



گیاه پزشکی (مجله علمی کشاورزی)

جلد ۴۵، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۱

doi 10.22055/ppr.2022.17656

شناسایی ترکیبات شیمیایی عصاره متانولی گیاهان آویشن کوهی و پونه کوهی و اثر حشره کشی و دورکنندگی آنها روی سفید بالک گلخانه (*Trialeurodes vaporarum*)

مرضیه شازده احمدی^{۱*} و سید افشین سجادی^۲

۱- * نویسنده مسوول: محقق بخش بیوتکنولوژی، مرکز تحقیقات و آموزش توتون تیرتاش، گرگان، ایران
(noshinshazdeahmadi@yahoo.com)

۲- محقق بخش گیاه پزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش توتون تیرتاش، گرگان، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۱۷

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۱۳

چکیده

سفید بالک گلخانه (*Trialeurodes vaporarum*, Westwood)، آفتی پلی فاژ بوده که باعث خسارت اقتصادی بر کمیت و کیفیت بسیاری از محصولات در سراسر جهان می‌گردد. در سال‌های اخیر، کاربرد ترکیبات گیاهی، به عنوان حشره کش‌های کم خطر به عنوان جایگزین سموم شیمیایی، به طور قابل توجهی افزایش یافته است. در این پژوهش، ترکیبات شیمیایی عصاره متانولی گیاهان پونه کوهی (*Mentha longifolia* L.) و آویشن کوهی (*Thymus pubescens*, Boiss.) و اثر حشره کشی و دورکنندگی آنها روی حشرات کامل سفید بالک گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش سمیت تماسی، با کاربرد عصاره متانولی این دو گیاه، هر کدام در سه غلظت (۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام) و پس از گذشت سه زمان (۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی محاسبه شد. نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری در درصد کشندگی عصاره‌ها در غلظت‌های مختلف پس از هر یک از زمان‌های مورد مطالعه مشاهده شد. بر اساس نتایج آزمایش‌های سمیت تماسی، با افزایش غلظت و مدت زمان قرار گرفتن در معرض عصاره‌ها، میزان درصد تلفات افزایش یافت. میزان LC_{50} عصاره پونه کوهی و آویشن کوهی به ترتیب ۱۱۱۴۸ و ۱۳۹۸۰ میلی‌گرم بر لیتر بود. بیشترین و کمترین درصد تلفات به ترتیب در عصاره پونه کوهی با غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام و پس از گذشت ۷۲ ساعت (۹۶/۲۵ درصد) و عصاره آویشن کوهی با غلظت ۱۰۰۰ پی‌پی‌ام و پس از گذشت ۲۴ ساعت (۱۷/۵ درصد) بود. برای تعیین درصد دورکنندگی، از کاغذهای صافی آغشته به غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهی استفاده شد. نتایج آزمایش اثر دورکنندگی نشان داد که عصاره پونه کوهی به طور معنی‌داری دارای قدرت دورکنندگی بسیار بالایی بود. بیشترین و کمترین اثر دورکنندگی، به ترتیب در عصاره پونه کوهی (۹۰ درصد) و عصاره آویشن کوهی (۲۳/۱۲ درصد) مشاهده شد. همچنین، ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده عصاره متانولی آویشن کوهی و پونه کوهی با استفاده از دستگاه GC-MS شناسایی شد. بنابر این، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که این عصاره‌ها دارای خاصیت حشره کشی و دورکنندگی خوبی علیه سفید بالک گلخانه بوده و استفاده از آنها در کنترل این آفت، توصیه می‌گردد.

کلیدواژه‌ها: سفید بالک گلخانه، عصاره‌های گیاهی، اثر کشندگی، اثر دورکنندگی

دبیر تخصصی: دکتر معصومه ضیائی

Citation: Shazdeahmadi, M. & Sajjadi, S. A. (2022). Identification of chemical compounds of methanolic extract of (*Mentha longifolia* L.) and (*Thymus pubescens* Boiss.) plants and their insecticidal and repellent effects on *Trialeurodes vaporarum*. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, 45(3), 27-42. <https://doi.org/10.22055/ppr.2022.17656>.

مقدمه

سفید بالک گلخانه (*Trialeurodes vaporarum*) (westwood, 1856)، آفتی با اهمیت اقتصادی بالا، تعداد نسل زیاد، پراکنش وسیع و انتشار جهانی بوده که در اکثر گلخانه‌ها، کشت‌های زیر پوشش، در مزارع و باغ‌ها، گیاهان زینتی و نیز درختان مثمر و غیر مثمر وجود دارد. این آفت بسیار پلی‌فاژ بوده و ۲۴۹ جنس و حدود ۶۰۰ گونه گیاهی در سراسر جهان را مورد حمله قرار می‌دهد (Dehghani & Ahmadi, 2011). حشرات کامل و پوره‌های این آفت، از شیر گیاه میزبان تغذیه می‌کنند، اما تغذیه پوره‌ها بسیار شدیدتر از حشرات کامل بوده و در صورت عدم کنترل این آفت، گیاهان میزبان کاملاً خشک می‌شوند. این آفت از طریق تغذیه از شیر نباتی گیاه میزبان، سبب تولید عسلک و انتقال بیماری‌های ویروسی شده که خسارت جبران ناپذیری به میزبان وارد می‌کند (Cardona et al., 2005). از سوی دیگر، کوتاه بودن طول دوره یک نسل، نرخ بالای تولید مثل و میزان تخم زیاد، سبب افزایش سریع جمعیت سفید بالک‌ها می‌شود. مشکلات ناشی از کاربرد بیش از حد سموم، نظیر اثرات سوء روی موجودات مفید، بروز مقاومت در آفات، طغیان آفات ثانویه، تهدید سلامت جامعه انسانی و غیره، موجب پیدایش فلسفه مدیریت تلفیقی آفات^۱ شده است (Oliveira et al., 2001).

یکی از روش‌های جایگزین آفت‌کش‌های شیمیایی، استفاده از آفت‌کش‌های گیاهی است. کاربرد ترکیبات ثانویه گیاهی به عنوان آفت‌کش گیاهی، در دهه‌های اخیر به دلیل سمیت کم، کم خطر بودن برای انسان، محیط زیست، موجودات مفید و قابلیت تجزیه زیستی بالا، باعث استفاده گسترده از آن‌ها جهت کنترل بسیاری از آفات مهم کشاورزی در سراسر جهان از جمله سفید بالک‌ها شده است

(Isman, 2006). ترکیبات گیاهی، در واقع متابولیت‌های ثانویه گیاهان مختلف بوده که از ترکیبات آروماتیک پیچیده تشکیل شده‌اند. متابولیت‌های ثانویه گیاهی شامل آلکالوئیدها، ترپنوئیدها، ترکیبات فنولیک و سایر ترکیبات دیگر است که تأثیرات مختلفی مانند حشره‌کشی، دورکنندگی، بازدارندگی تخم‌ریزی و ضد تغذیه‌ای در برابر گروه‌های زیادی از حشرات دارا هستند (Isman, 2000).

حشره‌کش‌های گیاهی به دلیل ایمن‌تر بودن برای انسان و محیط زیست به عنوان جانشین قابل توجهی برای حشره‌کش‌های مصنوعی در مدیریت آفات مورد توجه قرار گرفته‌اند. از نظر مدیریت آفات کشاورزی، حشره‌کش‌های گیاهی به بهترین شکل برای استفاده در تولید محصولات غذایی ارگانیک در کشورهای پیشرفته سازگار شده‌اند (Khater, 2012). قدمت استفاده تجاری از گیاهان به عنوان آفت‌کش به سال ۱۸۵۰ بر می‌گردد، که در بین آن‌ها می‌توان به استفاده از نیکوتین، روتون و پاپریتروم اشاره کرد. امروزه در سرتاسر جهان، تمایل برای پیدا کردن گیاهان جدید که دارای منابع غنی از حشره‌کش‌های بیولوژیک هستند، افزایش یافته است (Copping & Duke, 2007). با توجه به غنای بالای فلور گیاهی کشور ایران، ترکیبات گیاهی می‌توانند نقش ارزنده و مهمی در کاهش نیاز به واردات حشره‌کش‌های گیاهی داشته باشند (Mozaffarian, 2013).

