oil of *Anethum graveolens* L. Science International (Lahore) 24: 453-455.
5. Bakr A.A., Rezk H.A., Saleh S.M., and El-Morshedy N.H. 2020. Significance of foliar sprayed salicylic acid in kidney bean resistance against *Tetranychus urticae* (Trombidiformes: Tetranychidae) attack. Persian Journal of Acarology 9: 193-205.
6. Buttery R.G., Flath R.A., Mon T.R., and Ling L.C. 1986. Identification of Germacrene D in walnut husk and fig leaf volatiles. Journal of Agricultural and Food Chemistry 34: 820-822.
7. De Vis R.M., and Van Lenteren C. 2008. Biological control of *Trialeurodes vaporariorum* by *Encarsia formosa* on tomato in unheated greenhouse in the high altitude tropics. Bulletin of Insectology 61: 43-57.
8. Dinari A., Dolati L., Nematollahi M.R., Froutan S., and Food C. 2016. The effect of different concentrations of salicylic acid in inducing wheat resistance against Russian wheat aphid. The first electronic conference on new findings in the environment and agricultural ecosystems. Research Institute for New Energy and Environment, University of Tehran, Iran. (In Persian with English abstract)
9. Elhamahmy M.A.M., Mahmoud M.F., and Bayoumi T.Y. 2016. The effect of applying exogenous salicylic acid on aphid infection and its influence on histo-physiological traits and thermal imaging of canola. Cercetări Agronomice în Moldova XLIX: 67-85.
10. El-Yazal M.A.S. 2019. Impact of propolis extract as foliar spray on growth, yield and some chemical composition of spinach (*Spinacia oleracea* L.) plants grown under calcareous saline soil. International Journal for Empirical Education and Research DOI: 10.35935/edr/32.141
11. Fernandez-Agullo A., Pereira E., Freire M.S., Valentao P., and Andrade P.B., González-Álvarez J., and Pereira J.A. 2013. Influence of solvent on the antioxidant and antimicrobial properties of walnut (*Juglans regia* L.) green husk extracts. Industrial Crops and Products 42: 126-132.
12. Ghahari H., and Hatami B. 2000. Morphological and biological study of greenhouse whitefly. Journal of Agricultural Science and Technology and Natural Resources 4: 141-154**.**
13. Hancianu M., and Aprotosoaie A.C. 2012. The effects of pesticides on plant secondary metabolites. Biotechnological Production of Plant Secondary Metabolites. Pp. 176-186 (11). DOI: 10.2174/978160805114411201010176
14. Hayat Q., Hayat S., Alyemeni M., and Ahmad A. 2012. Salicylic acid mediated changes in growth, photosynthesis, nitrogen metabolism and antioxidant defense system in *Cicer arietinum* L. Plant Soil and Environment 58: 417-423.
15. Huopalahti R., Lahtinen R., Hiltunen R., and Laakso I. 1988. Studies on the essential oils of dill seed herb, *Anethum graveolens* L. Flavour and Fragrance Journal 3: 121- 125.
16. Jones D.F. 2003. Plant viruses transmitted by whiteflies. European Journal of Plant Pathology 109: 195-219.
17. Kannaiyan S. 2002. Insect pest management strategies: current trends and future prospectus. In: Ignacimuthu S. and S. Jeyaraj (eds) Strategies in integrated pest management. Phoenix Publishing House, New Delhi, India, pp. 1-13.
18. Khani A., and Basavand F. 2013. Chemical composition and insecticide activity of essential oil from dill seed seeds. International Journal of Agriculture: Research and Review 3: 489-494.
19. Khanjani M. 2005. Vegetable pests in Iran. Abu Ali Sina University Press, Hamedan, Iran, 467 p**.** (In Persian with English abstract)
20. Khavari-nejad R., and Asadi A. 2006. The effect of salicylic acid on some of the secondary metabolites (saponins and anthocynins) and induction of antimicrobial resistance in the medicinal plant *Bellis perenn*is L. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research 21: 553-586. (In Persian with English abstract)
21. Kogan M., and Paxton J. 1983. Natural inducers of plant resistance to insects. In: Hedin, P.A. (ed) Plant resistance

