



بررسی اثر حشره‌کشی عصاره دانه زیتون تلخ و پوست لیموترش روی شته مومی کلم (*Brevicoryne brassicae* L.) و شته سبز گندم (*Schizaphis graminum* Rondani)

مریم پهلوان یلی^{1*} - محسن محمدی انایی²

تاریخ دریافت: 1395/07/10

تاریخ پذیرش: 1396/06/29

چکیده

شته مومی کلم (*Brevicoryne brassicae*) و شته سبز گندم (*Schizaphis graminum*) به ترتیب از آفات مهم کلزا و گندم می‌باشند که بصورت قابل توجهی زراعت این محصولات را از طریق تغذیه بصورت مستقیم و انتقال عوامل بیماری‌زای ویروسی بصورت غیر مستقیم کاهش می‌دهند. پیدایش مقاومت به سموم شیمیایی و اثرات حاد و مزمن ناشی از کاربرد آن‌ها باعث استفاده از ترکیبات ثانویه گیاهی بصورت عصاره و اسانس به منظور کنترل آفات شده است. از جمله این ترکیب‌ها می‌توان به عصاره میوه زیتون تلخ و پوست لیموترش اشاره کرد. در این تحقیق اثر دو عصاره اتانولی مذکور در سه غلظت متفاوت (10، 50 و 80 میکروگرم بر میلی‌لیتر) روی درصد تلفات شته مومی کلم و شته سبز گندم مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد کاربرد عصاره اتانولی میوه زیتون تلخ در غلظت 80 میکروگرم بر میلی‌لیتر پس از 36 ساعت باعث 100 درصد مرگ و میر روی شته‌ها می‌شود که در مقایسه با عصاره پوست لیموترش به طور معنی‌داری بیشتر بود. همچنین در این مطالعه، مقدار فنل کل در عصاره میوه زیتون تلخ (2/74 میلی‌گرم بر گرم وزن تر) نسبت به عصاره پوست لیموترش (1/79 میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بیشتر بوده است که می‌تواند با اثر کشندگی بالاتر زیتون تلخ روی این شته‌ها در ارتباط باشد. نتایج این تحقیق می‌تواند در کنترل شته‌های مذکور برای تولید محصولات سالم و ارگانیک مفید باشد.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات ثانویه گیاهی، غلظت، فنل

مقدمه

(Hemiptera: Aphididae)، یکی از آفات مهم گندمیان در جهان می‌باشد (8 و 9). این شته به گندم، سورگوم، جو، یولاف و چاودار خسارت می‌زند و روی بیش از 70 گونه گیاهی خانواده Poaceae گزارش شده است (35). در ضمن، این آفت ناقل ویروس کوتولگی زرد جو (36) و موزائیک کوتولگی ذرت (38) به گیاه می‌باشد. علاوه بر وجود بذر مناسب، خاک حاصلخیز و آبیاری مطلوب، روش مناسب حفاظت از گیاه هم برای تولید حداکثر محصول، لازم است. علی‌رغم توسعه حشره‌کش‌های مدرن امروزی باز هم خسارات سنگینی به محصولات زراعی و انباری وارد می‌شود (26). یکی از اصول بسیار مهم در کشاورزی که تأثیر قابل توجهی روی افزایش تولید در واحد سطح دارد، آن است که محصول در مراحل مختلف تولید، از گزند عوامل نامساعد و زیان‌آور حفظ شود (25). همواره بخشی از تولیدات کشاورزی در اثر حمله این نوع عوامل از لحاظ کمی و کیفی آسیب می‌بیند و در برخی موارد کل محصول از بین می‌رود (26).

به‌منظور دست یافتن به یک نتیجه مطلوب در کنترل آفات

شته مومی کلم، (*Brevicoryne brassicae* L. (Hemiptera: Aphididae)، یکی از آفات جدی کلزا در جهان است که اثرات مخربی روی کلزا و سایر گیاهان تیره Brassicaceae طی 70 سال اخیر داشته و در این مزارع آفت کلیدی محسوب می‌شود (6، 19، 20 و 46). شته مذکور با ایجاد کلنی‌های بزرگ روی برگ‌ها، ساقه‌ها و جوانه‌های کلزا باعث پیچش برگ‌ها و خسارت سنگین به محصول می‌شود. در گیاهان مبتلای رشد گیاه کاهش یافته؛ عملکرد محصول بین 9 تا 77 درصد و میزان روغن محصول در حدود 11 درصد کاهش می‌یابد (29).

شته سبز گندم، *Schizaphis graminum* Rondani

1 و 2- استادیار و کارشناسی ارشد حشره شناسی کشاورزی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

* - نویسنده مسئول: (Email: mrmpahlavan@gmail.com)

DOI: 10.22067/jpp.v31i3.58927

کشورهای چین و هندوستان پرورش یافته و در ایران ارقام مختلفی در شمال و جنوب کشور کاشته می‌شود (54). عصاره‌های پوست و بذر گونه‌های مرکبات حاوی متابولیت‌های ثانویه هستند که قابلیت حشره کشی آن روی گونه‌های متعدد حشرات گزارش شده است. لیمونوئیدهای موجود در اسانس مرکبات بهتر از برخی ترکیبات شیمیایی به عنوان ضد تغذیه و ممانعت کننده از تعویض جلد در بسیاری از گونه‌های بال پولکداران عمل می‌کنند (31 و 44). به‌طور کلی، ترکیبات فنلی به خاطر نقش بالقوه‌شان در حفاظت مقابل اشعه ماورای بنفش، فعالیت‌شان به‌عنوان جلب کننده و عوامل دفاعی در برابر پاتوژن‌ها و شکارگرها بیشتر در بافت‌های پوستی اندام‌های گیاهی تجمع می‌یابند (2).