گیاه پونه کوهی (*Mentha longifolia* L.) از تیره نعنائیان (Lamiaceae) بوده، گیاهی چند ساله و منشعب است. ساقه‌های شاخه‌دار و چهار بر آن دارای برگ‌های تخم‌مرغی شکل و دندانه‌دار است که با کرک کم پشتی پوشیده شده‌اند و به رنگ سبز مایل به خاکستری می‌باشند. این گیاه به صورت وحشی در مکان‌های مرطوب مانند حاشیه رودخانه‌ها و نهرهای آب رشد می‌کند. در ایران در دامنه‌های البرز، شمال، شمال شرقی و برخی نقاط دیگر انتشار دارد.

گیاه برای رویاندن موی سر و درمان نفخ شکم استفاده می کردند. همچنین دمکرده و جوشانده اندام هوایی این گیاهان در طب سنتی ایران به عنوان عامل تقویت کننده، ضد نفخ، ضد التهاب، کمک کننده هضم و خلط آور مورد استفاده قرار می گیرد (Mohammadi, 2015). بر اساس نتایج پژوهش ها انجام شده اثر حشره کشی اسانس آویشن باغی (*Thymus vulgaris* L.) بیشتر از آویشن شیرازی (*Zataria multiflora* Boiss.) روی حشرات کامل سفید بالک گلخانه (*T. vaporarium*) و شته جالیز سفید بالک (*Aphis gossypii* Glover.) گزارش شد. از سوی دیگر سفید بالک گلخانه در مقابل هر دو اسانس مذکور، حساس تر از شته جالیز بوده است (Taherisarhouzaki et al., 2013).

در پژوهشی، ترکیبات شیمیایی اسانس گیاهان آویشن (*Thymus X-Porlock*) و پونه کوهی مورد بررسی قرار گرفت که هر دو اسانس در پنج ترکیب به نام های (مونوترپن آلفا- پینن، لیمونن، میرسن، ساینن و لینالول) مشترک هستند (Rezaei & Rasouli, 2000). در پژوهشی دیگر، کارایی حشره کشی چند اسانس و عصاره گیاهی به نام های اسانس رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.)، نعناع فلفلی (*Mentha piperita* L.)، اکالیپتوس (*Eucalyptus globules* L.) و عصاره آویشن باغی (*T. vulgaris*) به صورت میکرو و نانو امولسیون فرموله شده روی سفید بالک پنبه (*Bemisia tabaci*, Genn.) در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تیمار نانو امولسیون محتوی مجموع اسانس های مورد آزمون با LC₅₀، LC₉₀ و LT₅₀ به ترتیب ۰/۷۴۵۴ و ۳/۱۲۰۸ میلی گرم بر لیتر و ۱۵/۹۲ ساعت بیشترین تأثیر را روی این آفت داشت. پس از آن، تیمار میکرو امولسیون محتوی مجموع اسانس ها و عصاره فوق نیز اثرات قابل قبولی روی این آفت داشت

برگ، گل، اندام هوایی و ساقه های این گیاه دارای خواص درمانی زیادی از جمله فعالیت های ضد عفونی کننده، ضد باکتریایی، ضد قارچی و حشره کشی می باشند (Kouhestani et al., 2020). بر اساس نتایج تحقیقات مختلف مشخص شد که میزان LC₅₀ گیاه پونه کوهی (*M. longifolia*) بسیار کم بوده و این امر نشان دهنده اثر سمیت بسیار بالای آن روی بسیاری از حشرات می باشد (Kumar et al., 2011). گیاه پونه کوهی به سبب تولید منوترپن های دارویی، سسکوئی ترپن های هیدروکربنی، منوترپن های اکسیژن دار و منوترپن های هیدروکربنی دارای قدرت دارویی و درمانی بالایی بوده و از دیرباز، نقش گسترده ای در درمان و پیشگیری از بیماری ها در طب سنتی اکثر کشورهای جهان بر عهده داشته است. پولگون، منتون و منتول از جمله مهم ترین متابولیت های موجود در این گیاه به شمار می روند (Iqbal et al., 2016). ترکیبات شیمیایی اسانس پونه کوهی و بررسی فعالیت حشره کشی آن روی شته برگ یولاف (*Rhopalosiphum padi* L.) در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. نتایج نشان داد که بیشترین درصد تلفات اسانس این گیاه پس از ۲۴ ساعت، مربوط به بیشترین غلظت مورد استفاده و برابر با ۸۱/۶۷ درصد بوده است (Qaderi et al., 2014).

گیاه آویشن کوهی (*Thymus pubescens* Boiss.) از تیره (Laminaceae) می باشد. این گیاه علفی، پایا و چند ساله، دارای ساقه های پرپشت، کوتاه و خزننده بوده که بلندی ساقه های آن از ۲۰ تا ۵۰ سانتی متر می باشد که بومی مناطق کوهستانی بوده و دارای خواص متعدد درمانی و حشره کشی می باشد. مهم ترین ترکیبات شیمیایی موجود در این گیاه، ترکیبات ترپنوئیدی مانند تیمول و کارواکرول هستند. وجود غده های ترشحی در سطح برگ ها و گل های گیاه عامل اصلی عطر و خواص دارویی موجود در گیاه است. در قدیم از جوشانده این

و شناسایی ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره متانولی این دو گیاه روی سفید بالک گلخانه (*T. vaporarium*) بوده است، تا زمینه معرفی ترکیبات گیاهی مناسب و جایگزین آفت‌کش‌های شیمیایی برای کنترل این آفت و تولید محصول سالم فراهم گردد.

مواد و روش‌ها

پرورش سفید بالک گلخانه

جمعیت اولیه سفید بالک گلخانه (*T. vaporarium*) از مزرعه توتون آلوده به این آفت واقع در استان گلستان روستای پیچک محله، با استفاده از اسپراتور مکنده جمع‌آوری شده و جهت شناسایی و پرورش به آزمایشگاه گیاه‌پزشکی مرکز تحقیقات و آموزش توتون تیرتاش منتقل شدند. سپس با استفاده از منابع معتبر و کلید شناسایی (Ghahhari & Hatami, 2001)، مورد شناسایی قرار گرفته و پس از شناسایی گونه *T. vaporarium*، حشرات بالغ داخل قفس‌های توری با مش ۵۰ به ابعاد ۱۰۰ × ۸۰ × ۸۰ سانتی‌متر به صورت انبوه در گلخانه با شرایط دمایی ۲۵± درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۱۰ ± ۶۰ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی مورد پرورش قرار گرفتند. گیاه توتون (رقم 21 Burley) به عنوان گیاه پایه و به منظور نگهداری منبع حشره انتخاب و از بانک بذر مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش تهیه شد. بستر کشت گیاهان، گلدان‌های یکبار مصرف پلاستیکی به قطر ۱۵ و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر بود که با خاک حاوی پیت ماس، پرلیت و کود دامی به نسبت برابر پر شده بود. داخل هر گلدان، یک عدد نشای توتون کاشته شد. آبیاری گلدان‌ها به شیوه دستی، هفته‌ای دوبار انجام شد. برای بهبود در رشد بوته‌ها از محلول غذایی نیتروژن، فسفر و پتاسیم N.P.K در زمان‌های ۱۰ و ۲۰ روز پس از نشاکاری، همراه با آب آبیاری استفاده شد. به منظور عدم آلودگی گلدان‌ها تا زمان رها سازی جمعیت سفید بالک گلخانه، گیاهان

(Bolandnazar et al., 2017). علاوه بر این، اثر عصاره‌های متانولی گیاهان شاتره *Fumaria parviflora* (Lam.) و کلپوره *Teucrium polium* (L.) روی سفید بالک پنبه *Bemisia tabaci* (Genn.) و اثرات جانبی آن روی بالتوری سبز *Chrysoperla carnea* (Stephens) در مقایسه با آفت‌کش شیمیایی پی‌متروزین در شرایط آزمایشگاهی بررسی شد. غلظت LC₅₀ عصاره‌های شاتره، کلپوره و پی‌متروزین به ترتیب ۲۳/۰۰۲، ۸۲/۶۲۹ و ۰/۱۱۸ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به دست آمد. نتایج نشان داد که بعد از آفت‌کش پی‌متروزین، عصاره متانولی شاتره بیشترین تأثیر را در کاهش تراکم جمعیت تخم، پوره و حشره کامل این آفت داشته است (Sharifi et al., 2014).

