دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اراک
شاپا ٤٦٦٨-٢٠٠٨
http://jer.iau-arak.ac.ir

فصلنامه تخصصی تحقیقات حشره‌شناسی
(علمی- پژوهشی)
جلد ۱۰ ، شماره۲، سال ۱۳۹۷، (۹۹-۸۹)

بررسی ترکیب شیمیایی و فعالیت حشره‌کشی اسانس پونه کوهی (*Mentha longifolia* L.) بر شته جالیز (*Aphis gossypii* Glover)

مهران زمانی وردی[۱]، حبیب عباسی پور[۲]، سمیرا گودرزوند چگینی[۳]*

۱- دانش‌آموخته گروه گیاه‌پزشکی دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۲- استاد، گروه گیاه‌پزشکی دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۳- دانش‌آموخته، گروه گیاه‌پزشکی دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

چکیده

شته جالیز، *Aphis gossypii* Glover یک گونه پلی‌فاژ و همه‌جازی است که به‌صورت گسترده در مناطق معتدل و گرمسیر دنیا انتشار دارد. در حال حاضر برای مبارزه با این آفت از سموم شیمیایی پرخطر که دارای اثرات زیست‌محیطی هستند و روی موجودات غیرهدف هم تاثیر می‌گذارند، استفاده می‌شود. بنابراین برای مقابله با این وضعیت باید به فکر راهکارها و جایگزینی مناسب و ایمن برای مبارزه با این آفت باشیم. در این تحقیق ترکیب شیمیایی و سمیت تنفسی اسانس گیاه پونه کوهی، *Mentha longifolia* L. روی مراحل پورگی و بالغ شته جالیز مورد بررسی قرار گرفت. اسانس گیاه به روش تقطیر با آب مقطر و با اسانس‌گیر شیشه‌ای (کلونجر) طی مدت زمان ۳ ساعت تهیه شد و شناسایی و میزان این اسانس با استفاده از روش گاز کروماتوگرافی جرمی انجام شد. آزمایشات زیست‌سنجی در قالب طرح پایه کاملا تصادفی با پنج غلظت (۰/۱ تا ۰/۹ میکرولیتر بر هوا) و در سه تکرار و برای هر تکرار ۱۰ نمونه پوره سن آخر و شته بالغ به‌طور مجزا انجام گردید. همچنین اثر بازدارندگی پوره‌زایی با استفاده از غلظت زیرکشنده ۵۰٪ علیه فرم شته موسس انجام گردید. نتایج بیانگر سمیت تنفسی بالای اسانس پونه کوهی برای شته جالیز بود. مواد اصلی تشکیل‌دهنده اسانس پونه کوهی عبارت از Pulegone (٤٤/٧٥٪)، Menthone (٣٠/٨٠٪)، 1,8- Cineole (٥/٤٩٪)، Cyclohexanone, 5- methyl-2-(1-methylethyl)- (2R-cis) (٢/٠٦٪) بودند. میزان LC_{50} اسانس پونه کوهی بر پوره‌های شته جالیز برابر با ۰/۰۵۹ و بر شته‌های بالغ برابر با ۰۰۸۱/ میکرولیتر بر لیتر هوا محاسبه شد. با افزایش غلظت اسانس، میزان مرگ‌ومیر هم افزایش پیدا کرد. همچنین میزان بازدارندگی پوره‌زایی اسانس پونه کوهی در غلظت زیرکشنده LC_{25} (۰/۰۲ میکرولیتر بر لیتر هوا) برابر با ۳/٦٨±٨٠/٠٣ درصد محاسبه گردید. به‌نظر می‌رسد استفاده از اسانس فوق خصوصا در شرایط گلخانه‌ای می‌تواند توصیه گردد.

واژه‌های کلیدی: پونه کوهی، شته جالیز، سمیت تنفسی، بازدارندگی پوره‌زایی

* نویسنده رابط، پست الکترونیکی: *habbasipour@yahoo.com*
تاریخ دریافت مقاله:۹٦/۱۲/۲۷ – تاریخ پذیرش مقاله: ۹۷/٦/۱۹

مقدمه

شته‌ها از دیر باز به‌عنوان آفات مهم محصولات کشاورزی مطرح بوده‌اند. شته جالیز *Aphis gossypii*(Hem. Aphididae) یک گونه چندخوار و همه‌جازی است که به‌صورت گسترده در مناطق معتدل و گرمسیر انتشار دارد (Wool *et al*., 1995). این شته از آفات پنبه، سبزی‌ها وگیاهان زینتی در مزرعه و گلخانه می‌باشد (Deguine *et al*., 1994). شته جالیز یکی از مخربترین شته‌هاست که حداقل به ٦٤ گونه از گیاهان مهم از نظر اقتصادی شامل پنبه و گیاهان مختلف از خانواده کدوییان (مانند کدوتنبل، خیار، کدوسبز و طالبی) حمله می‌کند. تغذیه شته جالیز از گیاه منجر به کاهش قابل توجه عملکرد و زیان اقتصادی می‌شود. شته جالیز عمدتا از شیره گیاهی برگ و ساقه تغذیه می‌کند. اما در تراکم‌های زیاد از همه قسمت‌های گیاه، به‌جز ساختارهای تولید مثلی و ریشه، تغذیه می‌کند (Blackman, 2004). خسارت غیرمستقیم شته جالیز از طریق ترشح عسلک و انتقال ویروس می‌باشد. مهم‌ترین خسارت اقتصادی شته جالیز، توانایی آن در انتقال بیش از ٦٠ بیماری ویروسی گیاه است. میزان خسارت این شته در گلخانه‌ها بعد از سفیدبالک گلخانه در مرتبه دوم اهمیت قرار دارد و روی خیار خسارت قابل توجهی ایجاد می‌کند (Isman, 2000).