نظر به اینکه ترکیبات ثانویه موجود در گیاهان آزمایشی (میوه زیتون تلخ و پوست لیموترش) بعنوان عوامل مقاومت آنتی‌بیوتیک تأثیرات مختلفی از جمله مرگ و میر را بدنبال دارد، لذا هدف از این تحقیق بررسی و ارزیابی میزان سمیت عصاره این ترکیبات در دوزها و زمان‌های مختلف روی شته مومی کلم، *B. brassicae* و شته سبز گندم، *S. graminum*، و همچنین سنجش میزان فنل کل این عصاره‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها

پرورش حشرات

الف- شته مومی کلم (*B. brassicae*)

شته مومی کلم از آزمایشگاه گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه تحصیلات تکمیلی کرمان (هایتک) تهیه و در شرایط اتاق رشد (دمای $25 \pm 1^\circ C$ ، رطوبت نسبی 5 ± 5 درصد و دوره نوری 8:16 روشنایی و تاریکی) روی بوته‌های کلزا (*Brassica napus* L.) رقم Hyola401 در قفسی به ابعاد (6×30 سانتی متر) قرار داده و پرورش داده شد.

ب- شته سبز گندم (*S. graminum*)

شته سبز گندم از مزارع گندم دانشگاه شهید باهنر کرمان تهیه و پس از شناسایی گونه توسط متخصص، روی بوته‌های گندم (*Triticum aestivum* L.) رقم پیشناز در قفسی به ابعاد (6×30 سانتی متر) پرورش داده شد.

برای هم‌سن کردن پوره‌های هر دو شته، تعدادی از حشرات بالغ بی بال روی گیاهان فاقد آلودگی به شته انتقال و به آن‌ها اجازه داده شد به مدت 24 ساعت پوره‌زایی داشته باشند. پس از مدت زمان مذکور حشرات بالغ حذف و پوره‌ها رشد و نمو خود را سپری کرده تا به پوره‌های سه تا چهار روزه تبدیل شدند.

محصولات اقتصادی مانند گندم و کلزا می‌توان با استفاده از ترکیبات جایگزین مناسب، کاربرد بی‌رویه سموم شیمیایی که دارای اثرات مخرب حاد و مزمن روی انسان و محیط زیست است را کاهش داد (17، 47 و 55). استفاده از ترکیبات گیاهی جهت کنترل آفات از زمان‌های قدیم متداول بوده است (15، 32، 39 و 44). در قسمت‌های مختلف کشور ما گونه‌های متفاوتی از گیاهان با خواص حشره‌کشی مختلف وجود دارد که با بررسی اثر آن‌ها روی آفات و شناسایی ترکیبات ثانوی موجود در آن‌ها می‌توان از این ترکیبات جهت کنترل آفات استفاده نمود. گیاه زیتون تلخ، *Melia azedarach* Linnaeus (Meliaceae: Sapindales)، بومی هیمالیا بوده و در ایران در جنگل‌های ساحلی دریای خزر و نواحی مرکزی انتشار دارد (24). مطالعات انجام شده بر روی مواد فعال این گیاه نشان داد که مواد شیمیایی متعددی از گروه لیمونوئیدها (تترانوتری‌تریپینوئیدها) در این گیاه وجود دارد که دارای خواص حشره‌کشی، ضد تغذیه‌ای، کاهش باروری، به تعویق انداختن رشد و اختلال در پوست‌اندازی هستند (10، 13، 21، 23، 28 و 48). تاکنون نتایج خوبی از نحوه کنترل آفات با ترکیبات گیاهی حاصل شده است (12). اثر دورکنندگی عصاره‌های آبی و متانولی زیتون تلخ روی سفید بالک پنبه، *Bemisia tabaci* Gennadius، توسط ابو فخر حمد و همکاران (1) گزارش شد. اختر و ایسمان (4) که از پیشگامان کاربرد نوین ترکیبات گیاهی در کنترل آفات گیاهی هستند مطالعاتی راجع به مهارکنندگی رشد و اثر ضدتغذیه‌ای و دو عصاره گیاهی *Melia volkensii* Guerke و *Origanum vulgare* Linnaeus و تعدادی آلوکمیکال روی چند آفت گیاه‌خوار مهم، از جمله بید کلم ارایه دادند. همچنین تحقیقات نشان داد عصاره *M. azedarach* روی لارو، شفیره و حشره کامل (*Plutella xylostella* (L.) باعث بدشکلی، مرگ و میر و کاهش تخم‌ریزی شد (16). تحقیقات گسترده‌ای در مورد فعالیت ضد تغذیه‌ای، دورکنندگی و تنظیم‌کنندگی رشد گیاهان خانواده Meliaceae در کشورهایی نظیر آمریکا، استرالیا و هندوستان به اثبات رسیده است (11، 48 و 49). زمانی و همکاران (53) اثر حشره‌کشی روغن دانه زیتون تلخ را روی سه گونه شته سبز هلو، شته سیاه باقلا و شته جالیز و همچنین شپشه آرد مورد تحقیق و پژوهش قرار دادند که نتایج حاکی از تأثیر معنی‌دار و قابل توجه عصاره مذکور روی شته‌ها در مقایسه با آفت انباری بوده است. همچنین نتایج تحقیق اثر حشره کشی پنج عصاره اتانولی زیتون تلخ، اسفند، ارغوان، همیشه بهار و آنغوزه با غلظت 30 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر بر روی تریپس پیاز نشان از کاربرد مؤثرتر عصاره زیتون تلخ در مقایسه با سایرین جهت کنترل تریپس پیاز و حفظ جمعیت دشمن طبیعی آن، *Orius horvathi* (Reuter)، داشت (37).

