فصلنامه گیاه‌پزشکی
(دانشگاه آزاد اسلامی شیراز)
جلد ۶، شماره ۴، سال ۱۳۹۳ (۳۲۲-۳۰۹)

کارایی عصاره بادیان رومی (*Pimpinella anisum*)روی فعالیت زیستی *Tribolium castaneum* و بررسی عملکرد آنتی اکسیدانی آن

پریسا جنوبی[۱]، احمد مجد[۱]، عارف معروف[۲]، شهلا امینی[۱*]

۱. گروه زیست شناسی گیاهی، دانشکده‌ی زیست شناسی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران
۳. مؤسسه تحقیقات گیاهپزشکی کشور، بخش تحقیقات حشره شناسی کشاورزی، تهران، ایران

چکیده

شپشه آرد *Tribolium castaneum* یکی از آفات مهم محصولات انباری می‌باشد، برای کنترل این آفات عصاره‌های گیاهی جایگزین مناسبی برای سموم شیمیایی قلمداد می‌شوند. از سوی دیگر گیاهان دارویی به عنوان منابع طبیعی که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند، مورد توجه محققین برای استفاده در سامانه‌های غذایی و بیولوژیک قرار گرفته‌اند. این تحقیق به منظور بررسی کارایی عصاره بادیان رومی *(Pimpinella anisum)* روی فعالیت زیستی شپشه آرد و همچنین بررسی عملکرد آنتی‌اکسیدانی این گیاه می‌باشد. در این پژوهش اثر عصاره بذر بادیان رومی روی شاخص‌های تغذیه‌ای حشرات کامل شپشه آرد، در سه غلظت ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرولیتر و اثرات سمیت تنفسی عصاره نیز (با غلظت‌های ۵۰، ۸۹، ۱۵۸، ۲۸۱ و ۵۰۰ میکرولیتر بر لیتر هوا) در شرایط آزمایشگاهی (دمای ۱±۲۹ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد) انجام شد. همچنین خواص آنتی‌اکسیدانی بادیان رومی با استفاده از دو روش مهار رادیکال پایدار ۲و۲ دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) و قدرت احیاکنندگی آهن مورد بررسی قرار گرفت. بررسی شاخص‌های تغذیه‌ای نشان داد که بالاترین و پایین ترین غلظت عصاره به ترتیب ۹۴/۸۶ و ۸۲/۶۸ درصد، بازدارندگی تغذیه‌ای داشت. همچنین بیشترین مقدار تلفات در غلظت ۵۰۰ میکرولیتر بر لیتر هوا و در زمان ۲۴ ساعت ثبت گردید. غلظت لازم برای مرگ و میر ۵۰ درصد جمعیت (LC_{50}) در زمان ۲۴ ساعت پس از تیمار، ۲۱۵/۱۹ میکرولیتر بر لیتر هوا ثبت شد. در آزمون DPPH، عصاره برگی، غلظت مهار ۵۰ درصد (IC50) بالاتری نسبت به بذر نشان داد، در آزمون احیاکنندگی آهن نیز نتیجه مشابهی بدست آمد.

واژه‌های کلیدی: آفات انباری، بادیان رومی، شپشه آرد، فعالیت زیستی، تیره چتریان، آنتی‌اکسیدان

---

* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: shahlaamini511@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۰۴/۰۱، تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۹/۰۴