با توجه به اهمیت و خسارت شته جالیز روش‌های مختلفی برای کنترل این آفت در مناطق مختلف جهان بررسی شده است. در حال حاضر بیشتر کشورها برای از بین بردن این آفت از سموم شیمیایی استفاده می‌کنند. باید بیان داشت که سمیت آفت‌کش‌ها به‌صورت یک مشکل اساسی زیست‌محیطی درآمده است. بسیاری از آفتکش‌های مدرن تقریبا زنده‌کش‌های عمومی هستند، یعنی برای انسان و بسیاری از موجودات غیرهدف نیز سمی هستند. Pimentel و همکاران (١٩٨٠) برآورد کرده‌اند که هزینه سالیانه مشکلات زیست محیطی و اجتماعی ناشی از استعمال آفت‌کش‌ها فقط در آمریکا حداقل ٣ میلیارد دلار می‌باشد. سرعت بالای رشد و نمو، نرخ بالای افزایش جمعیت، بکرزایی، زنده زایی و چندشکلی در شته‌ها باعث بروز مقاومت سریع شته‌ها به آفت‌کش‌های مختلف می‌شود به‌طوری‌که استفاده از آفت‌کش‌ها را با محدودیت مواجه کرده است (Saldo & Szpyrka, 2009).

اسانس‌های گیاهی یکی از بهترین جایگزین‌های سموم شیمیایی محسوب می‌شوند (Koul *et al*., 2008). روغن‌های گیاهی به‌وسیله اجزای معطر و آلیفاتیک در کوتیکول مومی آفت نفوذ کرده و در فعالیت انتقال دهنده‌های عصبی و هورمون‌های رشد و آنزیم‌های گوارشی آفت اختلال ایجاد می‌کنند (Choi *et al*., 2003). متخصصین جهت یافتن راه‌های سالم‌تر و مطمئن‌تر به‌منظور مقابله با خسارت ناشی از آفات و به‌منظور امکان استفاده از ترکیب‌های طبیعی، تحقیقات گسترده‌ای را آغاز کرده‌اند. تاکنون بررسی‌های اندکی در مورد اثر اسانس گیاهان تیره نعناعیان بر شته‌ها انجام گرفته است. طی بررسی‌های انجام شده سمیت تماسی اسانس اکلیل کوهی و (*Schinus areira* L., 1753) بر شته *Metopolophium dirhodum* (Walker, 1849) (Chopa & Descamps, 2012)، سمیت تماسی اسانس‌های پونه، نعناع فلفلی، رازیانه و خیار بر شته *Lipaphis pseudobrassicae* (Sampson *et al*., 2005) و سمیت تماسی اسانس‌های اسطوخودوس و سنبل هندی بر شته *Hyadaphis foeniculi* (Abramson *et al*., 2006) انجام شده است.

بررسی Toloza و همکاران (٢٠٠٦)، روی میزان دورکنندگی و اثر حشره‌کشی پنج اسانس گیاهی از جمله منتول روی شته مومی کلم (*Brevicoryne brassicae* L.) نشان می‌دهد که با افزایش غلظت و زمان، میزان مرگ‌ومیر افزایش می‌یابد. هم‌چنین نشان داده شده که اسانس ترخون با LC_{50} = ٦/٢٥ میکرولیتر بر لیتر هوا در مقایسه با سایر اسانس‌ها شامل دارچین، رازیانه، پرتقال (میوه) و مرزه اثر بیشتری روی شته مومی کلم داشته است و البته مشخص گردید که هر پنج اسانس روی مرگ‌ومیر این آفت موثرند. بیشترین میزان سمیت در مورد اسانس ترخون و کمترین میزان سمیت برای اسانس مرزه به

ترتیب با LC50 معادل ٦/٢٥ و ٧٥/١١ میکرولیتر بر لیتر هوا به‌دست آمده است و ضمنا در این تحقیق ثابت شد که سمیت اسانس‌های ترخون و دارچین به‌طور معنی‌داری بیشتر از سمیت اسانس‌های پرتقال و مرزه روی آفت فوق بودند (Hasanshahi *et al*., 2012).

اگرچه تاکنون تاثیر نزدیک به هزار گیاه روی حشرات بررسی شده است، ولی فقط تعداد اندکی از آن‌ها به‌طور عملی مورد استفاده قرار گرفته‌اند. با توجه به اتخاذ استراتژی‌های جدید در کنترل شته‌ها، اسانس‌های گیاهی با خواص بازدارندگی و حشره‌کشی باید مورد بررسی قرار گیرند. بر این اساس هدف اصلی از انجام این تحقیق بررسی سمیت تماسی اسانس پونه کوهی (*Mentha logifolia*) در کنترل مراحل پورگی و بالغ شته جالیز و همچنین بازدارندگی پوره‌زایی بود.

مواد و روش‌ها

تهیه اسانس پونه کوهی

گیاه پونه کوهی (*Mentha longifolia* L.) از حاشیه مزارع شهرستان خرم‌آباد استان لرستان در تابستان ۱۳۹۵ جمع‌آوری گردید. گیاهان جمع‌آوری شده توسط متخصصین بخش تاکسونومی گروه علوم باغبانی دانشگاه لرستان شناسایی دقیق علمی گردیدند. قسمت‌های مختلف اندام‌های هوایی گیاه (شامل برگ، ساقه و گل) در دمای اتاق به مدت سه روز خشک شدند. سپس، گیاه خشک شده آسیاب شد و ذراتی که از الک با مش ۲۰ عبور کردند برای اسانس‌گیری استفاده شدند. برای اسانس‌گیری، از دستگاه اسانس‌گیر شیشه ای (کلونجر) و روش تقطیر با آب استفاده شد. در هر بار اسانس‌گیری، ۱۰۰ گرم از پودر گیاه خرد شده در بالون یک لیتری ریخته و به آن آب مقطر اضافه شد تا دو سوم دستگاه پر شد. پس از ۳ ساعت، اسانس حاصل جمع‌آوری و با استفاده از یک گرم سولفات سدیم آبگیری انجام شد. سپس اسانس در میکروتیوب‌های ۲ میلی‌لیتری با پوشش ورقه آلومینیومی در یخچال در دمای ٤+ و دور از نور تا زمان استفاده در آزمایشات نگهداری شد.