to insects. American Chemical Society, Washington D.C., pp. 153-170.
22. Kumar B.V., Kuttalam S., and Chandrasekaran S. 2009. Efficacy of a new insecticide spirotetramat against cotton whitefly. Pesticide Research Journal 21: 45-48.
23. Lichtenstein, E.P., Liang T.T., Schulz K.R., and Schnoes H.K. 2002. Insecticidal and synergistic components isolated from dill seed plants. Journal of Agricultural and Food Chemistry 22: 658-64.
24. Mahram G., Kadry H., Thabet C., Olem N., Azizi M., Shiff J., Wong L., and Liv N. 1992**.** GC/MS analysis of volatile oil of fruits of *Anethun graveolens* L. International Journal of Pharmacognoy 30: 139-144.
25. Majnoon Hosseini N. 1989. Cereals in Iran. University Jihad Publications, University of Tabriz, 240 p**.** (In Persian with English abstract)
26. Mantashloo J., Deljoo A., and Aging S.T. 2017. Evaluation of phenols and flavonoids and antioxidant activity of ethanolic, methanolic, chloroform and ethyl acetate extracts of willow bark and willow branches (*Salix alba* L.). Journal of Cellular and Molecular Research 30: 295-303**.** (In Persian with English abstract)
27. Miliauskas G., Venskutonis P.R., and Van Beek T.A. 2004. Screening of radical scavenging activity of some medicinal plants and aromatic plant extract. Food Chemistry 85: 231-237.
28. Morkunas I., and Gabrys B. 2011. Phytohormonal signaling in plant responses to aphid feeding. Acta Physiologiae Plantarum 33: 2057–2073.
29. Mousavi M. 2014. Insecticidal effect of Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) and dill seed (*Anethum graveolens* L.) essential oils on different biological stages of *Trialeurodes vaporariorum* Westwood and *Aphis gossypii* Glover invitro. Master Thesis in Entomology, Faculty of Agriculture, Urmia University, Urmia, Iran. (In Persian with English abstract)
30. Nauen R., Bretschneider T., Elbert A., Fischer R., Reckmann U., and Waetermeulen X.V. 2006. Biological and mechanistic considerations on the mode of action of spirotetramat 11 IUPAC Int. Congress of Pesticide Chemistry, Kobe, Japan. Book of Abstracts (2), II-1-i-21C, p.109th.
31. Nauen R., Reckmann U., Thomzik J., and Thielert W. 2008. Biological profile of spirotetramat (Movento)—a new two ways systemic (amimobile) insecticide against sucking pests. Bayer Crop Science Journal 61: 245-277.
32. Oliveira I., Sousa A., Ferreira C.F.R., Bento A., Estevinho L., Alberto Pereira J. 2008. Total phenols, antioxidant potential and antimicrobial activity of walnut (*Juglans regia* L.) green husks. Food and Chemical Toxicology 46: 2326–2331.
33. Pappas M.L., Migkou F., and Broufas G. 2013. Incidence of resistance to neonicotinoid insecticides in greenhouse populations of the whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) from Greece. Applied Entomology and Zoology 48: 378. DOI: 10.1007/s13355-013-0197-z
34. Pirasteh-Anosheh H., Emam Y., Ashraf M., and Foolad M.R. 2012. Exogenous application of salicylic acid and chlormequat chloride alleviates negative effects of drought stress in wheat. Advanced Study in Biology 11: 501-520.
35. Pourmorad F., Hosseinimehr S.J., and Shahabimajd N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. African Journal of Biotechnology 5: 1142-1145.
36. Rafiei Karhroudi Z., Moharramipour S., Farazmand H., and Karimzadeh Isfahani J. 2010. Repellent and respiratory toxicity of 18 plant essential oils on the Indian *Plodia interpunctella* Hubner (Lep., Pyralidae). Plant Protection 24: 165-172. (In Persian with English abstract)
37. Rezaei Chianeh A., Valizadegan A., Tajbakhsh M., Dabbagh Mohammadi Nasab A., and Rimaz V. 2014. Study of crop yield and insect diversity in different cultivation patterns of bean and dill seed. Journal of Crops Improvement 16: 353-368. (In Persian with English abstract)
38. Rostami Jiwan N., Hejazi M.J., and Karimzadeh R. 2018. The effect of extracts of five plant species on second instar larvae of potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae)**.** Applied Research in Plant Protection 6: 87-99. (In Persian with English abstract)
39. Sararit P., and Auamcharoen W. 2020. Biological activities of essential oils from *Anethum graveolens* L. and *Allium sativum* L. for controlling *Tetranychus truncatus* Ehara and *Tetranychus urticae* Koch. Journal of Biopesticides 13: 1-12.
40. Seddigh S., and Kiani L. 2012. Whitefly *Traleurodes vaporariorum* (Westwood) control by *Encarsia Formosa* Gahan and its color preference in commercial Gerbera greenhouse in Iran. Annals of Biological Research 3: 2414-2418.
41. Senaranta T., Teuchela D., Bumm, E., and Dixon K. 2002. Acetyle salycilic acid (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. Journal of Plant Growth Regulation 30: 157-161.
42. Sharafati-Chaleshtori R., Sharafati-Chaleshtori F., Rafieian-kopaei M., Drees F., and Ashrafi K. 2010. Comparison of the antibacterial effect of ethanolic walnut (*Juglans regia*) leaf extract with chlorhexidine mouth rinse on *Streptococcus mutans* and *sanguinis*. Journal of Islamic Dental Association of Iran (JIDAI) 22: 211-17. (In Persian with English abstract)
43. Shishebor P. 2003. Whitefly (Biology, situation of pest and their management) by Geering Den .1988. Chamran University Press Center, Ahvaz Iran, p. 500-626. (In Persian with English abstract)

