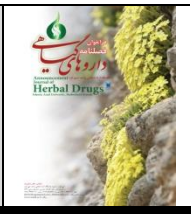


فصل‌نامه‌ی داروهای گیاهی

journal homepage: www.journal.iaushk.ac.ir

تأثیر عصاره اتانولی دانه گیاه زیتون تلخ *Melia azedarach* L. بر دو گونه شته

الهام سالاری[۱]*، کمال احمدی[۲]، رضا زمانی ده یعقوبی[۱]

۱. گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، عضو انجمن پژوهشگران جوان، کرمان، ایران؛

** مسئول مکاتبات (**E-mail: salari_elham@hotmail.com**)*

۲. گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران؛

شناسه مقاله

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۰۵/۱۷

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۰۷/۲۷

نوع مقاله: پژوهشی

موضوع: به زراعی - به نژادی

کلید واژگان :

- ✓ *زیتون تلخ*
- ✓ *تست موضعی*
- ✓ LC_{50}
- ✓ *شته*

چکیده

مقدمه و هدف: شته ها از جمله مهمترین آفات اقتصادی و ناقلین بسیاری از بیماری‌های ویروسی در محصولات زراعی و گل‌خانه‌ها می‌باشند. در حال حاضر کنترل شته ها بیشتر وابسته به استفاده از حشره کش‌های شیمیایی است. به‌دلیل استفاده های مکرر سموم، گونه های بسیاری از شته ها به بسیاری از ترکیبات شیمیایی مقاوم شده اند. بنابراین روش جایگزین برای کنترل شته ها مورد نیاز است. حشره کش های گیاهی جهت استفاده در برنامه مدیریت تلفیقی آفات (IPM) بی خطر هستند. در این تحقیق، به منظور کاهش خسارت این آفات و اثرات نامطلوب آفت‌کش‌ها در محصولات زراعی و کشت سبزیجات، اثر حشره‌کشی عصاره اتانولی دانه زیتون تلخ *Melia azedarach* L. (Meliaceae) بر روی دو گونه شته مورد بررسی قرار گرفت.

روش تحقیق: در این تحقیق دانه‌های زیتون تلخ از منطقه کرمان جمع آوری شد و پس از آسیاب و پودر کردن عصاره آن‌ها با حلال اتانول ۹۵ درصد استخراج شد. شته ها شامل پوره های ۴-۳ روزه شته جالیز (Hemiptera: Aphididae) *Aphis gossypii* Glover و شته سبز هلو *Myzus persicae* (Sulzer) می-شدند. آزمایش به روش آزمون موضعی (Topical test) انجام شد. در تیمار شاهد از اتانول استفاده شد. آزمایشات در شرایط دمایی ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۱۰±۶۰ درصد و تناوب نوری ۱۶:۸ ساعت (تاریکی: روشنایی)، در یک شدت نور مصنوعی در حدود ۴۰۰۰ لوکس انجام گرفت.

نتایج و بحث: نتایج نشان داد که در غلظت ۶۰ میکرولیتر در میلی لیتر پس از ۲۴ ساعت، درصد تلفات در شته جالیز با میانگین ۹۵ درصد، به طور معنی داری بیشتر از شته سبز هلو بود. هم‌چنین میزان LC_{50} عصاره اتانولی گیاه زیتون تلخ برای شته جالیز و شته سبز هلو پس از ۲۴ ساعت به ترتیب ۱۳/۷ و ۱۵/۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر محاسبه شد.

توصیه کاربردی/صنعتی: بر اساس پژوهش حاضر، عصاره اتانولی دانه گیاه زیتون تلخ اثرات حشره کشی موثری داشته و می‌تواند به عنوان یک حشره‌کش کم خطر برای کنترل شته ها در برنامه مدیریت تلفیقی آفات (IPM) مورد بررسی و استفاده قرار گیرد. با توجه اثرات مخرب کمتر حشره کش های گیاهی بر روی انسان و محیط زیست نسبت به حشره کش های شیمیایی، این ترکیبات به عنوان یک حشره کش کم خطر و یا به عنوان الگویی برای ساخت حشره کش های جدید برای کنترل حشرات آفت قابل توصیه می باشند.