لیموترش با نام علمی (*Rutaceae: Sapindales*) *Risso* *Citrus limonum* دارای روغن فرار می‌باشد. این گیاه اولین بار در

جمع‌آوری گیاهان و استخراج عصاره

میوه گیاه زیتون تلخ از منطقه ماهان استان کرمان و پوست لیموترش از شمال کشور (تنکابن) تهیه و در سایه خشک شدند. سپس توسط آسیاب برقی به مدت 5 دقیقه پودر شدند. عصاره‌گیری به روش تقطیر ساده انجام شد. 150 گرم از پودر حاصله از هر گیاه در یک ارلن شیشه‌ای با 500 میلی‌لیتر اتانول 90 درصد مخلوط شد. در ارلن شیشه‌ای را با پارافیلیم بسته و بعد از 5 دقیقه هم زدن، محتویات موجود در ارلن به مدت 24 ساعت در یخچال داخل یک فویل آلومینیومی نگهداری شد تا از تابش نور به آن‌ها جلوگیری شود. بعد از گذشت زمان مورد نظر عصاره گیاهی توسط کاغذ صافی از باقی مانده گیاهی جدا و پس از سپری شدن چندین ساعت زیر هود آزمایشگاه، عمل تبخیر شدن حلال صورت گرفت و عصاره خشک و خالص گیاهی فراهم شد. عصاره جامد برای مدت زمان کوتاهی در دمای 4 درجه سلسیوس در یخچال نگهداری و برای انجام هر آزمایش، عصاره حاصل با آب مقطر رقیق و غلظت‌های 10، 50 و 80 میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه شد (43).

اندازه‌گیری میزان فنل کل عصاره زیتون تلخ

مقدار فنل کل در نمونه‌های عصاره گیاهی توسط روش فولین سیکالتو با اندکی تغییر مطابق روش رحمانی و همکاران اندازه‌گیری شد (41). ابتدا 0/2 گرم از عصاره اتانولی با 2/5 میلی‌لیتر معرف فولین سیکالتو (10 برابر با آب رقیق شده)، مخلوط گردید. سپس 2 میلی‌لیتر کربنات سدیم 7/5 درصد به آن اضافه و ورتکس گردید. محلول حاصل به مدت 1/5 ساعت در تاریکی و در دمای اتاق (20 درجه سانتی‌گراد) نگهداری شد.

اندازه‌گیری میزان فنل کل عصاره پوست لیموترش

فنل کل با روش فولین سیکالتو با اندکی تغییر اندازه‌گیری شد (3) و 0/2 گرم از عصاره با 3 میلی‌لیتر اتانول 90 درصد، روی شیکر به مدت 10 دقیقه هم‌زده شد. سپس 2 میلی‌لیتر از محلول رویی را برداشته و 0/5 میلی‌لیتر معرف فولین سیکالتو 10 درصد به آن اضافه شد. پس از گذشت 5 دقیقه 1 میلی‌لیتر کربنات سدیم 7 درصد افزوده و محلول حاصل به مدت 1/5 ساعت در تاریکی نگهداری شد. بعد از این مدت جهت تهیه منحنی استاندارد، هر دو عصاره در غلظت‌های 0/5، 1، 2، 4، 6، 8 و 10 میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تهیه گردید، سپس میزان جذب محلول با طول موج 760 نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل SPUV-26 ساخت آلمان خوانده شد و برحسب میلی‌گرم در گرم وزن تر معادل اسیدگالیک بیان شد.

آزمایش زیست‌سنجی

سمیت تماسی

به منظور بررسی سمیت تماسی عصاره اتانولی میوه زیتون تلخ و پوست لیموترش بر روی پوره‌های سه تا چهار روزه شته سبز گندم و شته مومی کلم، قطعاتی هم‌اندازه از برگ‌های گیاهان کلزا و گندم با استفاده از سمپلر به غلظت‌های مختلف عصاره (10، 50 و 80 میکروگرم بر میلی‌لیتر) آغشته و پس از خشک شدن، در سطح ژل آگار 0/7 درصد داخل پتری‌دیش‌هایی به قطر 5 سانتی‌متر در شرایط آزمایشگاهی قرار گرفت. سپس 20 عدد پوره‌های هم‌سن به پتری‌دیش‌ها انتقال یافتند. در تیمار شاهد از آب استفاده شد. تعداد پوره‌های شته مرده پس از 12، 24 و 36 ساعت شمارش و ثبت گردید. ملاک تشخیص حشرات تلف شده این بود که اگر پاها و شاخک‌ها به وسیله قلم مو تحریک می‌شد، هیچ عکس‌العملی دیده نشود. کلیه آزمایشات در ژرمیناتور با شرایط دمایی 25 ± 1 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 5 ± 65 درصد و 16 ساعت روشنایی و 8 ساعت تاریکی انجام شد.

تجزیه تحلیل آماری

آزمایش‌های زیست‌سنجی در قالب طرح کاملاً تصادفی و در 4 تکرار همراه با شاهد انجام شد. داده‌های مربوط به درصد کشندگی دو عصاره گیاهی با استفاده از نرم افزار SPSS v22 بر مبنای آزمون T مقایسه شدند. همچنین برای مقایسه اثر غلظت‌های مختلف، تجزیه واریانس یک‌طرفه با استفاده از نرم افزار SPSS v22 انجام شد و در صورت معنی‌دار بودن، داده‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح پنج درصد مقایسه میانگین شدند.

تجزیه و تحلیل نتایج مربوط به اندازه‌گیری فنل کل در قالب طرح کاملاً تصادفی در 10 تکرار بوسیله نرم افزار SPSS v22 صورت گرفت. همچنین مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی در سطح پنج درصد و رسم نمودار با استفاده از نرم افزار Excel 2010 انجام شد.

نتایج

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین درصد حشره‌کشی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی میوه زیتون تلخ و پوست لیمو ترش روی پوره‌های شته مومی کلم و شته سبز گندم در جداول 1 تا 3 نشان داده شده است.

درصد کشندگی عصاره اتانولی میوه زیتون تلخ و پوست لیموترش در غلظت 10 میکروگرم بر میلی‌لیتر روی پوره‌های شته مومی کلم، اختلاف معنی‌داری در هیچ‌کدام از دوره‌های زمانی مورد مطالعه، نشان ندادند. اما عصاره میوه زیتون تلخ در غلظت 50 و 80 میکروگرم بر

ساعت به ترتیب در غلظت‌های 80 و 10 میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد (جدول 3). بر اساس نتایج حاصل، عصاره پوست لیموترش در غلظت 80 میکروگرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با غلظت 10 و 50 میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌طور معنی‌دار درصد تلفات بیشتری روی پوره‌های شته مومی کلم پس از 12 و 24 ساعت نشان داد. بیشترین و کمترین درصد کشندگی این عصاره گیاهی روی شته مومی کلم پس از 36 ساعت به ترتیب در غلظت‌های 80 و 10 میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌دست آمد (جدول 3).