آنالیز اسانس پونه کوهی

جهت شناسایی ترکیبات شیمیایی اسانس گیاه مورد مطالعه، از دستگاه GC/MS مدل 7890B شرکت Agilent مجهز به ستون مویین HP-5MS (طول ۳۰ m، قطر داخلی ۲۵۰ nm و ضخامت فاز ساکن ۰/۲۵ µm) استفاده شد. مشخصات دیگر دستگاه به‌صورت زیر بود: گاز حامل He، با سرعت جریان ۱/۱ میلی‌لیتر در ثانیه؛ دمای قسمت تزریق ۲۵۰ درجه سلسیوس و Split (۱ به ۱۰۰) محل تزریق بود. دمای قسمت تزریق و دتکتور به‌ترتیب ۲۵۰ و ۲۸۰ درجه سلسیوس تنظیم شد. درجه حرارت آون در دمای ٦٠ درجه سلسیوس قرار گرفت و سپس از ٦٠ تا ۲۵۰ درجه سلسیوس با سرعت ۵ درجه سلسیوس در هر دقیقه برنامه‌ریزی شد. انرژی یونیزاسیون در طیف جرمی ۷۰ eV و زمان رویش ۱ s و محدوده جرمی ۵۰۰-۵۰ amu بود. شناسایی طیف‌ها با کمک شاخص‌های بازداری آن‌ها و مقایسه با مقادیر شاخص‌های بازداری ترکیبات استاندارد که در منابع مختلف منتشر گردید انجام شد. محاسبات کمی به روش نرمال کردن سطح طیف (غلظت هر ترکیب برابر است با سطح پیک مربوط به آن ترکیب تقسیم بر مجموع سطوح متناظر با ترکیبات دیگر) محاسبه شد.

پرورش شته جالیز

برای انجام آزمایش‌ها و پرورش شته جالیز از از بذر رقم نگین خیارگلخانه‌ای (*Cucumis sativus*) استفاده شد. بذور این گیاه در ظروف کوچک مخصوص نشاء کاشته شد و پس از حدود سه هفته (مرحله ۵-٤ برگی)، نشاها به‌طور تک تک به گلخانه واقع در مرکز آموزش فنی و حرفه‌ای خرم‌آباد منتقل شدند و برای انجام آزمایش‌ها مورد استفاده قرار گرفتند. به‌منظور پرورش و ایجاد کلنی شته جالیز، از گیاهان خیار در مرحله ۵-٤ برگی (دوهفته) استفاده شد که در گلدان‌های یکبار مصرف پلاستیکی به قطر ۱۲ و ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر که با مخلوطی از پیت ماس، پرلیت و کوکوپیت(به‌ترتیب به نسبت ۳:۱:۷) پرشده، کاشته شده بودند. این گلدان‌ها در قفس‌های فلزی به ابعاد ۷۰×۷۰×۱۰۰ سانتی‌متر، محصور با پارچه‌های تور حریر منتقل شده و نگه‌داری شدند. کلنی شته جالیز در شرایط استاندارد گلخانه‌ای و در دمای ۵±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ٦۵±۵ درصد و دوره نوری ۱٦ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی پرورش داده شد.

آزمایشات زیست‌سنجی

برای انجام آزمایش‌های سمیت تنفسی، از روش Tripathi و همکاران (۲۰۰۰) با کمی تغییر استفاده شد. تعیین میزان سمیت اسانس پونه کوهی روی مراحل بالغ و پورگی انجام شد. برای انجام آزمایشات، از ظروف شیشه‌ای ۲۵۰ میلی‌لیتری و پتری‌دیش‌های با قطر ٦ سانتی‌متر استفاده شد. برگ‌های خیار روی یک لایه نازکی از آگار ۱/۵ درصد در پتری قرار داده شدند. ده عدد شته همسن (بالغ/پوره) توسط قلم‌مو به روی برگ‌ها انتقال داده شد. آزمایش‌ها در سه تکرار برای هر مرحله رشدی شته انجام شد. سپس، روی پتری‌ها با توری ظریفی پوشانده شد تا از برخورد احتمالی حشرات با اسانس جلوگیری شود. پتری‌ها به قسمت داخلی درب شیشه‌های ۲۵۰ میلی لیتری چسبانده شد. در آزمایش مقدماتی، ابتدا، دو یا سه غلظت ابتدایی انتخاب گردید، این غلظت‌ها به‌عنوان غلظت‌های حد بالا و پایین انتخاب شدند که منجر به تلفاتی بین ۵ تا ۹۵ درصد گردید. سپس غلظت‌های اصلی اسانس با فواصل لگاریتمی بین حداقل و حداکثر غلظت آزمایش گردید و در نهایت غلظت‌های (۰/۱، ۰/۳، ۰/۵، ۰/۷ و ۰/۹ میکرولیتر بر لیتر هوا) از اسانس توسط میکروپیپت روی تکه‌ای پنبه قرار داده شد و در کف ظروف شیشه‌ای تعبیه شد. تیمار شاهد شامل شرایط مشابه، اما بدون کاربرد اسانس بود. جهت جلوگیری از خروج بخار اسانس به بیرون، اطراف درپوش با نوار پارافیلم محکم بسته شد. در آزمایش‌های مقدماتی، تفاوتی در میزان مرگ و میر پس از ۲٤ و ٤۸ ساعت مشاهده نشد. بنابراین، زمان مناسب ۲٤ ساعت تعیین شد و مرگ و میر بررسی گردید. ملاک تشخیص حشرات مرده این بود که اگر شاخک‌ها و پاها به‌وسیله سوزن تحریک می‌شد، هیچ عکس‌العملی دیده نمی-شد.