۱. مقدمه

شته ها از جمله آفات مهم اقتصادی اند که در سرتاسر جهان پراکنش داشته و ایجاد خسارت می‌کنند. یکی از مهمترین شته‌ها از نظر خسارت اقتصادی، شته سبز هلو[۱] است که به طیف وسیعی از محصولات زراعی، باغی و هم‌چنین گیاهان زینتی حمله می‌کند

[1] *Myzus persicae* Sulzer (Hemiptera: Aphididae)

(Clements *et al*., 2000). این حشرات از شیره گیاهی تغذیه کرده و ضمن این‌که موجب ضعف گیاه، پژمردگی، ایجاد پیچیدگی در برگ‌های جوان و ترشح عسلک می شود، باعث انتقال بیش از یک‌صد نوع ویروس گیاهی نیز می گردند (Foster *et al*., 2000).

در سال‌های اخیر گرایش زیادی به افزایش بازده محصولات کشاورزی وجود دارد. در این راستا، کاربرد بی‌رویه سموم آفت‌کش، مشکلاتی جدی نظیر سمیت مستقیم برای پارازیتوئیدها، شکارگرها، گرده افشان‌ها، ماهی ها و انسان، بروز مقاومت در آفات نسبت به آفت‌کش، باقی‌مانده سم در محصولات غذایی، اثرات سوء زیست محیطی و غیره را به دنبال داشته است (Raja *et al*., 2001).

ترکیب‌های ثانویه برخی از گیاهان نقش مهمی در دفاع طبیعی و کنترل آفات بر عهده دارند. از این رو ترکیبات مشتق شده از این گیاهان به عنوان یک منبع زیستی، می‌توانند جایگزین مناسبی برای حشره‌کش‌های مصنوعی در برنامه کنترل آفات گردند (Daoubi *et al*., 2005; Kim *et al*., 2005). علاوه بر این، ترکیبات گیاهی در مقایسه با حشره‌کش‌های مصنوعی، با بوم نظام سازگارتر و دارای سمیت کمی برای پستانداران و موجودات غیر هدف بوده و دوام و پایداری کمی در محیط دارند (Georges *et al*., 2007; Liu *et al*., 2005).

در کشورهایی نظیر آمریکا، استرالیا و هندوستان تحقیقات گسترده‌ای بر روی عصاره‌های مؤثر چریش و پیرترم که سمیت قاطع بر آفات انباری دارند، صورت گرفته است (Levinson & Levinson, 1998). هم‌چنین فعالیت‌های دورکنندگی، ضد تغذیه-ایی و تنظیم کنندگی رشد و نمو برخی از حشرات در ارتباط با گیاهان خانواده ملیاسه بررسی شده است (Reed *et al*., 1982). تأثیر عصاره آبی گیاه زیتون تلخ[1] روی لارو پروانه برگ‌خوار[2] از خانواده Noctuidae و هم‌چنین فعالیت ضد تغذیه ایی این عصاره روی سوسک برگ‌خوار برزیلی سیب زمینی[3] نیز از جمله تحقیقاتی است که در زمینه تأثیرات این عصاره بر روی حشرات انجام شده است (Carvalho & Ferreira, 1990; Ventura & Ito, 2000). والادارس و هم‌کاران (Valladares *et al*., 1997) دریافتند که عصاره اتانولی زیتون تلخ از تغذیه لارو و حشرات کامل سوسک برگ‌خوار نارون[4] جلوگیری می کند.

هدف از این مطالعه بررسی خاصیت حشره کشی عصاره اتانولی گیاه زیتون تلخ بر روی شته جالیز و شته سبز هلو در شرایط آزمایشگاه است که امکان به‌کارگیری این عصاره گیاهی جهت مدیریت کنترل شته های آفت بررسی خواهد شد.