تاکنون، روی اثر حشره‌کشی عصاره و اسانس گیاهان آویشن کوهی و پونه کوهی روی آفات مختلف، تحقیقات مختلفی انجام شده است. برای مثال، اثر حشره‌کشی عصاره اتانولی گیاه دارویی آویشن (*Thyme* sp.)، روی پسپل پسته (*Agonoscena pistaciae*) (Burckharat & Lauterer.) بررسی شد. بر اساس نتایج حاصل، کاربرد عدم استفاده از آب و آویشن بیشترین تأثیر را در کنترل این آفت داشتند (Soheili & Banaeiyanesefid, 2018).

با توجه به محدود بودن پژوهش‌های صورت گرفته روی خاصیت حشره‌کشی گیاه پونه کوهی روی آفات مختلف در ایران، انجام تحقیقات بیشتر و تکمیلی‌تر برای کاربرد این گیاه به عنوان یکی از ترکیبات کم‌خطر برای انسان و محیط زیست در راستای توسعه حشره‌کش‌های گیاهی ایمن، ضروری می‌باشد.

در مورد اثر حشره‌کشی و دورکنندگی عصاره متانولی گیاهان آویشن کوهی و پونه کوهی روی آفت سفید بالک گلخانه (*T. vaporarium*) تاکنون هیچ مطالعه‌ای در ایران و جهان انجام نشده است. هدف از انجام این تحقیق، ارزیابی

آزمایش اثر کشندگی عصاره ها روی حشرات کامل سفید بالک گلخانه

آزمایش های اثر سمیت تماسی عصاره ها روی حشرات کامل سفید بالک گلخانه در شرایط آزمایشگاهی درون ژرمیناتور با شرایط دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شد. برای بدست آوردن غلظت های کشنده مناسب به منظور تعیین غلظت های نهایی، ابتدا آزمایش های مقدماتی انجام شد. در این مرحله، غلظت های مختلفی از هر دو عصاره گیاهی مورد استفاده در چهار تکرار آزمایش شدند. پس از تعیین غلظت های بالا و پایین، غلظت های بینین آن ها از طریق فواصل لگاریتمی بدست آمدند (Robertson & Preisler, 1992). نهایتاً سه غلظت برای هر عصاره انتخاب گردید. آزمایشات سمیت تماسی بدین صورت انجام شد که در هر آزمایش، از ۳ غلظت مختلف از هر عصاره (۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ پی پی ام) در ۴ تکرار استفاده شدند. در تیمار شاهد فقط از متانول استفاده گردید. قطعاتی هم اندازه از دیسک های برگگی توتون (به عنوان گیاه میزبان) به قطر ۹ سانتی متر تهیه و با استفاده از سمپلر به غلظت های مختلف از هر عصاره آغشته شده و پس از خشک شدن به مدت ۵ دقیقه در معرض هوا، سپس هر یک از برگ ها به صورت جداگانه به داخل ظروف پتری به قطر ۹ سانتی متر و عمق دو سانتی متر که کف آن ها محلول آگار یک درصد به ارتفاع یک سانتی متر جهت مرطوب نگه داشتن برگ ریخته شده بود انتقال داده شدند. سپس ۲۰ عدد حشره کامل سفید بالک گلخانه با قلم مو روی برگ های تیمار شده درون هر ظرف پتری قرار داده و در پتری ها بسته شد. برای ایجاد تهویه کافی، در هر ظرف پتری حاوی سوراخ تهویه به قطر ۲ سانتی متر و پوشیده با تور ۱۲ مش بود. تعداد تلفات پس از طی سه زمان (۲۴، ۴۸، و ۷۲ ساعت) شمارش و ثبت شده و درصد کشندگی طبق فرمول (Abbott 1925) اصلاح شد. حشراتی

داخل قفس نگه داری شدند. سپس، تعدادی از گلدان های توتون به داخل قفس هایی با ابعاد $70 \times 70 \times 50$ که با پارچه های توری پوشیده شده بودند، انتقال یافتند. با مسن شدن گیاهان داخل قفس و همچنین با توجه به افزایش تراکم جمعیت آفت، پس از یک الی دو نسل، گلدان های قبلی با گلدان های جدید جایگزین می شدند. بدین ترتیب، جمعیت مناسبی از این آفت برای انجام آزمایش ها فراهم گردید.

جمع آوری گیاهان مورد مطالعه و تهیه عصاره های گیاهی

اندام هوایی و برگ گیاهان آویشن کوهی (*T. pubescens*) و پونه کوهی (*M. longifolia*) در تیر ماه سال ۱۳۹۹ از ارتفاعات مناطق کوهستانی شهرستان بهشهر در استان مازندران جمع آوری شده و در سایه و دور از تابش نور خورشید خشک گردیدند. انتخاب گیاهان مود استفاده بر اساس بررسی منابع و کارایی آن ها روی این آفت و سایر آفات مشابه صورت گرفت. جهت عصاره گیری از هر یک از این گیاهان، نمونه های گیاهی خشک شده ابتدا با آسیاب برقی پودر شدند. عصاره گیری با حلال متانول طبق روش Sajjadi and Assemi (2014) انجام گرفت. بدین منظور، ۱۰ گرم از بافت گیاهی پودر و آسیاب شده در ۱۰۰ میلی لیتر متانول به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۲۰ درجه سلسیوس روی شیکر قرار داده، سپس ۷۵ میلی لیتر از محلول را برداشته، ۲۵ میلی لیتر آب مقطر استریل به آن اضافه شد که حجم آن به ۱۰۰ میلی لیتر برسد. سپس هم حجم با آن متانول اضافه شد. این مخلوط دو ساعت روی شیکر قرار داده شده، پس از این مرحله، بخش های مختلف به کمک دکانتور جدا شده و بخش متانولی جهت تبخیر متانول و استحصال عصاره در زیر هود قرار داده شد. عصاره های تهیه شده درون شیشه های درب دار تیره رنگ که روی آن ها نام گیاه و تاریخ عصاره گیری ثبت گردیده بود، تا زمان استفاده، داخل یخچال نگهداری و برای انجام آزمایش ها، هر عصاره رقیق سازی شده و مورد استفاده قرار گرفت.

که در صورت تحریک به وسیله قلم مو، قادر به هیچ گونه حرکتی نبودند به عنوان مرده در نظر گرفته شدند. مقادیر LC₅₀ عصاره‌ها روی حشرات کامل این آفت، پس از گذشت زمان ۲۴ ساعت توسط نرم افزار PC – POLO محاسبه گردید.

آزمایش اثر دور کنندگی

آزمایش دور کنندگی با استفاده از روش Talukder and Howse (1995) بدین ترتیب که درون ظروف پتری با قطر ۱۰ سانتی متر و ارتفاع ۱/۵ سانتی متر، کاغذ صافی (با قطر ۱۰ سانتی متر) از وسط به دو نیم تقسیم شد. سپس هر نیمه از کاغذ صافی در یک میلی لیتر محلول از هر یک از عصاره‌های گیاهی با سه غلظت ۱۰۰۰، ۱۵۰۰ و ۲۰۰۰ پی پی ام و نیمه دیگر به عنوان شاهد با یک میلی لیتر از حلال متانول آغشته شده و به مدت ۳۰ دقیقه در فضای اتاق در معرض هوا قرار داده شد تا خشک شوند. سپس، از قسمت زیر دو نیمه کاغذ صافی توسط چسب نواری از قسمت بریده شده به هم چسبانده و وصل شده و در داخل ظرف پتری قرار داده شد. تعداد ۲۰ عدد حشره کامل سفید بالک گلخانه (*T. vaporarium*) انتخاب و در وسط (مرکز) کاغذ صافی در هر ظرف پتری قرار داده شدند. سپس ظروف پتری در ژرمیناتور با دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۷۰-۶۰ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. پس از زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت، تعداد حشرات کامل در ناحیه شاهد و تیمار شمارش و شاخص دور کنندگی عصاره‌های گیاهی به روش Kogan and goeden (1970) محاسبه گردید:

$$RI = \frac{\sum 2G}{(G + P)}$$

G = تعداد حشره موجود در ناحیه تیمار

P = تعداد حشره موجود در ناحیه شاهد

شناسایی ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده عصاره‌های گیاهی

به منظور جداسازی و شناسایی ترکیبات عمده متشکله عصاره‌های گیاهی مورد مطالعه، از روش کروماتوگرافی

گازی توام با طیف سنجی جرمی استاندارد (GC – MS) موجود در بخش شیمی مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش استفاده شد. بدین منظور، عصاره‌های گیاهی به دستگاه GC-MS تزریق شده و طیف جرمی ترکیبات بر اساس شاخص بازداری و مقایسه طیف جرمی آن‌ها با ترکیبات پیشنهادی کتابخانه دستگاه انجام گرفت. درصد هر ترکیب با توجه به سطح زیر منحنی آن در طیف کروماتوگرام حاصل از دستگاه GC با روش نرمال کردن سطح منحنی و بدون محاسبه عامل تصحیح محاسبه شد. مشخصات دستگاه GC آن از نوع Shimadzu – GC/MS – SP 2010 مجهز به ستون 1-DB به طول ۶۰ متر و قطر ۰/۲۵ میلی متر، برنامه ریزی دمایی ستون از ۶۰ تا ۲۵۰ درجه با افزایش ۴ درجه در دقیقه، انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت، گاز هلیوم و دمای تزریق ۲۵۰ درجه سلسیوس بود.