44. Smith C.M. 1989. Plant resistance to insects: a fundamental approach. John Wiley and Sons. New York.
45. Sun M.L., Song Z.Q., and Fang G.Z. 2007. Insecticidal activity and active components of alcohol extract from *Juglans mandshurica* Maxim leaves. Ying Yong Sheng Tai Xue Bao 18: 2910–4.
46. Tommonaro G., De prisco R., Abbamondi G.R., Marzocco S., Saturnino C., Poli A., and Nicolaus B. 2012. Evaluation of antioxidant properties, total phenolic content, and biological activities of new tomato hybrids of industrial interest. Journal of Medicinal Food 15: 483-489.
47. Toscano N.C., and Prabhaker N. 2011. Spiromesifen: a new pest management tool for whitefly management. Available at http://www.insectscience.org /8.04/ref/ abstract 78.html.
48. Wen X., Wu Q.J., Xu B.Y., Shao-Li W., and Zhang Y.u. 2011. Evaluation of the effect of spirotetramat on controling *Bemisia tabaci*. China Vegetabeles 31: 69-73.
49. Yazdani Motlagh A. 2019. Agronomic and physiological responses of pinto bean to drought stress with the application of nano selenium. Master Thesis in Agronomy, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil. Iran. (In Persian with English abstract)

Journal of Iranian Plant Protection Research
Vol. 35, No. 4, Winter 2022, P. 469-480

نشریه پژوهش‌های حفاظت گیاهان ایران (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۵، شماره ۴، زمستان ۱۴۰۰، ص. ۴۸۰-۴۶۹

Effect of Different Organic and Chemical Compounds on Population Density of *Trialeurodes vaporariorum* Westwood and Some Secondary Metabolites of Bean Plant

M. Karamoozian[1]- M. Pahlavan Yali[2*]- K. Ahmadi[3]

Received: 13-02-2021
Accepted: 19-07-2021

Introduction: Greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Hemiptera: Aleyrodidae), is a serious pest of a wide range of plants, such as common bean, cucumber, tomato, pepper, lettuce, etc, in both field and greenhouse production. It typically feeds on the underside of leaves, sucking phloem sap from the plant, which causes both direct damage, by overall weakening the plant and reducing yield, and indirect damage, by excreting honeydew, on which sooty mold grows, as well as transmission of several plant viruses. The widespread use of insecticides to control *T. vaporariorum* has resulted in developing resistance to the insecticides and affected human's health and safety. The utilization of plant extract and elicitors is an environmentally safe method that is used in the control recently. Therefore, alternative control strategies are required to minimize the harmful effects of insecticides. In order to control this pest, environmentally friendly methods, especially of plant origin are recently considered by researchers. For this regard, the effect of some organic compounds including methanolic and n-hexanic extract of walnut's husk or dill's seeds and salicylic acid, individually and in combination with spirotetramat on population density of greenhouse whitefly's nymphs and some secondary compounds of bean plant were investigated.