اثر بازدارندگی پوره‌زایی اسانس پونه کوهی

بررسی اثر بازدارندگی پوره‌زایی در غلظت زیرکشنده، (LC_{25}=0.02 میکرولیتر بر لیتر هوا) که برای اسانس پونه کوهی از آزمایشات قبلی محاسبه شد، انجام گردید. برای این آزمایش از یک شته بالغ بکرزا و جمعا ۱۰ تکرار استفاده گردید. نتایج روزانه تا ۷۲ ساعت بعد از تیمار ثبت شد. بعد از هر شمارش روزانه، پوره‌های گذاشته شده از ظرف مورد نظر خارج شدند. نرخ بازدارندگی پوره زایی با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید (Sahaf & Moharramipour, 2009).

$$\text{Nymph production deterent}=\left(1-\frac{NNt}{NNc}\right)\times 100$$

NN_t=تعداد پوره در تیمار NN_c= تعداد پوره در شاهد

تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای به‌دست آوردن مقادیر غلظت‌های کشنده LC_{50} و LC_{90} و حدود اطمینان آن‌ها از آنالیز پروبیت نرم‌افزار SAS (SAS Institute, 2007) استفاده شد. آزمایش‌ها در قالب طرح کاملا تصادفی و داده‌های بازدارندگی پوره زایی با استفاده روش ANOVA در سطح احتمال ۱٪ و بعد از نرمال شدن مقایسه شد. مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام گردید.

نتایج

ترکیب شیمیایی اسانس پونه کوهی

طبق نتایج حاصل از GC-MS تعداد ٤٤ ترکیب شیمیایی فرار در اسانس پونه کوهی *M. longifolia* تشکیل‌دهنده ۱۰۰٪ شناسایی شدند که ۱۵ ترکیب آن‌ها مهم‌تر بودند و ۸۷/۹۷٪ اجزاء اسانس را تشکیل می‌دهند (جدول ۱). ترکیبات Pulegone، Menthone، 1,8- Cineole1 و Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, (2R-cis)- به‌ترتیب ٤٤/۷۵، ۳۰/۸۰، ۵/٤۹ و ۲/۰٦ درصد بیش‌ترین حجم اسانس را به خود اختصاص داده‌اند.

جدول ۱- ترکیبات فرار شناسایی شده در اسانس پونه کوهی، *Mentha longifolia* L.

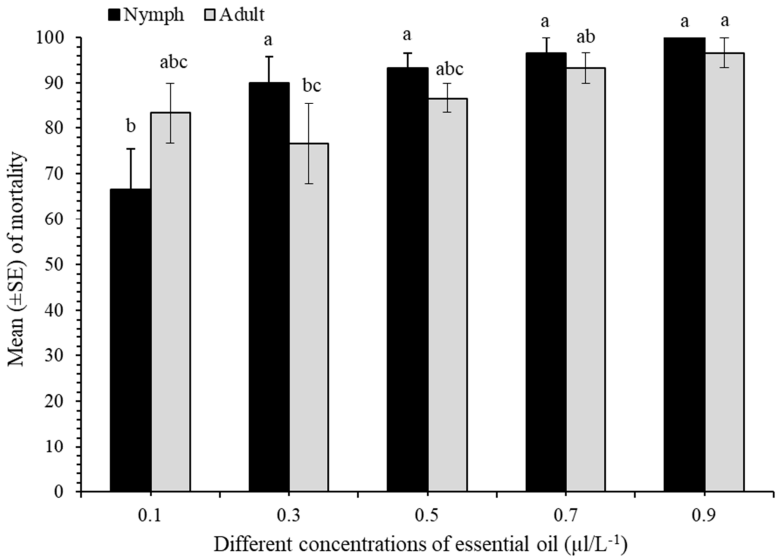
Table 1- Identified composition of essential oil of the wild mint, *Mentha longifolia* L.

Compound name	Deterrent Index	Start Time (Minute)	End Time (Minute)	% Amount
1R α-Pinene	4.768	4.713	4.838	0.56
Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylen	5.525	5.478	5.571	0.54
β-Pinene	5.618	5.571	5.688	0.86
β-Myrcene	5.837	5.798	5.868	0.26
Benzene, 1-methyl-2-(1-methyleth	6.632	6.57	6.687	0.32
D-Limonene	6.734	6.687	6.757	0.33
1,8- Cineole1	6.827	6.757	6.866	5.49
Menthone	10.073	9.73	10.136	30.80
Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, (2R-cis)-	10.221	10.136	10.323	2.06
Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, (1α,2β,5α)-	10.377	10.323	10.401	0.40
Pulegone	12.429	12.016	12.468	44.75
2-Cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(	12.609	12.546	12.663	1.00
3-Methyl-4-isopropylphenol	13.717	13.654	13.771	0.31
Caryophyllene	16.806	16.736	16.962	0.25
Caryophyllene oxide	20.754	20.645	20.879	0.04

سمیت تدخینی

نتایج حاصل از اثر تدخینی غلظت‌های مختلف اسانس بر میزان مرگ‌ومیر مراحل مختلف رشدی شته نشان داد که اسانس پونه کوهی باعث مرگ‌ومیر قابل ملاحظه‌ای در جمعیت شته جالیز بعد از ٢٤ ساعت می‌شود. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت و زمان، میزان مرگ‌ومیر پوره‌ها ($F=۸/۱٦$ ،df =۸ ،$P<۰/۰۱$) و حشرات بالغ ($F=٤/۱۱$ ،df=۸ ،$P<۰/۰۱$) نیز به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد (شکل ۱). فعالیت پوره کشی به‌ترتیب با غلظت‌های کشنده LC_{50}=۰/۰۸۱ و LC_{90}=۰/۳۰۵ و بالغ‌کشی با غلظت‌های کشنده LC_{50}=۰/۰۰۸۱ و LC_{90}=۰/٥٦۰ بود (جدول ۲). میزان مرگ‌ومیر پوره‌ها و حشرات بالغ شته جالیز، *A. gossypii* در بالاترین غلظت (۰/۹ میکرولیتر بر لیتر هوا) اسانس پونه کوهی به‌ترتیب برابر با