تجزیه و تحلیل آماری

قبل از تجزیه آماری، در صورت نرمال نبودن داده‌ها، با تبدیل شدن به $\text{Arc sin } \sqrt{x}$ (تبدیل زاویه‌ای) نرمال سازی شدند. طرح به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب کاملاً تصادفی با سه عامل و چهار تکرار انجام شد. عامل اول عصاره گیاهی در دو سطح، عامل دوم غلظت در سه سطح و عامل سوم زمان در سه سطح در نظر گرفته شد. داده‌ها توسط نرم افزار SAS 9.0 آنالیز شده و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون LSD (حدافل اختلاف معنی - دار) در سطح احتمال یک درصد استفاده گردید.

نتایج

اثر سمیت تماسی عصاره‌ها روی حشرات کامل

T. vaporarium

نتایج تجزیه واریانس تأثیر عصاره‌های گیاهی روی درصد تلفات حشرات کامل سفید بالک گلخانه در زمان‌های مختلف آزمایش نشان داد که اثر عصاره‌های گیاهی، غلظت، زمان، اثر متقابل عصاره × غلظت، عصاره × زمان، غلظت × زمان و

از گذشت ۷۲ ساعت، دارای ۹۶/۲۵ درصد کشندگی بود. کمترین درصد کشندگی در عصاره متانولی آویشن کوهی (*T. pubescens*) با غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام پس از گذشت ۲۴ ساعت و به میزان ۱۷/۵ درصد مشاهده شد. بر اساس نتایج حاصل از تحقیق کنونی، درصد کشندگی عصاره‌ها در بیشترین غلظت (۲۰۰۰ پی پی ام) و بیشترین زمان (۷۲ ساعت)، دارای بیشترین مقدار بود. در هر دو عصاره گیاهی مورد مطالعه، با افزایش غلظت عصاره‌ها، میزان تلفات حشرات کامل افزایش یافت (جدول ۲).

یکی از مهم‌ترین شاخص‌هایی که برای مقایسه میزان حشره‌کشی اسانس و عصاره‌های گیاهی مورد استفاده قرار می‌گیرد، غلظتی از آن‌هاست که باعث ۵۰ درصد تلفات در آفت می‌شود (جدول ۳).

عصاره پونه کوهی در مقایسه با عصاره آویشن کوهی دارای سمیت تماسی بالاتری علیه حشرات کامل سفید بالک گلخانه بوده است. بیشترین میزان سمیت مربوط به عصاره پونه کوهی با LC₅₀ معادل ۱۱۱۴۸ میلی گرم بر لیتر و کمترین میزان سمیت مربوط به عصاره آویشن کوهی با LC₅₀ معادل ۱۳۹۸۰ میلی-گرم بر لیتر بود. مقایسه حدود اطمینان ۹۵٪ مقادیر LC₅₀ نشان داد که بین میزان LC₅₀ محاسبه شده برای این دو عصاره، اختلاف معنی‌داری وجود داشت (جدول ۳).

عصاره × غلظت × زمان در سطح احتمال یک درصد دارای اختلاف معنی‌دار بودند ($P \leq 0.01$) (جدول ۱).

میانگین درصد تلفات حشرات کامل سفید بالک گلخانه در اثر کاربرد غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهی، پس از هر یک از زمان‌های مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری نشان داد که مقایسه میانگین آن‌ها در جدول ۲ ارائه شده است. بیشترین و کمترین درصد کشندگی عصاره‌ها پس از گذشت ۲۴ ساعت، به ترتیب مربوط به عصاره پونه کوهی با غلظت ۲۰۰۰ پی پی ام به میزان ۵۱ درصد و عصاره آویشن کوهی با غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام به میزان ۱۷/۵ درصد بود. بیشترین و کمترین درصد کشندگی عصاره‌ها پس از گذشت ۴۸ ساعت، به ترتیب مربوط به عصاره پونه کوهی با غلظت ۲۰۰۰ پی پی ام به میزان ۷۲ درصد و عصاره آویشن کوهی با غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام به میزان ۲۱ درصد بود. بیشترین و کمترین درصد کشندگی عصاره‌ها پس از گذشت ۷۲ ساعت، به ترتیب مربوط به عصاره پونه کوهی با غلظت ۲۰۰۰ پی پی ام به میزان ۹۶/۲۵ درصد و عصاره آویشن کوهی با غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام به میزان ۲۹/۵ درصد بود.

به طور کلی در تحقیق کنونی، بیشترین میزان اثر کشندگی در عصاره متانولی پونه کوهی (*M. longiflora*) مشاهده شد که در غلظت ۲۰۰۰ پی پی ام پس

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر عصاره‌های گیاهی روی درصد تلفات حشرات کامل سفید بالک گلخانه در زمان‌های مختلف آزمایش.

Table 1. Variance analysis the effect of plant extracts on the mortality percentage of *Trialeurodes vaporariorum* adults at different experiment times.

S. O. V	df	Mean Squares
Extract	1	8690.01**
Concentration	2	1387.26**
Extract × Concentration	2	142.09**
Time	2	9904.26**
Extract × Time	2	709.59**
Concentration × Time	4	152.57**
Extract × Concentration × Time	4	30.99**
Error	54	2.26
CV (%)		3.27

** : Significant at 1% probability level.

جدول ۲- مقایسه (میانگین \pm خطای معیار) تأثیر عصاره‌های گیاهی روی درصد تلفات حشرات کامل سفیدبالک گلخانه در زمان‌های مختلف آزمایش.

Table 2. Mean comparison (Mean \pm SE) the effect of plant extracts on the mortality percentage of *Trialeurodes vaporarum* adults at different experiment times.

Treatments	Concentration (PPM)	% Mortality (Mean \pm SE) in hours		
		24 h	48 h	72 h
<i>M. longifolia</i>	2000	51 ^e \pm 1.15	72 ^c \pm 1.63	96.25 ^a \pm 1.5
<i>T. pubescens</i>	2000	40.5 ^{fg} \pm 5.1	58 ^d \pm 1.63	83.25 ^b \pm 1.5
<i>M. longifolia</i>	1500	32.5 ^h \pm 1	42 ^f \pm 1.63	69.25 ^c \pm 1.5
<i>T. pubescens</i>	1500	31.5 ^{he} \pm 1.91	42 ^f \pm 1.63	52 ^e \pm 1.63
<i>M. longifolia</i>	1000	38 ^g \pm 1	30.5 ^{he} \pm 1	38 ^g \pm 1
<i>T. pubescens</i>	1000	17.5 ^k \pm 1.91	21 ^j \pm 1.15	29.5 ⁱ \pm 1.91

Means followed by same letter are not significantly different at 1% probability level according to Least Significant difference (LSD).

جدول ۳- مقادیر LC_{50} محاسبه شد مربوط به اثر سمیت تماسی عصاره‌های گیاهی روی حشرات بالغ سفیدبالک گلخانه.

Table 3. Calculated LC_{50} values related to the effect of the contact toxicity of plant extracts on adult *Trialeurodes vaporarum*.

Plant extracts	No. of insects	LC_{50} (mg/L)	Assurance limits (95%)	X^2	Df	Slope \pm SE
<i>T. pubescens</i>	320	13980	3.21 – 6.34	3.45	2	1.68 \pm 0.83
<i>M. longifolia</i>	320	11148	1.52 – 3.61	2.67	2	2.52 \pm 0.28

‡: The confidence interval was calculated based on the (Robertson & Preisler, 1992).