Materials and Methods: Seeds of common bean, *Phaseolus vulgaris* L. (Berloty cultivar) were sown and grown in 15-cm-plastic pots in a greenhouse at 25 ± 3°C, 50 ± 10% RH, and a natural photoperiod. For the experiments, potted bean plants at 6-8 leaf stage, highly infested with *T. vaporariorum* nymphs, were sprayed with 12 different treatments, including: (1) spirotetramat (SP), (2) methanolic extract of walnut husk (MW), (3) n-hexanic extract of walnut husk (NW), (4) methanolic extract of dill seed (MD), (5) n-hexanic extract of dill seed (ND, (6) salicylic acid (SA), (7) spirotetramat in combination with salicylic acid (SP+SA), (8) spirotetramat in combination with methanolic extract of dill seed (SP+MD), (9) spirotetramat in combination with methanolic extract of walnut husk (SP+MW), (10) spirotetramat in combination with n-hexanic extract of dill seed (SP+ND), (11) spirotetramat in combination with n-hexanic extract of walnut husk (SP+NW), and (12) water as a control (CO). After five days, the population density of *T. vaporariorum* nymphs on bean plants leaves was recorded. Furthermore, the effects of tested treatments on the total phenol and flavonoid contents of bean plants were evaluated. For this reason, dried leaves (5 g) from each treatment were used for the preparation of extracts. The total phenolic of the extracts were determined using the Folin - Ciocalteu reagent. Sample and standard readings were made using a spectrophotometer (Lambda 45-UV/Visible) at 765 nm against the reagent blank. Furthermore, the aluminum chloride colorimetric method was used for determination of the total flavonoid content of treatments. For total flavonoid determination, quercetin was used to make the standard calibration curve. The absorbance was read using a spectrophotometer (Lambda 45-UV/Visible) in the wavelengths of 415 nm. Data were analyzed by one-way ANOVA using SPSS 23.0 software. Comparison of means for nymph density using SNK (Student-Newman-Keuls) multi-range test and comparison of means for secondary chemical compositions using Tukey's test at probability level five Percentage occurred.

Results and Discussion: Results showed that the population density of greenhouse whitefly and the secondary metabolites of plant were significantly affected by the tested treatments. The lowest number of whitefly's nymphs was on spirotetramat and spirotetramat in combination with methanolic extract of dill seed and the highest number was on control. Total phenolic contents ranged from 58.96 to 114.07 mg g^{-1} dry weight on different treatments, which the highest and lowest amount of it was obtained in spirotetramat in combination with methanolic extract of dill seed and spirotetramat in combination with n-hexanic extract of walnut husk, respectively. The highest amount of total flavonoid content of bean plants was in spirotetramat in combination with salicylic acid. The results of the present study showed that the density of greenhouse whitefly population in spirotetramate treatment was lower than other treatments but there was no significant difference with the

1, 2 and 3- M.Sc. Student, Associate Professor and Assistant Professor in Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: pahlavanm@uk.ac.ir)
DOI: 10.22067/JPP.2021.68750.1009

combined treatments and methanolic extract of walnut husk. Also, all the treatments compared to the control significantly changed the population density of this pest and increased the amount of total phenolic compound in bean plant. Therefore, these compounds, especially the methanolic extract of walnut husk, can be used in integrated management programs of this pest.

Conclusion: This research could provide valuable information for control of *T. vaporariorum* in other plants like ornamental plants in the field and greenhouse and thus can be useful for the production of healthy and organic crops. So it can be used in the IPM programs of this pest.

Keywords: Salicylic acid, Plant extract, Total flavonoid, Total phenol, Whitefly