میلی‌لیتر درصد تلفات بیشتری در مقایسه با پوست لیموترش در این غلظت‌ها پس از 12 و 24 ساعت نشان داد. این اختلاف بین دو عصاره پس از 36 ساعت، در غلظت 80 میکروگرم بر میلی‌لیتر نیز مشهود بود (جدول 3). درضمن، عصاره میوه زیتون تلخ در غلظت 80 و 50 میکروگرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با غلظت 10 میکروگرم بر میلی‌لیتر به‌طور معنی‌داری درصد تلفات بیشتری روی پوره‌های شته مومی کلم پس از 12 ساعت نشان داد. همچنین بیشترین و کمترین درصد کشندگی عصاره میوه زیتون تلخ روی این شته پس از 24 و 36

جدول 1- تجزیه واریانس درصد مرگ و میر شته مومی کلم در اثر کاربرد دو تیمار گیاهی

Table 1- Analysis of variances of the cabbage aphid mortality rate by using herbal treatments

دوز عصاره گیاهی Herbal extract dosage (µg/ml)	12h			24h			36h		
	P	df	F	P	df	F	P	df	F
10	0.148	4	2.68	0.279	4	2.67	0.118	4	2.48
50	0.148	4	7.60	0.034	4	4.30	0.074	4	2.73
80	0.609	4	6.05	0.311	4	4.24	0.016	4	7.13

جدول 2- تجزیه واریانس درصد کشندگی تیمارهای مختلف، روی شته مومی کلم بین سه غلظت مختلف (10، 50 و 80 میکروگرم بر میلی‌لیتر)

Table 2- Analysis of variances of different treatments on mortality percentage of *Brevicoryn brassicae* among 3 different concentrations (10, 50 and 80 µg/ml)

عصاره گیاهی Plant extract	12h			24h			36h		
	P	df	F	P	df	F	P	df	F
<i>Melia azadirach</i>	0.002	2,6	21.00	0.022	2,6	7.75	0.001	2,6	31.95
<i>Citrus limonum</i>	0.009	2,6	11.40	0.003	2,6	18.41	0.006	2,6	13.98

جدول 3- میانگین درصد مرگ و میر شته مومی کلم در اثر کاربرد دو تیمار گیاهی

Table 3- Mean mortality Percentage of *Brevicoryne brassicae* by application of two herbal treatments

عصاره گیاهی Plant extract		10µg/ml			50µg/ml			80µg/ml		
<i>Melia azadirach</i>	12h	3.33±	16.5	Ab	3.33±	36.67	Aa	3.33±	46.67	Aa
		<i>Citrus limonum</i>	1.67±	6.67	Ab	1.67±	8.33	Bb	2.89±	20.00
<i>Melia azadirach</i>	24h	3.61±	20.00	Ab	7.00±	43.00	Aab	5.77±	50.00	Aa
		<i>Citrus limonum</i>	2.00±	9.00	Ab	1.33±	12.23	Bb	2.08±	24.00
<i>Melia azadirach</i>	36h	4.70±	19.67	Ac	11.46±	51.67	Ab	0.00±	100.00	Aa
		<i>Citrus limonum</i>	2.00±	7.00	Ab	3.46±	19.00	Aab	2.67±	28.66

به‌طور معنی‌داری درصد تلفات بیشتری روی پوره‌های شته سبز گندم پس از 12 و 36 ساعت نشان داد. بیشترین و کمترین درصد کشندگی عصاره دانه زیتون تلخ روی دو گونه شته پس از 24 ساعت به ترتیب در غلظت 80 و 10 میکروگرم بر میلی‌لیتر محاسبه شد (جدول 6). همچنین، عصاره پوست لیموترش در غلظت 80 میکروگرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با غلظت‌های 10 و 50 میکروگرم بر میلی‌لیتر، درصد تلفات بیشتری را روی پوره‌های شته سبز گندم پس از 12 و 36 ساعت نشان داد. کمترین و بیشترین درصد تلفات شته سبز گندم با کاربرد این عصاره پس از 24 ساعت نیز به ترتیب در غلظت‌های 10 و 80 میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده شد (جدول 6).

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین درصد حشره‌کشی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی دانه زیتون تلخ و پوست لیموترش روی پوره‌های شته سبز گندم در جدول‌های 4 تا 6 ارایه شده است. عصاره دانه زیتون تلخ در غلظت 50 میکروگرم بر میلی‌لیتر درصد تلفات بیشتری روی شته سبز گندم در مقایسه با پوست لیموترش در این غلظت پس از 12، 24 و 36 ساعت نشان داد. درصد کشندگی عصاره‌های مورد آزمایش در غلظت 10 و 80 میکروگرم بر میلی‌لیتر روی پوره‌های شته سبز گندم، اختلاف معنی‌داری پس از 12 و 24 ساعت نشان ندادند؛ درحالی‌که پس از 36 ساعت، کاربرد عصاره دانه زیتون تلخ در مقایسه با پوست لیموترش به‌صورت معنی‌دار موجب تلفات بیشتر این آفت شد (جدول 6). درضمن، عصاره دانه زیتون تلخ در غلظت 80 و 50 میکروگرم بر میلی‌لیتر در مقایسه با غلظت 10 میکروگرم بر میلی‌لیتر

جدول 4- تجزیه واریانس درصد مرگ و میر شته سبز گندم در اثر کاربرد دو تیمار گیاهی

Table 4- Analysis of variance of the wheat aphid mortality rate by using herbal treatments