اثر دورکنندگی عصاره‌ها روی حشرات کامل *T. vaporarum*

است. با افزایش غلظت عصاره و مدت زمان قرارگیری در معرض عصاره، درصد دورکنندگی افزایش یافت. عصاره پونه کوهی به طور معنی‌داری دارای قدرت دورکنندگی بسیار بالایی بود و در بالاترین غلظت (۲۰۰۰ پی‌پی‌ام) دارای بیشترین میزان دورکنندگی (۹۰ درصد) بود، که نشان‌دهنده پتانسیل بالای این عصاره برای استفاده به عنوان ترکیبات دورکننده علیه این آفت است. مقایسه اثر دورکنندگی عصاره‌های گیاهی در زمان‌های مختلف آزمایش نشان داد که عصاره‌های مورد بررسی از نظر آماری در سطح احتمال یک درصد با یکدیگر اختلاف معنی‌دار دارند. به طوری که عصاره پونه کوهی در زمان‌های مختلف آزمایش، اثر دورکنندگی بیشتری نسبت به عصاره آویشن کوهی نشان داد.

نتایج آزمایش اثر دورکنندگی نشان داد که هر دو عصاره مورد بررسی در غلظت‌های مختلف، دارای اثر دورکنندگی روی حشره کامل سفیدبالک گلخانه بودند، ولی میزان دورکنندگی آن‌ها با یکدیگر متفاوت بود. بیشترین و کمترین اثر دورکنندگی، به ترتیب در عصاره پونه کوهی (۹۰ درصد) و عصاره آویشن کوهی (۲۳/۱۲ درصد) مشاهده شد. آزمون مربع کای (X^2) برای هر دو عصاره بین تعداد حشرات جلب شده به تیمار و شاهد به صورت جداگانه انجام شد. در جدول ۴، میزان درصد دورکنندگی عصاره‌های متانولی آویشن کوهی و پونه کوهی روی حشرات کامل سفیدبالک گلخانه نشان داده شده

شامل نام ترکیب شیمیایی، شاخص بازداری و درصد آن‌ها در جدول ۵ نشان داده شده است.

نتایج آنالیز ترکیبات شیمیایی عصاره‌های آویشن کوهی و پونه کوهی بر اساس کروماتوگرافی گازی

جدول ۴- درصد دور کنندگی (میانگین \pm خطای معیار) عصاره‌های گیاهی روی حشرات کامل سفید بالک گلخانه.

Table 4. Repellent effect (Mean \pm SE) of methanolic extracts of plant extracts on *Trialeurodes vaporariorum* adults.

Plant extracts	Concentration (PPM)	Repellency (%)			X ²	P- Value
		Time (h)				
		24	48	72		
<i>Thymus pubescens</i>	1000	23.12 \pm 2.56 ^{jk}	31.18 \pm 3.41 ^{ij}	39.33 \pm 3.95 ^h	0.38	0.571
	1500	42.18 \pm 4.46 ^g	51.03 \pm 3.87 ^{fg}	65.29 \pm 5.71 ^d	4.53	0.62
	2000	50.03 \pm 4.01 ^{fg}	70 \pm 5.09 ^{cd}	81.02 \pm 7.07 ^{bc}	8.71	0.011
<i>Mentha longifolia</i>	1000	24.33 \pm 2.87 ^j	38.12 \pm 3.94 ^{hi}	53.3 \pm 5.6 ^e	13.27	0.009
	1500	52.42 \pm 5.38 ^{ef}	70.33 \pm 6.02 ^c	80.6 \pm 6.13 ^{bcd}	16.41	0.003
	2000	62.33 \pm 4.3 ^{de}	83.33 \pm 6.27 ^b	90 \pm 5.98 ^a	19.08	0.000

Means followed by same letter in each column are not significantly different at 1% probability level.

جدول ۵- ترکیبات اصلی شناسایی شده عصاره‌های گیاهی توسط دستگاه GC-MS.

Table 5. The main compounds the extracts of *Thymus pubescens* and *Mentha longifolia* identified by GC-MS.

<i>Mentha longifolia</i>				<i>Thymus pubescens</i>			
Percentage (%)	RI	Phytochemical Compounds	No.	Percentage (%)	RI	Phytochemical Compounds	N o.
42.18	1495	Thymol	1	38.73	1368	Thymol	1
13.5	1031	1,8-Cineol	2	12.03	1287	Carvacrol	2
0.77	976	Piperitenone	3	0.31	1163	Nonenal	3
8.73	1152	Piperitenone oxide	4	1.18	1069	Naphtalenol	4
4.66	1235	Pulegone	5	0.48	1025	Cylene	5
18.12	1221	Alpha-terpineol	6	4.5	1144	Anthol transe	6
10.38	1120	Eucalyptol	7	1.37	1000	Phellandrene	7
0.98	973	Mentofuran	8	0.61	903	Anisol	8
6.53	1071	Cis-Iso Pulegone	9	0.71	1009	1.8-Cineole	9
2.62	1024	Cineole	10	0.62	1098	Linalool	10
18.23	1213	Cis-Piperitone epoxide	11	2.49	1116	Limonene	11
10.96	1183	Menthone	12	1.22	1021	Alpha-Terpinene	12
9.3	1098	Menthol	13	3.7	1076	Alpha- Pinene	13
0.35	1079	Linalool	14	10.86	1126	Gamma-Terpinene	14
1.08	1152	Carvone	15	1.83	1041	Trans-Caryophyllene	15
0.83	1097	Terpinolene	16	1.19	1006	Beta-Myrcene	16
0.73	1080	Sabinene	17	0.92	994	Myrcene	17

RI: Repellency Index

بحث

نتایج بررسی سمیت تماسی عصاره‌ها روی حشرات کامل سفید بالک گلخانه نشان داد که سمیت عصاره پونه کوهی بیشتر از عصاره آویشن کوهی بود و میزان سمیت (کشندگی) در هر دو عصاره مورد مطالعه، به غلظت عصاره وابسته بود و با آن رابطه مستقیم داشت. تأثیر افزایش غلظت عصاره در افزایش اثر کشندگی و دور کنندگی حشرات در تحقیقات مختلف نشان داده شده است. از جمله سمیت تماسی اسانس هل (*Elletaria cardamomum* L.) و زیره سیاه (*Bunium persicum*, Boiss.) روی حشرات کامل شپشه قرمز آرد (*Tribolium castaneum* (Herbst. (Moravvej et al., 2011)، اثر حشره‌کشی و دور کنندگی قسمت‌های مختلف گیاه بو مادران (*Achillea millefolium* L.) علیه شپشه دنداندار برنج (Darnahal et al., 2021) (*Oryzaephilus surinamensis* L.) اثر دور کنندگی اسانس رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.) روی سفید بالک (*Bemisia tabaci* Gennadius.) (Dehghani & Ahmadi, 2011)، اثر حشره‌کشی و دور کنندگی فرمولاسیون اسانس نعناع علیه شته جالیز (*Aphis gossypii* Glover.) توسط Riyazi et al. (2015) بررسی شد، که در همه موارد با افزایش غلظت عصاره و اسانس، میزان اثر کشندگی و دور کنندگی افزایش یافت و با نتایج حاصل از تحقیق کنونی، مطابقت داشت.

نتایج تحقیق کنونی نشان داد که عصاره پونه کوهی، دارای اثر دور کنندگی بیشتری روی حشرات کامل سفید بالک گلخانه بوده است. (Akrami et al. (2011 گزارش کردند که اثر دور کنندگی اسانس آویشن کوهی و پونه کوهی روی حشره کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات (*Callosobruchus maculatus* F.) به ترتیب برابر با ۷۳/۳۳ و ۹۰ درصد بوده که نشان داد اسانس پونه کوهی دارای اثر دور کنندگی بیشتری بوده است، که با نتایج حاصل