۲. مواد و روش‌ها

۲-۱. پرورش حشرات

شته‌های مورد آزمایش در این تحقیق، شته جالیز[5] و شته سبز هلو[6] بودند. پس از انتقال شته های فوق به آزمایشگاه و شناسایی آن ها، یک کلنی مجزا از هر یک تهیه گردید. سپس این شته ها در شرایط دمایی ۱±۲۵ درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی ۱۰±۶۰ درصد و ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی درون اتاقک رشد[7] بر روی برگ باقلا پرورش داده شدند. برای انجام آزمایشات زیست سنجی از شته های ۳ یا ۴ روزه استفاده شد که بدین منظور تعداد ۱۵۰ عدد شته بالغ از کلنی جدا و در یک کلنی جداگانه نگهداری شدند. پس از ۲۴ ساعت حشرات بالغ جدا شده به کلنی اصلی برگردانده شده و پوره های یک یا دو روزه در یک کلنی جداگانه نگهداری شدند. بعد از گذشت ۴۸ ساعت پوره های سه یا چهار روزه از کلنی جدید جدا شده و برای آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند.

۲-۲. تهیه نمونه گیاهی و عصاره گیری

در آبان ماه ۱۳۸۹ گیاه زیتون تلخ از رویشگاه طبیعی آن در استان کرمان جمع آوری گردید. پس از شناسایی و انتقال به آزمایشگاه در شرایط سایه و تهویه مناسب خشک شد. یک هفته پس از آن دانه های کاملاً خشک شده زیتون تلخ، جهت عصاره-گیری توسط آسیاب برقی به مدت ۵ دقیقه کاملاً پودر شدند.

[1] *Melia azedarach* (Meliacea)
[2] *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera : Noctuidae)
[3] *Diabrotica speciosa (*Coleoptera: Chrysomelidae)
[4] *Xanthogalleruca luteola* Mulle (Coleoptera: Chrysomelidae)
[5] *Aphis gossypii* Glover
[6] *Myzus persicae* (Sulzer)
[7] Growth chamber

سپس عصاره دانه این گیاه با حلال اتانول با درجه خلوص ۹۵ درصد استخراج شد. جهت عصاره گیری ۵۰ گرم از میوه ها و دانه های پودر شده زیتون تلخ را در یک ارلن ۵۰۰ میلی لیتری قرار داده و روی آن از حلال مورد نظر ریخته و حجم کل به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. پس از یک ساعت هم زدن در زیر هود، دور ارلن با فویل آلومینیوم پوشانده شد تا از تابش مستقیم نور به آن جلوگیری شود. سپس درب ارلن را به خوبی بسته و مخلوط عصاره و باقی‌مانده گیاهی را به مدت ۲۴ ساعت در یخچال در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از ۲۴ ساعت عصاره گیاهی توسط کاغذ صافی از باقی‌مانده گیاهی جدا شد. بعد از استحصال عصاره مجدداً ۱۰ میلی‌لیتر حلال روی باقی‌مانده ریخته شد و به مدت یک ساعت هم زده شد و مانند مرحله قبل عصاره آن گرفته شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت عصاره خام استحصال شده را درون یک پتری دیش به قطر ۱۵ سانتی متر ریخته و در زیر هود قرار داده تا حلال به طور کامل از عصاره خارج شد، به طوری که پس از خروج حلال از عصاره خام، عصاره کاملاً غلیظی به حجم ۵ میلی-لیتر به‌دست آمد.