Herbal extract dosage (µg/ml)	12h			24h			36h		
	P	df	F	P	df	F	P	df	F
10	0.231	4	2.48	0.934	4	1.66	0.343	4	7.98
50	0.023	4	5.17	0.415	4	2.94	0.214	4	6.69
80	0.441	4	0.896	0.609	4	0.961	0.116	4	8.50

جدول 5- تجزیه واریانس درصد کشته شدن تیمارهای مختلف روی شته سبز گندم بین سه غلظت مختلف (10، 50 و 80 میکروگرم بر میلی لیتر)

Table 5- Analysis of variances of different treatments on mortality percentage of *Schizaphis graminum* among 3 different concentrations (10, 50 and 80 µg/ml)

عصاره گیاهی Plant extract	12h			24h			36h		
	P	df	F	P	df	F	P	df	F
<i>Melia azadirach</i>	0.002	2,6	21.00	0.022	2,6	7.75	0.001	2,6	31.20
<i>Citrus limonum</i>	0.002	2,6	22.97	0.038	2,6	5.94	0.001	2,6	25.63

جدول 6- میانگین درصد مرگ و میر شته سبز گندم در اثر کاربرد دو تیمار گیاهی

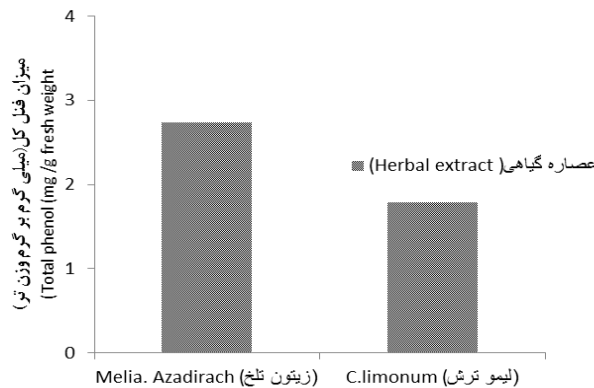
Table 6- Mean mortality Percentage of *Schizaphis graminum* by application of two herbal treatments

عصاره گیاهی Plant extract		10µg/ml			50µg/ml			80µg/ml		
<i>Melia azadirach</i>	12h	3.38±	20.00	Ab	3.33±	36.67	Aa	3.33±	49.00	Aa
<i>Citrus limonum</i>		1.97±	7.07	Ab	0.33±	19.33	Bb	5.81±	40.67	Aa
<i>Melia azadirach</i>	24h	3.06±	22.00	Ab	7.00±	41.66	Aab	5.77±	51.67	Aa
<i>Citrus limonum</i>		3.76±	11.33	Ab	5.04±	17.66	Bab	8.66±	40.66	Aa
<i>Melia azadirach</i>	36h	3.05±	36.00	Ab	9.81±	83.00	Aa	00.00±	100.00	Aa
<i>Citrus limonum</i>		1.93±	8.13	Bb	2.19±	19.00	Bb	6.35±	40.66	Ba

در این تحقیق، اختلاف معنی داری در مقدار فنل کل بین عصاره های میوه زیتون تلخ و پوست لیموترش مشاهده شد ($P < 0/05$)، میزان فنل کل در میوه زیتون تلخ و پوست لیموترش به ترتیب $(2/74 \pm 0/86)$ میلی گرم بر گرم وزن تر) و $(1/79 \pm 0/62)$ میلی گرم بر گرم وزن تر) بدست آمد (شکل 1).

در این تحقیق، اختلاف معنی داری در مقدار فنل کل بین عصاره های میوه زیتون تلخ و پوست لیموترش مشاهده شد ($P < 0/05$)، میزان فنل کل در میوه زیتون تلخ و پوست لیموترش به ترتیب $(2/74 \pm 0/86)$ میلی گرم بر گرم

در این تحقیق، اختلاف معنی داری در مقدار فنل کل بین عصاره های دانه زیتون تلخ و پوست لیموترش مشاهده شد ($P < 0/05$)،



شکل 1- میزان فنل کل عصاره اتانولی زیتون تلخ و لیموترش

Figure 1- The total phenol of ethanolic extract of *Melia azadirach* and *Citrus lemonum*

بحث و پیشنهادها

مقایسه اثر حشره کشی در غلظت‌های مختلف عصاره‌ها روی این دو گونه حشره افزایش مرگ و میر با تغییر غلظت را نشان داد ولی درصد مرگ و میر روی شته سبز گندم در مقایسه با شته مومی بالاتر بوده است که احتمالاً بدلیل وجود موم در سطح خارجی بدن *B. brassicae* می‌باشد. نتایج این تحقیق نشان داد که درصد کشندگی عصاره زیتون تلخ بسیار بیشتر از پوست لیموترش می‌باشد که این می‌تواند به دلیل تفاوت در مقدار ترکیبات ثانویه آن‌ها از جمله ترکیبات فنلی باشد. به طور کلی در طبیعت بسیاری از گیاهان دارای ترکیباتی هستند که دارای نقش دفاعی (اثر ضد تغذیه‌ای، بازدارنده تخم‌گذاری، حشره کشی، تخم کشی و تنظیم‌کنندگی رشد (IGR)) روی آفات زیادی هستند (27). در این تحقیق نیز مقدار فنل کل در عصاره میوه زیتون تلخ در مقایسه با عصاره پوست لیموترش به‌طور قابل ملاحظه ای بیشتر بود. زیتون تلخ به دلیل داشتن لیمونوئیدهای فراوان از جمله ترکیبات فنلی قدرت کنترل آفات زیادی را داشته و خواص حشره کشی آن به اثبات رسیده است (14).