از تحقیق کنونی مطابقت داشت. در پژوهش (Roozdar et al., 2020) اثرات زیستی اسانس ۱۴ گونه گیاهی شامل نعناع فلفلی، کلپوره، رزماری، نعناع گربه‌ای، پونه، ریحان، نعناع خوراکی، بادرنجبویه، مرزه خوزستانی، مرزنگوش، مورد، اوکالیتوس، شیشه شور و خاکشیر روی پوره سن یک و حشرات بالغ شپشک آرد آلود پنبه (*Phenacoccus solenopsis*, Tinsley) در شرایط آزمایشگاهی ارزیابی شد. نتایج مشخص نمود که از بین همه اسانس‌های مورد استفاده، اسانس پونه با LC_{50} معادل ۱۱۳/۴۹ پی‌پی‌ام و همچنین ۳۷۰/۱۲ پی‌پی‌ام به ترتیب بیشترین اثر کشندگی را روی پوره سن یک و حشره بالغ این آفت داشته است. همچنین اسانس پونه در غلظت LC_{30} و LC_{40} به ترتیب با ۸۳/۳۳ و ۹۳/۳۳ درصد دارای بیشترین خاصیت دور کنندگی روی حشرات بالغ این آفت بوده است. در تحقیق Nikooyi et al. (2010)، خواص حشره‌کشی اسانس گیاهان مورخوش (*Zhumeria majdae* Rech. F. & wendelbo) و پونه کوهی (*M. longifolia*) روی دو آفت انباری سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات و شپشه آرد مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که سمیت تنفسی اسانس پونه کوهی از دوام بیشتر و همچنین قدرت حشره‌کشی و دور کنندگی بیشتری برخوردار بود. در هر دو گونه آفت مورد بررسی، با افزایش غلظت عصاره‌ها و گذشت زمان، درصد تلفات افزایش یافت که با نتایج حاصل از تحقیق کنونی مطابق داشت. از سوی دیگر، -Mendoza Garcia et al. (2014) بیان نمود که با گذشت زمان، دوام اسانس‌های مورد استفاده کاهش یافت که این امر با نتایج تحقیق کنونی مغایرت داشت.

اثر حشره‌کشی و دور کنندگی پنج اسانس گیاهی، شامل دارچین (*Cinnamomum verum* L.)، درمنه (*Artemisia annua* L.)، سیر (*Allium sativum* L.)، پونه (*Mentha pulegium* L.) و پنج انگشت (*Vitex*

و آویشن کوهی در تحقیق کنونی، کمی بیشتر از تحقیقات مشابه ذکر شده باشد، که علت آن می‌تواند به دلیل تفاوت در آفت هدف و روش مورد استفاده در آزمایش باشد. به طور کلی در تمام آزمایشات کشندگی و دور کشندگی، سفید بالک گلخانه به عصاره‌های مختلف حساسیت زیادی نشان داد که به نظر می‌رسد به دلیل تحرک زیاد و اندازه کوچک این آفت باشد. مشابه این امر در تحقیق Nikooyi et al. (2010) نیز مشاهده شد که شیشه آرد که دارای اندازه کوچک‌تری در مقایسه با سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات می‌باشد، درصد دور کشندگی بیشتری داشته است. همچنین این امر در تحقیق Taherisarhouzaki et al. (2013) نیز مشاهده شد و گزارش شد که سفید بالک گلخانه در مقابل کاربرد دو اسانس آویشن معمولی و آویشن شیرازی، حساس تر از شته جالیز بوده است.

حساسیت گونه‌های حشرات، بسته به نوع عصاره‌ها و غلظت‌های گوناگون آن‌ها متفاوت است. وجود تنوع گسترده در ترکیبات شیمیایی موجود در جمعیت‌های مختلف یک گیاه، به علت فاکتورهای جغرافیایی، محیطی و ژنتیکی می‌باشد. تفاوت در اثر سمیت عصاره‌های گیاهی به ترکیبات شیمیایی موجود در آن‌ها بستگی دارد. یک ترکیب ممکن است به تنهایی یا به صورت تشدید کنندگی با سایر ترکیب‌ها موجب تشدید فعالیت عصاره شود (Mendoza-Garcia et al., 2014). با توجه به آنالیز GC - MS در پژوهش کنونی، مشخص شد که بیشتر ترکیبات شناسایی شده در دو عصاره‌های گیاهی مورد مطالعه، ترکیبات ترپنوئیدی، منوترپن‌ها و سسکوئنی ترپن‌ها بوده و دارای قابلیت حشره‌کشی، سمیت تماسی، دور کشندگی، بازدارندگی تخم‌ریزی و ضد تغذیه‌ای برای حشرات هستند. در نتیجه، این ترکیبات جایگزین‌های مناسبی برای حشره‌کش‌های شیمیایی بوده و کمترین خطر را برای سلامت انسان و محیط زیست دارند. ترپن‌ها با فرمول عمومی

(*O. agnus L.*) روی حشرات کامل شیشه دنداندار غلات (*O. surinamensis*) مورد مطالعه قرار گرفت و مشخص شد که بیشترین اثر کشندگی و دور کشندگی به ترتیب مربوط به اسانس سیر و پونه بوده است، که حاکی از کارایی بالای اسانس پونه در کنترل آفت مذکور بوده است (Ghafouripour et al., 2019).

اثر حشره‌کشی اسانس پونه معطر (*M. pulegium*) روی دو مرحله زیستی تخم و حشره کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات (*C. maculatus*) در شرایط آزمایشگاهی ارزیابی و مشخص شد که با افزایش غلظت اسانس، تأثیر آن روی کاهش تفریح تخم و تلفات حشرات کامل افزایش یافت، به طوری که بالاترین غلظت از اسانس پونه (۰/۱۴۲ میکرولیتر) موجب ۸۲/۲۲ درصد تلفات در حشره کامل و ۸۶/۶۶ درصد تلفات در مرحله تخم شد. نتایج تحقیق آن‌ها نشان‌دهنده خاصیت حشره‌کشی بالای اسانس پونه روی این آفت بوده است (Ismaili et al., 2011).

اثر تدخینی ۵۳ اسانس گیاهی علیه مراحل مختلف زیستی (تخم، پوره و حشره بالغ) سفید بالک گلخانه (*T. vaporarium*) مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج حاصل از آزمایش‌ها نشان داد که اسانس گیاهان پونه، اکالیپتوس، میخک، زیره سیاه و نعناع فلفلی به ترتیب بیشترین تأثیر کنترل‌کنندگی را روی حشرات بالغ، پوره‌ها و تخم‌های این آفت دارند (Choi et al., 2003).

پژوهش دیگری نشان داد که اسانس گیاهان آویشن *T. vulgaris*، نعناع هندی *Pogostemon cablin* Blanco و لیمو *Corymbia citriodora* Hook می‌توانند به طور موثری تفریح تخم، پوره و بقای شفیره و تخم‌گذاری سفید بالک را کاهش دهد. همچنین در این آزمایش، هیچ گونه اثر گیاه‌سوزی روی گیاهان تیمار شده با این اسانس‌های گیاهی مشاهده نشد (Yang et al., 2010). به نظر می‌رسد که میزان حشره‌کشی و دور کشندگی عصاره‌های پونه کوهی

موجود در اسانس پونه کوهی، شامل پولگون، پی پرتون، اکسید، منتون، اکالیپتول و تیمول تشکیل دادند، که نتایج آن‌ها با نتایج تحقیق کنونی مبنی بر وجود اکثر این ترکیبات در عصاره متانولی پونه کوهی (*M. longifolia*) مطابقت داشت. بنابراین می‌توان فعالیت‌های بالای حشره‌کشی و دور کنندگی عصاره‌های پونه کوهی و آویشن کوهی را به دلیل وجود این ترکیبات نسبت داد. قابل ذکر است که نتایج حاصل از بررسی ترکیبات شیمیایی عصاره آویشن کوهی در تحقیق کنونی تا حدودی با سایر بررسی‌های صورت گرفته توسط محققین دیگر مطابقت دارد. در اغلب مطالعات، ترکیباتی مانند کارواکرول، تیمول، گاماترپین و ۱ و ۸-سینثول، عمده‌ترین اجزاء آویشن کوهی بودند، که در تحقیق کنونی نیز عمده‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده این گیاه را تیمول (۳۸/۷۳ درصد)، کارواکرول (۱۲/۰۳ درصد) و گاما-ترپین (۱۰/۸۶ درصد) تشکیل دادند. اختلاف در مقدار عددی ترکیبات شیمیایی موجود در گیاهان با متغیرهایی مانند درجه حرارت، رطوبت نسبی، مدت زمان تابش نور خورشید، شرایط آب و هوایی و میزان بارش باران، استفاده از بخش‌های مختلف گیاه جهت استخراج و روش مورد استفاده در استخراج، تغییر می‌کند (Kouhestani et al., 2020).