۲-۳. آزمایش‌های زیست سنجی

۲-۳-۱. اثر عصاره اتانولی زیتون تلخ بر روی پوره سه یا چهار روزه شته جالیز و شته سبز هلو

اثر عصاره اتانولی میوه گیاه زیتون تلخ بر روی پوره‌های ۴-۳ روزه شته جالیز و شته سبز هلو مورد مطالعه قرار گرفت. هر واحد آزمایشی شامل یک پتری دیش پلاستیکی به قطر ۵ سانتی‌متر محتوی ۰/۵ سانتی متر ژل آگار ۰/۷ درصد بود که بر روی آن یک برگ تازه باقلا قرار داشت. شته های مربوط به هر آزمایش بر روی برگ‌های باقلای برش خورده[1] به قطر ۴/۵ سانتی متر مستقر شدند. برای هر آزمایش محلولی با غلظت ۶۰ میکرولیتر در میلی‌لیتر از هر یک از عصاره‌های فوق به همراه اتانول و ۲۴ پتری حاوی شته به همراه شاهد آماده گردید. در تیمار شاهد از حلال اتانول استفاده شد. آزمایش به روش آزمون موضعی[2] توسط سمپلر[3] یک میکرولیتری انجام شد. حشرات مورد آزمایش در شرایط دمایی ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۱۰±۶۰ درصد و ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در داخل اتاقک رشد نگهداری شدند. تعداد حشرات تلف شده در فاصله ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت شمارش گردید. ملاک تشخیص حشرات تلف شده این بود که اگر پاها و شاخک‌ها به وسیله قلم‌مو تحریک می‌شد، هیچ عکس العملی دیده نشود.

۲-۳-۲. تعیین غلظت کشنده ۵۰ درصد (LC50)

به منظور محاسبه شاخص سمیت[4] آزمایشاتی با غلظت‌های مختلف (غلظت ۱۰۰-۵ میکرولیتر در میلی‌لیتر) به صورتی که در بالا توضیح داده شد، بر روی شته جالیز و شته سبز هلو انجام گرفت.

۲-۴. تجزیه و تحلیل داده ها

داده ها با استفاده از روش ANOVA One-Way و به کمک نرم افزار Stat Plus $_{2007}$ مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین از آزمون توکی (Tukey HSD Test) در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد. در تمام آزمایش‌ها در صورت مشاهده تلفات در تیمار شاهد، درصد تلفات ناشی از عصاره های گیاهی در تیمارهای دیگر بر اساس فرمول Abbott اصلاح گردید (Abbott, 1925). هم‌چنین برای محاسبه LC_{50} داده ها با استفاده از نرم افزار Stat Plus $_{2007}$ و از روش Probit Analysis مورد تجزیه آماری قرار گرفتند.

۳. نتایج و بحث

نتایج تأثیر حشره کشی عصاره اتانولی میوه گیاه زیتون تلخ بر روی پوره های ۴-۳ روزه شته جالیز و شته سبز هلو در شکل ۱ ارائه شده است. نتایج نشان داد که در غلظت ۶۰ میکرولیتر در میلی لیتر پس از ۱۲ ساعت، تلفات شته جالیز در تیمار عصاره اتانولی میوه گیاه زیتون تلخ ۹۲ درصد بود؛ در حالی‌که در شته سبز هلو کمتر از ۸۷ درصد تعیین گردید. پس از ۱۲ ساعت، هیچ-

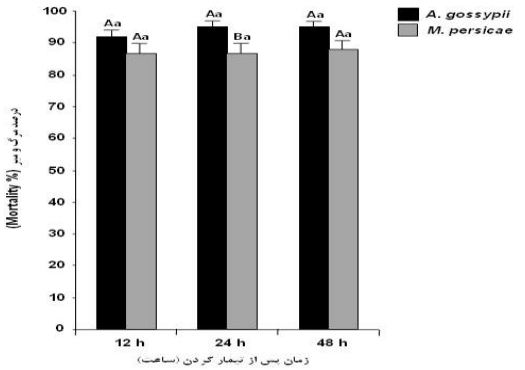
[1] Leaf disc
[2] Topical test
[3] Sampler
[4] LC_{50}

گونه اختلاف معنی داری در میانگین درصد تلفات شته جالیز و شته سبز هلو مشاهده نشد ($p \leq 0.005$). در صورتی‌که پس از ۲۴ درصد تلفات در تیمار شته جالیز با میانگین ۹۵ درصد، به طور معنی داری بیشتر از شته سبز هلو بود ($p \leq 0.005$).