۱۰۰ و ۹۶/۶۷ درصد بود. در پایین‌ترین غلظت (۰/۱ میکرولیتر بر لیتر هوا) اسانس، میزان مرگ‌ومیر پوره‌ها و حشرات بالغ شته جالیز، *A. gossypii* به‌ترتیب برابر با ۶۶/۶۷ و ۸۳/۳۳ درصد بود.



شکل ۱- درصد مرگ‌ومیر (±خطای استاندارد) مراحل پورگی و بالغ شته جالیز، *Aphis gossypii* در غلظت‌های مختلف اسانس گیاه پونه کوهی، *Mentha longifolia*. حروف مشابه ستون‌ها نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار است (آزمون چند دامنه‌ای دانکن، α<۰/۰۵)

Fig 1- Percentage of mortality (mean±SE) of nymphal and adult stages of the melon aphid, *Aphis gossypii* in different concentrations of the wild mint, *Mentha longifolia* essential oil. Similar letters columns indicating no significant difference (Duncan Multiple Range Test, α=0.05)

جدول ۲- مقادیر غلظت کشنده ۵۰ و ۹۰ درصد (LC_{50} و LC_{90}) اسانس گیاه پونه کوهی، *Mentha longifolia* بر مراحل بالغ و پوره شته جالیز، *Aphis gossypii*

Table 2- Lethal concentrations values of 50 and 90% (LC_{50} and LC_{90}) of the wild mint, *Mentha longifolia* essential oil on the nymphal and adult stages of the melon aphid, *Aphis gossypii*

Growth stage	LC_{50} (µl/L air)	Confidence limit	χ^2 (df)	Intercept ± SE	Slope ± SE	Sig.
Adult	0.059	(0.015-0.103)	4.12 (3)	1.46±0.22	0.70±0.38	0.25
Nymph	0.081	(0.035-0.115)	0.81 (3)	2.21±0.31	1.80±0.43	0.85

اثر بازدارندگی پوره‌زایی اسانس پونه کوهی

نتایج حاصل از اثر غلظت زیرکشنده اسانس پونه کوهی بر میزان پوره‌زایی و بازدارندگی پوره زایی فرم بکرزای شته جالیز، *A. gossypii* در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تفاوت معنی‌داری در میزان پوره‌زایی در زمان‌های مختلف ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت وجود دارد. (F=۱۳/۶۱ ،df=۳ ،P<۰/۰۱). همچنین با افزایش زمان بعد از تیمار، تعداد پوره تولید شده توسط شته بکرزا کاهش یافت. مقایسه میانگین پوره تولید شده در مقایسه با شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان داد (جدول ۳).

بر اساس آنالیز واریانس، تفاوت معنی‌داری در میزان بازدارندگی پوره زایی در زمان‌های مختلف ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت وجود دارد (F=۱۴/۳۶ ،df=۳ ،P<۰/۰۱). همچنین با افزایش زمان بعد از تیمار، درصد بازدارندگی پوره زایی در مقایسه با

شاهد تفاوت معنی‌داری را نشان داد (جدول ۳). در مجموع میزان بازدارندگی پوره زایی اسانس پونه کوهی برابر با ۸۰/۰۳±۳/٦۸ درصد بدست آمد.

جدول ۳- مقادیر میانگین (± خطای استاندارد) میزان پوره زایی و بازدارندگی پوره زایی شته جالیز، *Aphis gossypii* تحت تاثیر اسانس گیاه پونه کوهی، *Mentha longifolia*

Table 3- Mean (±SE) values of nymph production and nymph production deterrent of the melon aphid, *Aphis gossypii* under effect of the wild mint, *Mentha longifolia* essential oil

Time (hour)	The wild mint essential oil		Control
	Nymph production	Numph production deterrent	
24	0.9±0.28 a	82.0±5.54 a	5.0±0.0 a
48	1.3±0.33 b	81.43±4.79 b	7.0±0.0 b
72	1.0±0.49 c	76.67±8.68 c	3.0±0.0 c
Total	1.07±0.21	80.03±3.68	5.0±0.32

* Mean comparison was carried out in each column. Similar letters in columns indicating no significant difference (Duncan Multiple Range Test, P< 0.05)