تحقیقات مختلف در این زمینه روی آفات دیگر صورت گرفته است. به طور مثال، تأثیر غلظت 10 درصد عصاره اتانولی گیاه زیتون تلخ بر روی آفت سفیده کلم نشان داد که این عصاره می‌تواند 11/9 درصد تلفات پس از 24 ساعت روی این آفت ایجاد کند (5). زمانی و همکاران (53) درصد کشندگی عصاره اتانولی زیتون تلخ را در غلظت های 10، 50 و 80 میکرولیتر بر میلی‌لیتر در زمان 24 ساعت روی شته سبز هلو به ترتیب 35، 95 و 90 درصد و روی شته جالیز 53، 95 و 95 درصد برآورد کردند. در مقایسه با نتایج ما در زمان مشابه و غلظت متفاوت (میکروگرم) روی شته مومی (به ترتیب 20/00، 43/00 و 50/00 درصد) و شته سبز گندم (به ترتیب 22/00، 41/66 و 51/67 درصد) بیشتر بود. همچنین خیبر و همکاران (30) تأثیر عصاره اتانولی گل زیتون تلخ را روی حشرات بالغ شته سیاه باقلا (*Aphis fabae* Scopoli) بررسی کردند. نتایج نشان داد که غلظت 10 میکروگرم بر میلی‌لیتر پس از 48 ساعت 91/00 درصد مرگ و میر به همراه داشت. در حالی که در پژوهش حاضر غلظت 10 میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره میوه زیتون تلخ پس از گذشت زمان 36 ساعت روی شته سبز گندم و شته مومی کلم به ترتیب 36/00 و 19/67 درصد گزارش شد. این تفاوت‌ها می‌تواند بدلیل تفاوت جنس شته‌ها (آفت زراعی یا صیفی)، مرحله رشدی آن‌ها، تفاوت روش کار، تفاوت شرایط آزمایشگاهی و محیطی باشد. بیرهانو و همکاران (7) به بررسی اثر عصاره متانولی دانه زیتون تلخ، روی شته مومی کلم در سه غلظت (0/25، 0/5 و 1 درصد) پرداختند. نتایج نشان داد بعد از 24 ساعت در غلظت 0/25 درصد، 1/33 درصد مرگ و میر رخ داده است. شته مومی در تحقیق

انجام شده 20 درصد مرگ و میر، در غلظت 10 میکروگرم بر میلی‌لیتر (کمترین غلظت) با عصاره اتانولی میوه زیتون تلخ، در زمان 24 ساعت را نشان داد (7).

بر اساس مطالعات اقبال و همکاران (26) میزان مرگ و میر شته گندم پس از 48 ساعت با استفاده از عصاره پوست پرتقال (غلظت 25 میلی‌لیتر بر لیتر) 44/28 درصد بدست آمد. در مطالعه ما نیز میانگین مرگ و میر شته مذکور با استفاده از پوست لیمو ترش در غلظت 80 میکروگرم بر میلی‌لیتر پس از هریک از زمان‌های مورد آزمایش، 40/6 درصد بود. تحقیقات متعددی نشان داد که تأثیر کشندگی ارقام مرکبات روی شته می‌تواند بدلیل وجود سولفور و پلی فنل‌ها باشد (22 و 45). این ترکیبات ثانویه با بستن روزه‌های تنفسی باعث مرگ شته‌ها می‌شوند (26). ظاهراً و همکاران (52) گزارش کردند که عصاره پوست پرتقال بعد از 96 ساعت بالغ بر 69/05 درصد مرگ و میر روی شته گندم ایجاد می‌کند، همچنین پدرو (40) نیز نتایج مشابهی در ارتباط با تأثیر عصاره گیاه مذکور روی شته گندم به دست آورد.

رامفول و همکاران (42) میزان فنل کل در ارقام مختلف مرکبات را بین 1/9 تا 7/7 میلی‌گرم بر گرم وزن تر معادل اسید گالیک به دست آوردند که نتیجه مطالعات ما نیز در این دامنه عددی قرار داشت و تأیید کننده می‌باشد. همچنین آهنکوب‌رو و همکاران (3) میزان فنل کل بیوتیپ‌های مختلف مرکبات را 0/06 تا 0/96 میلی‌گرم بر گرم وزن تر گزارش کردند، در مقایسه، میزان فنل کل پوست لیموترش در تحقیق ما عددی بالاتر (1/79 میلی‌گرم بر گرم وزن تر) را نشان داد که می‌تواند بدلیل تفاوت بیوتیپ‌ها و شرایط آزمایشگاهی باشد. همچنین عوامل زیادی چون نوع رقم، فصل رشد و محل رویش گیاه (دما، رطوبت و بارندگی) در میزان ترکیبات فنلی ارقام مختلف گیاهی مؤثرند (18).

حال با توجه به پتانسیل بالای آفات در کاهش محصولات کشاورزی و نیاز روزافزون بشر به مواد غذایی انجام اقدامات کنترلی جهت کاهش جمعیت آفات امری اجتناب ناپذیر است. لازمه تولید چنین محصولاتی استفاده منطقی از آفت‌کش‌های مصنوعی و جایگزینی آنها با آفت‌کش‌های بیولوژیکی می‌باشد. از آنجا که آفت‌کش‌های گیاهی که توسط بشر برای مبارزه با آفات بکار برده می‌شود پتانسیل لازم برای کاهش جمعیت آفات در آنها وجود دارد. لذا انجام پژوهش‌های کاربردی و شناسایی، استخراج و فرموله نمودن این ترکیبات ثانویه گیاهی بمنظور درک مکانیسم عمل عصاره‌های دانه‌ها و سبزیجات روی آفات مختلف مخصوصاً شته‌ها، امکان تولید تجاری آفت‌کش‌های گیاهی را فراهم می‌آورد و این امر می‌تواند در گسترش تولید محصولات سالم و ارگانیک که کمترین ضرر برای انسان و محیط زیست داشته باشد نقش قابل توجهی داشته باشد.