درصد تلفات ایجاد شده در شته سبز هلو توسط عصاره اتانولی میوه گیاه زیتون تلخ پس از ۴۸ ساعت ۸۸ درصد محاسبه گردید که باز هم درصد تلفات ایجاد شده در شته جالیز به طور معنی داری بیشتر از شته سبز هلو بود ($p \leq 0.005$). در تلفات هر یک از تیمارهای مربوط به پوره های ۴-۳ روزه شته جالیز و شته سبز هلو پس از گذشت ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت با یک‌دیگر اختلاف معنی داری مشاهده نشد ($p \leq 0.005$).

میزان LC_{50} عصاره اتانولی گیاه زیتون تلخ برای شته جالیز و شته سبز هلو پس از ۲۴ ساعت به ترتیب ۱۳/۷ و ۱۵/۰ میکرولیتر در میلی لیتر محاسبه شد (جدول ۱). مقادیر LC_{16} و LC_{84} برای شته جالیز پس از ۲۴ ساعت به ترتیب ۱۹/۹- و ۴۷/۲ میکرولیتر بر میلی لیتر و برای شته سبز هلو پس از ۲۴ ساعت به ترتیب ۱۹/۸- و ۴۹/۸ میکرولیتر بر میلی لیتر محاسبه شد. نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر نشان می دهد که عصاره زیتون تلخ با تأثیر روی پوره های ۴-۳ روزه شته جالیز و شته سبز هلو می‌تواند این آفات را کنترل نماید.

زیتون تلخ به دلیل داشتن لیمونوئیدهای فراوان قدرت کنترل آفات را داشته و خواص حشره کشی آن به اثبات رسیده است (Chung Huang *et al*., 1996). تحقیقات مختلف در این زمینه روی آفات دیگر صورت گرفته است. به طور مثال، تأثیر عصاره اتانولی گیاه زیتون تلخ بر روی آفت سرخوطومی برنج[1] نشان داد که این عصاره می تواند ۶۱/۲ درصد تلفات در این آفت ایجاد کند (Panji, 1946). علاوه براین، تأثیر این عصاره سبب ۶۰ تا ۷۸/۳ درصد تلفات روی لارو سفیده بزرگ کلم[2] می شود (Saljoqi *et al*., 2006).



شکل ۱. میانگین تلفات ایجاد شده توسط عصاره اتانولی زیتون تلخ روی پوره های ۳ یا ۴ روزه شته جالیز و شته سبز هلو پس از ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت

* میانگین هایی که دارای حروف مشابه هستند، بر اساس آزمون Tukey در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی دار ندارند.
* شاخص مقایسه میانگین ها با حروف بزرگ لاتین: مقایسه بین اثر عصاره گیاهی بر روی شته های مختلف مورد آزمایش
* شاخص مقایسه میانگین ها با حروف کوچک لاتین: مقایسه بین اثر عصاره گیاهی در زمان های مختلف بر روی شته مورد آزمایش ثابت

جدول ۱. مقادیر LC_{50} محاسبه شده عصاره اتانولی گیاه زیتون تلخ برای شته جالیز و شته سبز هلو پس از ۲۴ ساعت

غلظت µl/ml	تعدادحشره	درصد تلفات اصلاح شده بعد از ۲۴ ساعت برای	
		شته جالیز	شته سبز هلو
5	20	26.7	30
10	20	53.3	35
20	20	60	55
30	20	66.6	80
40	20	80	90
50	20	95	95
60	20	90	85
70	20	100	100
80	20	95	90
90	20	100	100
100	20	100	100
	LC_{50}	13.7	5.0
	LC_{16}	-19.9	-19.8
	LC_{84}	47.2	49.8

[1] (L.) (Coleoptera: Curculionidae) *Sitophilus oryzae*

[2] (Lepidoptera: Pieridae) *Pieris brassicae*

در مورد عدم اختلاف معنی دار در تأثیر عصاره اتانولی دانه گیاه زیتون تلخ بر روی پوره های ۴-۳ روزه شته جالیز و شته سبز هلو پس از گذشت ۱۲، ۲۴ و ۴۸ ساعت، این فرضیه می تواند مطرح شود که ترکیب موجود در این عصاره تقریباً دارای اثر ضربه ای است و با گذشت زمان تأثیر آن افزایش چندانی نخواهد یافت.