بحث

در این پژوهش، مشخص شد که با توجه به آنالیز GC-MS بیشتر ترکیبات فرار شناسایی شده در اسانس‌های گیاهی، مونوترپن بوده و دارای قابلیت حشره‌کشی، سمیت تنفسی، دورکنندگی و ضدتغذیه‌ای برای حشرات هستند (Papachristos *et al*., 2004). در نتیجه فعالیت حشره‌کشی اسانس پونه کوهی در مطالعه ما ممکن است به‌دلیل دارا بودن ترکیبات اصلی مونوترپنی در اسانس مورد آزمایش باشد. به دلیل وجود مونوترپن‌هایی مثل Menthone، α-pinene، 1,8-cineole و Pulegone، اسانس پونه کوهی می‌تواند جایگزین مناسبی برای حشره‌کش‌های شیمیایی بوده و با خواص حشره‌کشی، کمترین خطر را برای سلامت انسان و محیط زیست داشته باشد (Papachristos *et al*., 2004; Magdy & Samir, 2008). مطالعات Mkaddem و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که ترکیبات اصلی اسانس پونه کوهی شامل pulegone (٥٤/٤١٪)، isomenthone (۱۲/۰۲٪)، 1,8-cineole (۷/٤۱٪)، borneol (٦/۸٥٪) و piperitenone oxide (۳/۱۹٪) هستند که تقریبا مشابه این ترکیبات با مقادیر متفاوت هم در تحقیق حاضر شناسایی گردید. در مطالعه دیگری مجموعا ۳۱ ترکیب در اسانس پونه کوهی شناسایی شدند که مهمترین آن‌ها را Menthone (۵۰/۹٪)، pulegone (۱۹/۳٪) و 1,8-cineole (۱۱/۹٪) را تشکیل می‌دادند (Oyedeji & Afolayan, 2006). این تفاوت در ترکیب شیمیایی اسانس پونه کوهی می‌تواند مربوط به وقوع کیمیوتیپ، موقعیت جغرافیایی، فصل و زمان نمونه‌برداری، مرحله رشدی، اقلیم کشت و شرایط دیگر باشد که روی فعالیت های بیولوژیکی اثر می‌گذارند (Runyoro *et al*., 2010).

در این مطالعه، سمیت تدخینی اسانس پونه کوهی بر شته جالیز در ارتباط با مرحله رشدی شته متفاوت بود و با افزایش غلظت، مرگ‌ومیر افزایش یافت. مطالعات قبلی نشان داده که مرحله پورگی نسبت به حشره بالغ حساس‌تر می‌باشد (Riazi *et al*., 2015). البته در این مطالعه بدلیل کاربرد مقادیر بسیار کم اسانس پونه کوهی، میزان مرگ‌ومیر پوره‌ها می‌تواند قابل مقایسه با حشرات بالغ باشد. همچنین خاصیت حشره‌کشی اسانس پونه کوهی هم در مطالعات متعدد همانند تحقیق حاضر به اثبات رسیده است (Pavela, 2005; Saljoqi *et al*., 2006). مطالعه خانی و اصغری (۲۰۱۲) نشان داد که غلظت کشنده ۵۰٪ (LC_{50}) اسانس پونه کوهی برابر با ۱۳/۰۵ میکرولیتر بر لیتر هوا می‌باشد (Khani & Asghari, 2012). سمیت اسانس برگ پونه کوهی توسط Odeyemi و همکاران (۲۰۰۸) بر علیه شپشه ذرت، *Sitophilus zeamais* مورد بررسی قرار گرفت و غلظت ۰/۵۰ میکرولیتر در گرم ذرت باعث ۱۰۰٪ مرگ‌ومیر گردید.

در مطالعه Riazi و همکاران (۲۰۱۵) مقادیر غلظت کشنده ۵۰ درصد (LC_{50}) اسانس گیاه نعناع (*Mentha spicata* Linn) بر مراحل پوره سن یک، پوره سن سه و بالغ شته جالیز به‌ترتیب برابر با ۲/۷۰، ۳/٤۱ و ٥/۲٤ میکرولیتر بر لیتر هوا به‌دست آمد. در حالی‌که در تحقیق حاضر اسانس گیاه پونه کوهی در مقدار بسیار کمتر و با غلظت کشنده (LC_{50}) بر پوره‌های شته جالیز برابر با ۰/۰٥۹ میکرولیتر بر لیتر هوا پس از ۲٤ ساعت باعث مرگ و میر بالایی گردید. این مقدار برای حشره بالغ شته جالیز برابر با ۰/۰۰۸۱ میکرولیتر بر لیتر هوا محاسبه گردید. برخی محققین اثر اسانس‌های برگ و پوست گیاه *Laurelia sempervirens* (Ruiz & Pav.)Tul. و گیاه *Drimys winteri* J.R. Forst. & G. Forst. را روی شته *Acyrthosiphon pisum* (Harris, 1776) آزمایش کردند (Zapata *et al*., 2010). طبق نتایجی که به‌دست آوردند، در غلظت ٦٤ میکرولیتر بر لیتر هوا پس از ۲٤ ساعت اسانس برگ و پوست *L. sempervirens* به‌صورت تدخینی باعث ۱۰۰ درصد مرگ و میر و اسانس برگ و پوست گیاه *D. winteri* به‌ترتیب منجر به مرگ ٦۸ و ٦۳ درصد شته‌ها شد. در تحقیق حاضر، اسانس گیاه پونه کوهی در مقایسه با مطالعه فوق در غلظت بسیار کمتری مرگ و میر مناسب روی شته جالیز ایجاد کرد.

مطالعات Razmjou و همکاران (2017) روی فعالیت حشره‌کشی اسانس‌های اکالیپتوس گونه‌های *Eucalyptus microtheca* Muell. و *E. spathulata* Hook. روی شته جالیز، *A. gossypii* نشان داد که شته جالیز حساسیت بالایی به اسانس‌های مورد مطالعه نشان داد و مقادیر غلظت کشنده ۵۰ درصد برای گونه‌های *E. spathulata* و *E. microtheca* به‌ترتیب ۳٦٦/۱۲ و ۱٥/۹٥۲ میکرولیتر بر لیتر هوا محاسبه شد. مطالعات Chen و همکاران (۲۰۱۷) روی فعالیت حشره‌کشی، دورکنندگی و ضد تغذیه‌ای اسانس گیاه *Pogostemon cablin* (Blanco) Bentham (Lamiaceae) بر شته سبز هلو، *Myzus persicae* نشان داد که مقدار LC_{50} سمیت تماسی برابر با ۱/٦۹٤ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد. همچنین این اسانس دارای فعالیت ضد تغذیه‌ای بسیار بالایی بود.