منابع

- 1- Abou-Fakhr Hammad E.M., Zournajian H., and Talhouk S. 2001. Efficacy of extracts of *Melia azedarach* Linnaeus, leaves and fruits against adults of the sweet potato whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius, 1889) (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of applied Entomology*, 125: 483-488.
- 2- Abrosca B., Pacifico S., Cefarelli G., Mastellone C., and Fiorentino A. 2007. Limoncella apple, an Italian apple cultivar: phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity. *Journal of Food Chemistry*, 104: 1333-1337.
- 3- Ahankoub Ro M., Foutohi Ghazvini R., and Fattahi Moghadam J. 2014. Investigation biochemical diversity of peel and pulp from some natural citrus biotypes. *Journal of Plant Production Research*, 21 (4): 81-98. (In Persian)
- 4- Akhtar Y., and Isman M.B. 2004. Comparative growth inhibitory and antifeedant effects of plant extracts and pure allelochemicals on four phytophagous insect species. *Journal of application Entomology*, 128: 32-38.
- 5- Anurag Sh., and Rakesh G. 2009. Biological activity of some plant extracts against *Pieris brassicae* (Linn.). *Journal of Biopesticides*, 2(1): 26-31.
- 6- Aslam M., Razaq M., and Shahzad A. 2005. Comparison of different canola (*Brassica napus* L.) varieties for resistance against cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae* L.). *International Journal of Agriculture and Biology*, 7:781-782.
- 7- Birhanu M., Awoke Y., Tahgas A., and Raja N. 2011. Efficacy of *Melia azedarach* and *Mentha pip rita* Extracts Against Cabboidage Aphid, *Brevicorynebrassicae* L. *World Applied Science Journal*, 12(11): 2150-2154.
- 8- Blackman R.L., and Eastop V.F. 2000. *Aphids on the World's crop. An identification and information guide*, John Wiley Ltd, London, 466 p.
- 9- Blackman R.L., and Eastop V.F. 2007. Taxonomic issue. In: H.F. van Emden & R. Harrington, (Ed.) *Aphids as crop pests*. (pp. 1-29). Cromwell Press, London, UK.
- 10- Carpinella M.C., Giorda L.M., and Ferrayoli C.G. 2003. Palacios SM. Antifungal affects of different organic extracts from *Melia azedarach* L. on phytopathogenic fungi and their isolated activecomponents. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 51(9): 2506-11.
- 11- Carvalho S.M., and Ferreira D.T. 1990. Santa-Bárbara contra vaquinha. *Ciência Hoje*, 11: 65- 67.
- 12- Chaubey M.K. 2007. Toxicity of essential oils from *cuminum cyminum* Linnaeus (Umbelliferae), *Piper nigrum* Linnaeus (Piperaceae) and *Foeniculum vulgare* Miller (Umbelliferae) against stored-product Beetle *Tribolium castaneum* (Herbst, 1797) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Electronic Journal of Environmental Agricultural and Food Chemistry*, 6: 1719-1727.
- 13- Chong X.T., Tian G.Z., Cheng Z.I., and Yao Q.Q. 2009. Study on chemical constituents of the seeds of *Melia azedarach* L. *Food Drug*, 11: 1-30.
- 14- Chung Huang R., Tadera K., Yagi F., Minami Y., Okumara H., Iwagawa T., and Nakatani M. 1996. Limonoides from *Melia azedarach*. *Phytochemistry*, 43 (3): 581-583.
- 15- Civelek H.S., and Çolak A.M. 2008. Effects of Some Plant Extracts and Bensultap on *Trichoferus griseus* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Cerambycidae). *World Journal of Agricultural Sciences*, 4(6): 721-725.
- 16- Dilawari V.K., Singh K., and Dhaliwal G.S. 1994. Sensitivity of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) to *Melia azedarach* L. *Pesticide Research Journal*, 6: 71-74.
- 17- Donahay E., Zalach D., and Rindner M. 1992. Comparison of the sensitivity of the development stages of three strains of the red four beetle (Coleoptera: Tenebrionidae) to modified atmospheres. *Journal of Economic Entomology*, 85: 1450-1452.
- 18- Dragovi-Uzelac V., Savi Z., Brala A., Levaj B., Bursakovaevi D., and Bisko A. 2010. Evaluation of phenolic content and antioxidant capacity of blueberry cultivars (*Vaccinium corymbosum* L.) grown in the Northwest Croatia. *Food Technology and Biotechnology*, 48(2): 214-221.
- 19- Ellis P.R., and Singh R. 1993. A review of the host plants of the cabbage aphid, *Brevicorynebrassicae* L. (Homoptera, Aphididae). *IOBC /WPRS bulltin*, 16(5):192-201.
- 20- Ellis P.R., and Farrell J.A. 1995. Resistance to cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae* L.) in six *Brassica* accessions in New Zeland. *Journal of Crop and Horticultural Science*, 23:25-29.
- 21- Escarpa A., and Gonzalez M.C. 2001. An overview of analytical chemistry of phenolic compounds in foods. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 31(2):57-139. <http://dx.doi.org/10.1080/20014091076695>.
- 22- Gaby S. 1996. *Natural Pest and Disease Control* published by Magraf Verlag, PO Box 105 97985 Weikersheim, Germany.
- 23- Gupta M.P. 2005. Efficacy of Neem leaf extract in combination with h cow urine against mustard aphid and its effect on Coccinellid predators. *JNKVV Journal of Natural Product Radiance*, 4 (2): 102-106.
- 24- Hadjiakhoondi A., Vandoost H., Khanavi K., Sadeghipour-Roodsaric H.R., Vosoughi M., and Kazemi M. 2006. Fatty Acid *Melia azedarach* L. Fruits against Malaria Vector Composition and Toxicity of *Anopheles stephensi*. *Iranian Journal of Pharmaceutical Science*, 2(2): 97-102. (In Persian)