مقایسه نتایج سایر تحقیقات با تحقیق کنونی، نشان می‌دهد که نوع ترکیبات عمده‌ی شناسایی شده در اسانس این گیاهان با ترکیبات موجود در عصاره متانولی آن‌ها که در تحقیق کنونی انجام شد، اکثراً شبیه به هم بوده ولی درصد و مقادیر این ترکیبات متفاوت است. این اختلاف ممکن است به علت تفاوت در نوع روش مورد استفاده در استخراج، نوع حلال مورد استفاده، تفاوت مناطق جغرافیایی و اکولوژیکی و همچنین تفاوت در زمان جمع‌آوری گیاهان در فصول مختلف سال باشد. بی‌شک سموم گیاهی، حشره-کش‌های ارزشمند و قابل توجهی هستند و می‌توانند

$(C_5H_8)_n$ ترکیب غالب یا ماده موثره اکثر اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی می‌باشند. ترین‌ها خود به چندین گروه مونوترپن‌ها ($C_{10}H_{16}$)، سسکوئی‌ترین‌ها ($C_{15}H_{24}$)، دی-ترین‌ها ($C_{20}H_{32}$)، تری‌ترین‌ها ($C_{30}H_{64}$)، و تتراترین‌ها ($C_{40}H_{64}$) تقسیم می‌شوند که ترکیبات مهمی چون تیمول، اوگنتول^۲ و کارواکرول جزء فنل‌های مونوترپن^۳ محسوب می‌شوند. ساختمان شیمیایی ترکیبات اخیر مرکب از ۱۰ کربن و ماهیت ضد میکروبی آنها به سبب گروه هیدروکسیل در ساختمان شیمیایی آنها است. نوع استقرار گروه هیدروکسیل روی حلقه فنلی موجب شده است که ترکیبات کارواکرول، تیمول و ... از یکدیگر متمایز گردند (Sajjadi & Assemi, 2014). در تحقیق (Sajjadi and Assemi, 2014)، اصلی‌ترین ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده عصاره آویشن کوهی، تیمول (۳۸/۷۳ درصد)، سایلن (۲/۰۳ درصد)، آنتول ترانس (۴/۵ درصد)، نفتالینول (۳/۶۱ درصد)، نوننال (۱/۱ درصد)، فنانترون (۶/۷۱ درصد)، آنیسول (۱/۴۵ درصد) و کارواکرول (۱۷/۰۸ درصد) شناسایی شد. در پژوهش (Mohammadi, 2015) ترکیبات مهم موجود در اسانس آویشن کوهی (*Thymus kotschyanus* Boiss.)، کارواکرول، تیمول و گاما ترپین گزارش شد. یافته‌های (Iqbal et al., 2016) نشان داد که ترکیبات عمده اسانس آویشن کوهی را کارواکرول، تیمول و گاماترپین تشکیل دادند. آن‌ها دریافتند که مهم‌ترین تفاوت در میزان کارواکرول و تیمول در بین جمعیت‌های مورد بررسی به علت تفاوت در فاکتورهای اکولوژی و جغرافیایی است. وجود ترکیبات ثانویه از دسته مونو و سسکوئی‌ترین‌ها مانند تیمول، کارواکرول، آلفا-ترپین، ال، گاما-ترپین، منتون، منتول و ... موجب خواص مختلف حشره‌کشی در عصاره‌های گیاهی می‌شود (Tasli et al., 2017). یافته‌های (Kouhestani et al., 2020) نشان داد که ترکیبات مهم

آنها در تحقیقات آتی ضروری است. این تحقیق می‌تواند در کاهش کاربرد حشره‌کش‌های مصنوعی موثر بوده و زمینه استفاده از حشره‌کش‌های طبیعی گیاهی که ارزان‌تر، تجزیه‌پذیرتر و سالم‌تر هستند را فراهم نماید.

سپاس‌گزاری

بدین وسیله از مدیریت و معاون محترم پژوهشی مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش به خاطر فراهم نمودن امکانات مالی و اجرایی این تحقیق، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

جایگزین مناسبی برای سموم شیمیایی جهت کنترل آفات باشند و با تولید در سطح تجاری می‌توان استفاده مناسب و بجا از آنها نمود. با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه، می‌توان گفت گیاهان آویشن کوهی و پونه کوهی اثر قابل توجهی روی کشندگی و دور کنندگی سفید بالک گلخانه دارند. به دلیل خاصیت فرار بودن ماده موثره عصاره‌های گیاهی و اکسید شدن سریع آنها، برای بهبود کارایی سمیت و حفظ ماهیت حشره‌کشی این ترکیبات، جهت استفاده در محیط‌های باز مانند مزرعه، تولید فرمولاسیون از

REFERENCES

- Abbott, W. S. (1925). A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18(1), 265-267.
- Akrami, H., Moharramipour, S. & Imani, S. (2011). Comparative effect of *Thymus kotschyanus* and *Mentha longifolia* essential oils on oviposition deterrence and repellency of *Callosobruchus maculatus* F. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 27(1), 1-10.
- Bolandnazar, A., Ghadamyari, M., Memarzadeh, M., & Jalali Sandi, J. (2017). Effect of some micro and nanoemulsified essential oils and plant extract on sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci* (Gennadius), under laboratory condition. *Journal of Plant Pest Research*, 7(3), 23-37. (In Farsi).
- Cardona, C., Rodriguez, I., Bueno, J., & Tapia, X. (2005). Biology and management of the whitefly *Trialeurodes vaporariorum* in field beans. International Center for Tropical Agriculture (CIAT). Department for International Development (DFID). Cali, Colombia. 345, 50p.
- Choi, W. I., Lee, E. H., Choi, B. R., Park, H. M., & Ahn, Y. J. (2003). Toxicity of plant essential oils of *Trialeurodes vaporarium* (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology*, 96(5), 1479-1484.
- Copping, L. G. & Duke, S. O. (2007). Natural products that have been used commercially as crop protection agents. *Pest Management Science*, 63(3), 524-554.
- Darnahal, A., Jamshidi, M., Jafarlo, M., & Hasheminia, S. (2021). Effects of insecticidal and repellent effects of different parts of *Achillea millefolium* on (*Oryzaephilus surinamensis* L.). *Journal of Applied Plant Medicine Varamin Islamic Azad University*, 3(1), 14-27 (In Farsi).
- Dehghani, M., & Ahmadi, K. (2011). Effect of (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oil on *Bemisia tabaci* (Gennadius). *National Conference on Medicinal Plants*, 2(1), 10-17 (In Farsi).

Ghahhari, H., & Hatami, B. (2001). Taxonomic studies of whitefly in Isfahan Previous. *Plant Pest and Disease*, 69(1), 25-38. (In Farsi).

Ghafouripour, H., Rafiei Dastjerdi, H., Naseri, B., Hasanpour, M., & Mahdavi, V. (2019). Effect of Insecticidal and Repellency of five essential oils on *Oryzaephilus surinamensis* L. The Second International Conference and the Sixth Conference on Organic and Conventional Agriculture, Mohaghegh Ardebili University, Ardebil, Iran. (145 pp). (In Farsi).

Iqbal, H., Moazenzadeh Khiavi, A., & Bohloli, S. H. (2016). A review of the therapeutic and phytochemical properties of *Mentha longifolia*. The first national conference on medicinal, aromatic and spice plants of Iran. Gonbad Kavous University (In Farsi with English summary).

Ismaili, M., Safavid, A., & Safar Alizadeh, M. H. (2011). Study of insecticide effect of *Mentha pulegium* essential oil on two biological stages of eggs and whole insect of four-spot beetle in laboratory conditions, First National Congress of New Agricultural Sciences and Technologies, Zanjan, Iran (In Farsi).

Isman, M. B. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19(4), 603-608.

Isman, M. B. (2006). Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and an increasingly oils in agriculture, industry and consumer products. *Phytochemistry Reviews*, 10, 197-204.

Khater, H. F. (2012). Prospects of botanical biopesticides in insect pest management. *Pharmacologia*, 3(1), 641-656.

Kogan, M., & Goeden, R. D. (1970). The host-plant range of *Lema trilineata daturaphila* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 63(4), 1175-1180.

Kouhestani, F., Hashemi, S. A. & Sabzevari, S. (2020). An Overview of insecticidal properties of *Mentha longifolia* L. in Iran. *Journal of North Khorasan University of Medical Sciences*, 11(4), 93- 97(In Farsi with English summary).

Kumar, P., Mishra, S., Malik, A. & Satya, S. (2011). Insecticidal properties of *Mentha* species: A review. *Indian Crop Production*, 34(1), 802-817.