مطالعات Jahan و همکاران (۲۰۱٦) بر فعالیت حشره‌کشی و بازدارندگی پوره‌زایی اسانس پنج گیاه دارچین (*Cinnamomum zeylanicum*)، پرتقال (*Citrus cinensis*)، هل (*Elettaria cardamomum*)، رازیانه (*Foeniculum vulgare*) و آویشن کرمانی (*Thymus carmanicus*) بر علیه شته مومی کلم، *Brevicoryne brassica* L. نشان داد که هر پنج اسانس سمیت بالایی بر شته مومی کلم دارند. مقدار LC_{50} محاسبه شده برای دارچین، پرتقال‌ها، رازیانه و آویشن کرمانی روی شته بالغ به‌ترتیب برابر با ۹/۳۹، ۳/۳٥، ۷۹/۲۳، ۱۰/۳۲ و ۲۱/٦۰ میکرولیتر بر لیتر هوا محاسبه گردید. در این مطالعه هم در مقایسه با مطالعه حاضر، مقادیر LC_{50} اسانس گیاهان مورد مطالعه بسیار بالا بودند.

حشره‌کش‌های گیاهی دارای اثرهای سوء زیست‌محیطی اندکی نسبت به سموم متداول آفت‌کش هستند و سمیت کمتری برای انسان و پستانداران به دنبال دارند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان میدهد که اسانس گیاه پونه کوهی به‌صورت تدخینی اثر کنترلی خوبی روی شته جالیز داشته و می‌تواند جهت کنترل آفات، بخصوص در محیط‌های بسته مانند گلخانه‌ها، مفید باشد. لذا، با انجام تحقیقات بیشتر می‌توان امیدوار بود که در آینده بتوان با استحصال ماده مؤثره گیاه پونه کوهی، امکان به‌کارگیری یک حشره‌کش گیاهی در مدیریت تلفیقی آفات برای کاهش مصرف سم به وجود آید.

سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاری مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد به‌خاطر فراهم نمودن امکان استفاده از GC-MS تقدیر و تشکر می‌گردد.

References

Abramson, C. I., Wanderley, P. A. and Wanderley, M. J. A. 2006. Effect of essential oil from Citronella and Alfazema on fennel aphids, *Hyadaphis foeniculi* Passerini (Hemiptera: Aphididae) and its predator, *Cycloneda sanguinea* L. (Coleoptera: Coccinelidae). American Journal of Environmental Sciences, 3: 9-10.

Blackman, R. 2004. The simplification of aphid terminology. European Journal of Entomology, 91: 139-141.

Chen, Y., Li, Y., Su, Z. and Xian, J. 2017. Insecticidal and repellent action of Pogostone against *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). Florida Entomologist, 100(2): 346-349.

Choi, W. I., Lee, E. H., Choi, B. R., Park, H. M. and Ahn, Y. J. 2003. Toxicity of Plant Essential Oils to Trialeurodes vaporariorum (Homoptera: Aleyrodidae). Journal of Economic Entomology, 96(5): 1479-1484.

Chopa, C. S. and Descamps, L. R. 2012. Composition and biological activity of essential oils against *Metopolophium dirhodum* (Hemiptera: Aphididae) cereal crop pest. Pest Management Science, 68: 1492-1500.

Deguine, J. P., Goze, E. and Leclant, F., 1994. Incidence of early outbreaks of the aphid, *Aphis gossypii* Glover in cotton growing in Cameroon. International Journal of Pest Management, 40: 132-140.

Hasanshahi, Gh., Jahan, F. and Abbasipour, H. 2012. Insecticidal effect of five essential oils on the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* L. (Hom.: Aphididae). Biology and Plant Production Conference, Damghan, Iran. P. 38-42.

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

Jahan, F., Abbasipour, H. and Hasanshahi, G. 2016. Fumigant Toxicity and Nymph Production Deterrence Effect of Five Essential Oils on Adults of the Cabbage Aphid, *Brevicoryne brassicae* L. (Hemiptera: Aphididae. Journal of Essential Oils Bearing Plants, 19(5): 1111-1118.

Khani, A. and Asghari, J. 2012. Insecticide Activity of Essential Oils of *Mentha longifolia*, *Pulicaria gnaphalodes* and *Achillea wilhelmsii* Against Two Stored Product Pests, the Flour Beetle, *Tribolium castaneum*, and the Cowpea Weevil, *Callosobruchus maculatus.* Journal of Insect Science, 12: 73.

Koul, O., Walia, S. and Dhaliwal, G. S. 2008. Essential Oils as Green Pesticides: Potential and Constraints. Biopesticides International, 4(1): 63-84.

Magdy, I. E. M. and Samir, A. M. A. 2008. Chemical composition and insecticidal potential of essential oils from Egyptian plants against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). Applied Entomology and Zoology, 43(4): 599-607.

Mkaddem, M., Bouajila, J., Ennajar, M., Lebrihi, A., Mathieu, F. and Romdhane, M. 2009. Chemical composition and antimicrobial and antioxidant activities of *Mentha* (*longifolia* L. and *viridis*) essential oils. Journal of Food Science, 74(7): 358-63.

Odeyemi, O. O., Masika, P. and Afolayan, A. J. 2008. Insecticidal activities of essential oil from the leaves of *Mentha longifolia* L. subsp. *capensis* against *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae). African Entomology, 16(2): 220-225.

Oyedeji, A. O. and Afolayan, A. J. 2006. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil isolated from South African *Mentha longifolia* (L.) subsp. *capensis* (Thunb.) Briq. Journal of Essential Oil Research, 18: 57-59.

Papachristos, D. P., Karamanoli, K. I., Stamopoulos, D. C. and Menkissoglu-Spiroudi, U. 2004. The - relationship between the chemical composition of three essential oils and their insecticidal activity against *Acanthoscelides obtectus* (Say). Pest Management Science, 60(5): 514-520.

Pavela, R. 2005. Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. Fitoterapia, 76: 691-696.