۴. نتیجه گیری

استفاده از حشره‌کش‌های گیاهی دارای اثرات سوء زیست محیطی اندکی نسبت به سموم متداول آفت‌کش بوده و سمیت کمتری برای انسان و پستانداران به دنبال دارند. هم‌چنین با توجه به دوام کم آن‌ها در طبیعت و سادگی کاربرد می توانند جایگزین مناسبی برای سموم شیمیایی در کنترل آفاتی نظیر شته ها باشند. لذا با انجام تحقیقات بیشتر می‌توان امیدوار بود که در آینده بتوان با استحصال ماده موثر گیاه زیتون تلخ امکان به کارگیری یک حشره کش گیاهی در مدیریت تلفیقی آفات برای کاهش مصرف سم به وجود آید.

۵. منابع

Abbott, W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267.

Carvalho, S.M. and Ferreira, D.T. 1990. Santa-Bárbara contra vaquinha. *Ciência Hoje*, 11: 65-67.

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.

Clements, K.M. Sorenson, C.E. Wiegman, B.M. and Roe, M.R. 2000. Insecticide resistance in the *Myzus persicae* complex (Homoptera: Aphididae) with emphasis on tobacco pest management. *Reviews in Toxicology*, 3: 1-23.

Daoubi, M. Deligeorgopoulou, A. Macias-Sanchez, A.J. Hermamdez-Galan, R. Hitchcock, P.B. Hanson, J.R. and Collado, I.G. 2005. Antifungal activity and biotransformation of diisophorone by Botrytiscinerea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 6035-6039.

Foster, S.P. Denholm, I. and Devonshire, A.L. 2000. The ups and downs of insecticide resistance in peach-potato aphids (*Myzus persicae*) in the UK. *Crop Protection*, 19: 873-879.

Georges, K. Jayaprakasam, B. Dalavoy, S.S. and Nair, M.G. 2007. Pest-managing activities of plant extracts and anthraquinones from *Cassia nigricans* from Burkina Faso. *Biosource Technology*, 99(6): 2037-2045.

Kim, H.G. Jeon, J.H. Kim, M.K. and Lee, H.S. 2005. Pharmacological ectsofasaron aldehyde isolated from Acorusgram in eusrhizome. *Food Science and Biotechnology*, 14(5): 685-688.

Levinson, H. and Levinson, A. 1998. Control of stored food pests in the ancient orient and classical antiquity. *Journal of Applied Entomology*, 22: 127-144.

Liu, C.H. Mishra, A.K. Tan, R.X. Tang, C. Yang, H. and Shen, Y.F. 2005. Repellent and insecticidal activities of essential oils from *Artemisia princeps* and *Cinnamomum camphora* and their effect on seed germination of wheat and broad bean. *Biosource Technology*, 97(15): 1969-1973.

Panji, H.R. 1946. Some observations on the insecticidal activities of the fruit of dark *Melia azedarach* L. *Research Bulletin of the Punjab University Science*, 15, 4345-46.

Raja, N. Albert, S. Ignacimuthu, S. and Dorn, S. 2001. Effect of plant volatile oils in protecting stored cowpea *Vigna unguiculata* (L.) Walpers against *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae) infestation. *Journal of Stored Products Research*, 37: 127-132.

Reed, D.K. Warthen, J.R. Uebel, E.C. and Reed, G.L. 1982. Effects of two triperpenoids from neem on feeding by cucumber beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, 75: 1109-1113.

Saljoqi, A.U.R. Khan, M. Khan, S.A. and Rehman, S. 2006. Effects of six plant extracts on Rice Weevil, *Sitophilus oryzae* L. in the stored wheat grains. *Journal of Agriculture and Biological Sciences*, 1 (4): 1-5.

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.

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.