Mendoza-Garcia, E. E., Ortega-Arenas, L., & Rodriguez-Hernandez, C. (2014). Repellency, toxicity and oviposition inhibition of vegetable extracts against greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporarum* (Westwood). *Chilean Journal of Agricultural Research*, 12(3), 120-123.

Mohammadi, A. (2015). Study of antifungal properties and chemical composition of essential oil of *Thymus kotschyanus* Boiss. & Hohen. *Iranian Journal of Plant Physiology and Biochemistry*, 1(2), 52-62 (In Farsi with English summary).

Moravvej, G., Of-Shahraki, Z. & Azizi-Arani, M. (2011). Contact and repellent activity of *Elletaria cardamomum*(L.) Maton. and *Benium persicum* (Boiss.) Fedtsch. Oils against *Tribolium castaneum*(Herbst) adults (Coleoptera: Tenebrionidae). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 27(2), 225-238 (In Farsi with English summary).

Mozaffarian, V. (2013). Identification of Medicinal and Aromatic Plants of Iran. Farhang Moaser Press. (1350 pp). (In Farsi).

Nikooyi, M., Moharramipour, S., & Talebi, A. (2010). Insecticidal properties of essential oils from (*Zhumeria majdae*) and (*Mentha longifolia*) on store pests. Master of Science thesis in Agricultural Entomology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. (212 pp). (In Farsi).

Oliveira, M. R. V., Henneberryb, T. J., & Andersonc, P. (2001). History, Current status, and collaborative research projects for *Bemisia tabaci*. *Crop Protection*, 20(2), 709-723.

Qaderi, M., Razmju, G., Davari, M., Rafiei Dastjerdi, H., & Ebadollahi, A. (2014). Identification of *Mentha longifolia* essential oil compounds and evaluation of its aphid activity on control of oat leaf aphid in laboratory conditions. 3rd National Congress of Organic and Conventional Agriculture, Ardabil, Iran. (pp. 41-56). (In Farsi with English summary).

Rezaei, M. B., & Rasouli, A. (2000). Biological activity and chemical composition of essential oils from (*Thymus X-Porlock*) and (*Mentha longifolia*). *Journal of Daneshvar Medical*, 8(31), 1-8 (In Farsi).

Riyazi, M., Khajeali, J., Poorjavand, N., & Boolandnazar, A. (2015). The lethal and repellent effect of peppermint essential oil formulation against (*Aphis gossypii* Glover.) in greenhouse conditions. *Journal of Greenhouse Crop Science and Technology*, 24(12), 169-179 (In Farsi with English summary).

Robertson, J.L., & Preisler, H.K. (1992). Pesticide Bioassays with Arthropods. CRC Press, Florida, 127p.

Roozdar, A., Habibpour, B., Mossadegh, M. S., & Mahmoudi Sorestani, M. (2020). Evaluation of biological effects of essential oils of 14 plant species against *Phenococcus solenopsis* in Laboratory condition. *Journal of Plant Protection*, 42(3), 71-86 (In Farsi with English summary).

Sajjadi, A., & Assemi, H. (2014). Investigation of antifungal effects of plant extracts from *Nepeta cataria*, *Nicotiana tabacum* and *Thymus pubescens* on pathogenic fungi of tobacco. *Journal of Biological Control of Pests & Plant Diseases*, 3(1), 41-52 (In Farsi with English summary).

Sharifi, H., Haghani, M., & Samih, M. A. (2014). Effects of methanolic extracts of *Teucrium polium* and *Fumaria parviflora* on sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci* (Hem.: Aleyrodidae), and subsequent side effects on common green lacewing, *Chrysoperla carnea* (Neu.: Chrysopidae), comparing with pymetrozin in laboratory conditions. *Journal of Iranian*

Entomological Association, 34(1), 9-21 (In Farsi with English summary).

Soheili, A., & Banaeiyanesefid, R. A. (2018). The effect of *Thyme* extract on control of *Agonoscena pistaciae*. The second national conference of Iranian pistachios. Rafsanjan, Iran. (pp. 13-21). (In Farsi).

Taherisarhouzaki, M., Safavi, A., & Jarahi, A. (2013). Insecticide effect of essential oils from (*Thymus vulgaris*) and (*Zataria multiflora*) on (*Trialeurodes vaporarium*) and (*Aphis gossypii*). The Second National Congress of Organic and Conventional Agriculture, Ardabil, Iran. (pp.32-40). (In Farsi).

Talukder, F.A., & Howse, P.E. (1995). Evaluation of *Aphanamixis polystachya* as a source of repellents, antifeedants, toxicants and protectants in storage against *Tribolium castaneum*. *Journal of Stored Products Research*, 31(11), 55-61.

Yang, N. W., Li, A. L., Wan, F. H., Liu, W. X., & Johnson, D. (2010). Effects of essential oils on immature and adult sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci* biotype B, *Crop protection*, 29(1), 1200-1207.



© 2022 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)



Identification of chemical compounds of methanolic extract of (*Mentha longifolia* L.) and (*Thymus pubescens* Boiss.) plants and their insecticidal and repellent effects on *Trialeurodes vaporarum*

M. Shazdeahmadi^{*1}, S.A. Sajjadi²

1. ***Corresponding Author:** Researcher, Biotechnology department, Tirtash tobacco research & education center, Gorgan, Iran (noshinshazdeahmadi@yahoo.com)
2. Researcher, Plant protection department, Tirtash tobacco research & education center, Gorgan, Iran

Received: 3 January 2022

Accepted: 9 July 2022

Abstract

Background and Objectives

Trialeurodes vaporarum (Westwood) is a polyphagous pest that causes economic damage to the quantity and quality of many crops around the world. In recent years, using plant compounds as low-risk insecticides to replace chemical pesticides has increased significantly. This research aimed to investigate the chemical composition of methanolic extracts of *Mentha longifolia* L. and *Thymus pubescens* Boiss. and their insecticidal and repellent effects on greenhouse whiteflies in a completely randomized design in laboratory conditions.

Materials and Methods

A contact toxicity test was performed using the two methanolic extracts, each in three concentrations (1000, 1500, and 2000 ppm) and after three durations (24, 48, and 72 hours). Filter papers impregnated with different concentrations of plant extracts were used to determine the percentage of repellency. Each filter paper was cut into equal halves, and one half was impregnated separately with concentrations of 1000, 1500, and 2000 ppm. The other half was impregnated with only methanol solvent as a control. The two paper halves were then glued together and placed in Petri dishes (with a diameter of 8 cm). In each petri dish, 20 adult whitefly (*T. vaporarum*) insects were placed in the middle of the filter paper, and the total number of insects on each half of the filter paper was checked after 24, 48, and 72 hours.

Results: The results showed a significant difference in the percentage of toxicity at different concentrations after each studied duration. Based on the contact toxicity tests, the mortality rate increased with increasing the concentration and duration of exposure to the extracts. The LC₅₀ levels of oregano and thyme extracts were 11148 and 13980 mg/L, respectively. According to the results, the mortality rate increased with increasing concentration and time. The highest mortality rate was observed in *M. longiflora* extract with a concentration of 2000 ppm after 72 hours (96.25 %), and the lowest mortality in *T. pubescens* extract with a concentration of 1000 ppm after 24 hours (17.5 %). The repellent effect increased with the

higher concentration of extracts. The repellency test showed that *M. longiflora* extract had a significantly high repellent power. The highest and lowest repellency effects were observed in *M. longiflora* extract (90 %) and *T. pubescens* extract (23.12 %), respectively. The chemical compounds of the methanolic extracts were identified using a GC-MS, and their diagrams were drawn. The analysis of chemical compounds found that most of the identified compounds of the two plant extracts studied were terpenoid compounds, monoterpenes, and Cesciue terpenes, and thymol (38-42 %) was the highest composition of the extracts.

Conclusion

The results of the present study indicated that these extracts have favorable insecticidal and repellent properties against *T. vaporarium*, and their use in controlling this pest is recommended.

Keywords: *Trialeurodes vaporarium*, *Plant extracts*, *toxicity effect*, *Repellent effect*

Associate editor: M. Ziaee (Ph.D.)

Citation: Shazdeahmadi, M. & Sajjadi, S. A. (2022). Identification of chemical compounds of methanolic extract of (*Mentha longifolia* L.) and (*Thymus pubescens* Boiss.) plants and their insecticidal and repellent effects on *Trialeurodes vaporarium*. *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, 45(3), 27-42. <https://doi.org/10.22055/ppr.2022.17656>.