Pimentel, D., Andow, D., Dyson-Hudson, R., Gallahan, D., Jacobson, S., Irish, M., Kroop, S., Moss, A., Schreiner, I., Shepard, M., Thompson, T. and Vinzant, B. 1980. Environmental and social costs of pesticides: a preliminary assessment. Oikos, 34: 127-140.

Razmjou, J., Davari, M. and Ebadollahi, A. 2017. Insecticidal effects of essential oils from *Eucalyptus microtheca* Muell. and *E. spathulata* Hook. along with pathogenic fungus *Lecanicillium muscarium* against cotton aphid. Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture), 39(4): 37-50.

Riazi, M., Khajeh Ali, J., Pourjavad, N. and Bolandnazar, A. 2015. The toxic and repellent effect of the formulation of the peppermint, (*Mentha spicata* L.) oil on the melon aphid, *Aphis gossypii* in greenhouse conditions. Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture, 6(24): 169-179. (In Persian)

Runyoro, D., Ngassapa, O., Vagionas, K., Aligiannis, N., Graikou, K. and Chinou, I. 2010. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of four *Ocimum* species growing in Tanzania. Food Chemistry, 119: 311-16.

Sahaf, B. Z. and Moharramipour, S. 2009. Comparative study on deterrency of *Carum copticum* C.B. Clarke and *Vitex pseudo-negundo* (Hausskn.) Hand.-Mzt. essential oils on feeding behavior of *Tribolium castaneum* (Herbst). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants, 24(4): 385-395.

Saldo, S. and Szpyrka, E. 2009. Ecotoxicological view of protection of apple orchards against insect pest in Poland. Pesticides, (1-4): 12-26.

Saljoqi, A. U. R., Afridi, M. K., 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 Agricultural and Biological Science, 1(4): 1-5.

Sampson, B. J., Taba,nca N., Kirimer, N., Demirci, B., Baser, K. H. C., Kahn, I. A., Spiers. J. M. and Wedge, D. E. 2005. Insecticidal activity of 23 essential oils and their major compounds against adult *Lipaphis pseudobrassicae* (Davis) (Aphididae: Homoptera). Pest Management Science, 61: 1122-1128.

SAS Institute, 2007. SAS users guide: statistics. SAS Institute, Cary, NC.

Toloza, A. C., Zygadlo, J., Cueto, G. M., Biurrun, F., Zerba, E. and Picollo, M. I. 2006. Fumigant and repellent properties of essential oils and component compounds against Permethrin-resistant *Pediculus humanus capitis* (Anoplura: Pediculidae) from Argentina. Journal of Medical Entomology, 43(5): 889-895.

Tripathi, A. K., Parjapati, V., Aggarwal, K. K., Khanuja, S. P. S. and Kumar, S., 2000. Repellency and toxicity of oil from *Artemisia annua* to certain stored-product beetles. Journal of Economic Entomology, 93: 43-47.

Wool, D., Hales, D. and Sunnucks, P. 1995. Host plant relationships of *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) in Australia. Australian Journal of Entomology, 34: 265-271.

Zapata, N., Lognay, L. and Smagghe, J. 2010. Bioactivity of essential oils from leaves and bark of *Laurelia sempervirens* and *Drimys winteri* against *Acyrthosiphon pisum*. Pest Management Science, 66: 1324-1331.

Journal of Entomological Research

Volume 10, Issue 2, pages: 89-99

Islamic Azad University, Arak Branch
ISSN 2008-4668
http://jer.iau-arak.ac.ir

Study on the chemical composition and insecticidal activity of the wild mint (*Mentha longifolia* L.) essential oil against the melon aphid (*Aphis gossypii* Glover)

M. Zamani verdi[1], H. Abbasipour[2], S. Goudarzvande Chegini[3]

1- M.Sc Postgraduate Student, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, Shahed University, Tehran, Iran
2- Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, Shahed University, Tehran, Iran
3- M.Sc Postgraduate Student, Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Sciences, Shahed University, Tehran, Iran

Abstract

The melon aphid, *Aphis gossypii* Glover is a polyphagous and cosmopolite species which is widely distributed in moderate and tropical regions of the world. The high-risk chemical pesticides are currently used to control this pest that have environmental impacts and also affect non-target organisms. Therefore, in order to cope with this situation, we must think about the safe alternatives to control this pest. In the current study, chemical composition and fumigant toxicity of the essential oil from wild mint, *Mentha longifolia* L. was studied against the nymphal and adult stages of the melon aphid, *A. gossypii*. The essential oil was obtained by hydro-distillation method, using a modified Clevenger-type apparatus. The amount of this essential oil was determined by mass chromatography method. Bioassay experiments were performed in a completely randomized design with five concentrations (0.1 to 0.9 µl/L air) and three replications. For each replicate, 10 samples of the last instar nymphs and adult aphids were separately considered. Also, nymph production deterrent effect of the oil at sublethal concentration of the oil was studied against the parthenogenesis form of aphid. Results indicated that essential oil of *M. longifolia* is highly toxic to the melon aphid. The major components in the oil were Pulegone (44.75%), Menthone (30.80%), 1,8- Cineole1 (5.49%) and Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethyl)- (2R-cis (2.06%). Probit analysis showed that the LC_{50} values for nymphs and adults of *A. gossypii* were 0.059 and 0.0081 µl. L^{-1} air, respectively. By increasing the concentration of essential oil, the mortality rate also increased. Also, degree of nymph production deterrent effect was calculated for the essential oil of *M. longifolia* as 80.03±3.68%. The overall results showed that the wild mint essential oil has a high potential in controlling the melon aphid especially in protected areas such as geenhouses.

Key words: *Mentha longifolia*, *Aphis gossypii*, fumigant toxicity, nymph production deterrent

* Corresponding Author, E-mail*: abbasipour@yahoo.com*
Received:18Mar. 2018 – Accepted: 10 Sep. 2018