- 25- Iqbal M.F., Maqbool U., Asi M.R., and Aslam S. 2007. Determination of Pesticide residues in brinjal fruit at supervised trial. *Journal of Animal Plant Science*, 17(1- 2): 21-23.
- 26- Iqbal M.F., Kahloon M.H., Nawaz M.R., and Javaid M.I. 2011. Effectiveness of some botanical extracts on wheat aphid. Short Communication, *Journal of Animal and Plant Sciences*, 21(1): 114-115.
- 27- Isman M.B., Guning P.J. and Spollen K.M. 1997. Tropical timber species as sources of botanical insecticides "In phytochemicals for pest control. (Eds. P.A. Hedin et al.) American chemical society symposium series, 658: 27-37.
- 28- Isman M.B. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology*, 51: 45-66.
- 29- Kelm M., and Gadomski H. 1995. Occurrence and harmfulness of the cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae* L.) on winter rape. *Materially Sesji Institutes Ochrony roslin*, 5: 101: 103.
- 30- Khabir M., Ahmadi K., and shafiei F. 2015. The introduction of the bitter olive Flowers *Melia azedarach* Linnaeus (Sapindales: Meliaceae) as a aphid insecticides and different concentrations of ethanol extract of the *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae) mortality under laboratory conditions. *Proceedings of First National Conference on medicinal plants, traditional medicine and organic farming. Hamadan, 20 Novamner: 345 pp.*
- 31- Klocke J.A., and Kubo I. 1982. Citrus limonoid by-products as insect control agents. *Entomology Experimental Applied*, 32: 299 -301.
- 32- Matsumura F. 1985. *Toxicology of insecticides*. Plenum Press, New York.
- 33- McDonald S., Prenzler P.D., Autolovich M., and Robards K. 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. *Food Chemistry*, 73:73-84.
- 34- Meyers K.J., Watkins C.B., Pritts M.P., and Liu R.H. 2003. Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 51: 6887-6892.
- 35- Michels G., and Jr J. 1986. Gramineous north American host plants of the greenbug with notes on biotypes. *Southwestern Entomologist*, 11(2): 55-66.
- 36- Murphy H.C. 1959. The epidemic of barley yellow dwarf on oats in introduction. *Plant Disease Report Supply*, 262- 316.
- 37- Najmizadeh H., Ahmadi K., and Salari A. 2013. Insecticidal activities of five plant derived chemicals on *Thrips tabaci* (Lindeman, 1758). *Pharmacognosy communications*, 3: 12-16. (In Persian)
- 38- Nault L.R., and Bradley R.H.E. 1969. Acquisition of maize dwarf mosaic virus by the greenbug, *Schizaphis graminum*. *Annual Entomology Society of America*, 62(2): 403- 406.
- 39- Pascuala Vilalobos M.J., and Robeldo A. 1998. Screening for anti- insect activity in Mediteranean plants. *Journal of Industrial Crop and Product*, 8: 183- 194.
- 40- Pedro D.K.N. 1996. Fumigant toxicity as the major route of insecticidal activity of citrus peel essential oil. *Pest Science*, 46(1):71-78.
- 41- Rahmani F., Haddad Khodaparast M.H., Elhami Raad A.H., and Khanzadeh F. 2013. Characterization of phenolic compounds present in Neem leaf extracts using HPLC and determination of their antioxidant activity. *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, 24(1): 103-117. (In Persian)
- 42- Ramful D., Bourdon T., Bourdon E., Tarnus E., and Aruoma O.I. 2010. Bioactive phenolics and antioxidant propensity of flavedo extracts of Mauritian Citrus fruits: Potential prophylactic ingredients for functional foods application. *Toxicology*, 278: 75-87.
- 43- Salari E., Ahmadi K., and Zamani deh Yaghubi R. 2012. Comparison effect of ethanolic seed extract of *Melia azadirach* L. against two aphid species. *Journal of herbal drugs*, 2(4): 223-228. (In Persian)
- 44- Salvatore A., Borkosky S., Willink E., and Bardon A. 2004. Toxic effects of lemon peel constituents on *Ceratitis capitata*. *Journal of Chemistry and Ecology*, 30: 323-333.
- 45- Singh H., and Singh Z. 1995. New records of insect-pests of rapeseed- mustard. *Indian Journal of Agricultural Science*, 53(9): 970.
- 46- Singh R., and Ellis P.R. 1993. Sources, mechanisms and bases of resistance in cruciferae to the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae*. *IOBC/WPRS Bulletin*. 16: 21-35.
- 47- Srivastava A., and Guleria S. 2003. Evaluation of botanicals for mustard aphid, *Lipaphis erysimi* (Kalt.) control in Brassica Himachal. *Journal of Agricultural Research*, 29 (1and2): 116-118.
- 48- Valladares G.R., Ferreyra D., Defacoll T., Carpinella M., and Palacios S. 1997. Laboratory evaluation of *Melia azedarach* extracts against the elm leaf beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, 90 (3): 747-750.
- 49- Ventura M.U., and Ito M. 2000. Antifeedant activity of *Melia azedarach* (L.) extracts to *Diabrotica speciosa* (Genn.) (Coleoptera: Chrysomelidae) beetles. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 43: 215-219.
- 50- Wandscheer C.B., Duque J.E., Da Silva M., Fukuyama Y., Wohlke J.L., Adelman J., and Fontana J.D. 2004. Larvicidal action of ethanolic extracts from fruit endocarps of *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* against the dengue mosquito *Aedes aegypti*. *Toxicon*, 44: 829-835.
- 51- Wink M. 1993. Production and application of phytochemicals from an agricultural perspective. In: van Beek,

- T.A., Breteler, H. (Eds.), Journal of Phytochemistry and Agriculture, 34: 171-213.
- 52- Zahoor A., Hussain M.M., Akba R.M., Iqbal M.F., Ali J., and Ahmad M. 2015. Efficacy of extracts for controlling aphid at milking stage of wheat. International Journal of Advanced Research in Biological Sciences, 2(8): 120-123.
- 53- Zamani R., Ahmadi K., and Salari E. 2010. Insecticidal activity of seed oil of *Melia azedarach* L. (Meliaceae) on three aphid species and one stored product pest. 19th Iranian Plant Protection Congress, 31 July- 3 August, Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, P 250. (In Persian)
- 54- Zargari A. 1989. Iranian medicinal plants. Tehran University Publications, 6th ed., 4: 422-428.
- 55- Zettler J.L., and Cuperus G.W. 1990. Pesticide resistance in *Tribolium castaneum* (coleoptera: Tenebrionidae) and *Rhizopertha Dominica* (coleoptera: Bostrichidae) in Wheat. Journal of Economic Entomology, 83: 1677-1681.