مقدمه

زیان‌های کمی و کیفی حشرات انباری به ویژه در مناطق گرمسیری قابل توجه است. در ایران آمارهای وزارت جهاد کشاورزی نشان می‌دهد که هر ساله به طور میانگین ۱۰ تا ۲۰ درصد محصولات کشاورزی در انبارها توسط آفات از بین میروند. در بین این حشرات، بیشترین خسارت به بذور انبار شده به گونه‌های مختلف جنس *Tribolium* نسبت داده می‌شود (Ogendo *et al*., 2010; Rafiei Karahroudi *et al*., 2010). شپشه آرد (*Tribolium castaneum* (Herbest)) از مواد نشاسته‌ای مانند آرد، سبوس و محصولات انباری تغذیه می‌کند. این حشرات به علت افزایش سریع جمعیت، محصول انباری را با مدفوع و پوسته‌های لاروی خود آلوده کرده و از مرغوبیت آن می‌کاهند. کنترل آفات انباری بیشتر با استفاده از آفت کش‌ها و ترکیبهای شیمیایی گازی صورت می‌گیرد. استفاده مکرر از این مواد طی دهه‌های متوالی علاوه بر آلودگی‌های زیست محیطی، باعث گسترش مقاومت در بین گونه‌های آفت انباری شده است. لذا تحقیق برای دست یافتن به جایگزین‌های مناسب و امن در جهت کنترل آفات محصولات انباری کشاورزی ضروری به نظر می‌رسد (Pitasawat *et al*., 2007). یکی از منابع بالقوه برای تولید آفت کش‌های جدید، عصاره و اسانسهای تولید شده به وسیله گیاهان می‌باشد. عصاره و اسانسهای استخراج شده از گیاهان معمولا" در طبیعت زودتر تجزیه می‌شوند، بنابراین سمیت کمتری برای انسان و سایر پستانداران دارند و اثرهای مخرب کمتری در محیط زیست بر جای می‌گذارند. در این راستا گزارش‌های متعددی در مورد خواص حشره کشی و ضد تغذیه‌ای اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی علیه آفات انباری و بهداشتی موجود است (Kotan *et al*., 2008; Sahaf & Maharramipour, 2008).

امروزه به منظور حذف و یا کاهش ترکیبات شیمیایی و سنتزی در مواد غذایی، تحقیقات زیادی برای جایگزین کردن مواد شیمیایی با طبیعی انجام شده است. در همین زمینه تلاش‌های زیادی برای یافتن آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی از منابع گیاهی صورت گرفته است. در حال حاضر در صنعت از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی مانند BHT, BHA یا TBHQ برای به تاخیر انداختن اکسیداسیون چربی‌ها استفاده می‌شود اما به دلیل اثرات بد تغذیه‌ای و سرطانزا بودن این ترکیبات استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد توجه محققین قرار گرفته است (Chatchawan *et al*., 2008). در همین راستا می‌توان به گیاه بادیان رومی (*Pimpinella anisum*) که متعلق به تیره چتریان (Apiaceae) بوده و دارای اثرات حشره‌کشی و همچنین آنتی‌اکسیدان اشاره نمود. منشأ این گیاه در اصل آسیا بوده اما معمولاً در مرکز و جنوب اروپا، مصر و سایر مناطق گرمسیر جهان نیز یافت می‌شود (Gilligan, 2005). در ایران دامنه انتشار آن نواحی شمال غربی، نواحی جنوب غربی و در ارتفاعات ۵۰۰ متری کردستان می‌باشد. بادیان

رومی دارای خواص دارویی فراوانی است از جمله خواص ضد نفخی و ضد تشنجی آن نیز گزارش شده است (Shojaii & Abdollahi Fard, 2012).

در پژوهش حاضر علاوه بر تعیین اثرات سمیت تنفسی و شاخص‌های تغذیه‌ای عصاره گیاه بادیان رومی روی شپشه آرد به عنوان یکی از آفات مهم انباری، خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه مذکور نیز مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

تهیه گیاه

بذر خالص گیاه بادیان رومی با نام علمی *(P. anisum)* به صورت آماده و خشک شده از شرکت گیاه گستر اصفهان خریداری شد. همچنین برگ گیاه مورد نظر در اواسط مرداد ماه سال ۱۳۹۰ از زمین‌های زراعی مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی و منابع طبیعی استان قزوین جمع‌آوری شد. نمونه‌های مورد نظر توسط گیاه‌شناس دانشگاه خوارزمی مورد تایید قرار گرفت.

پرورش حشرات به منظور ارزیابی اثرات ضد حشره‌ای بادیان رومی

شپشه آرد (*T. castaneum*) در آزمایشگاه مؤسسه گیاهپزشکی کشور در دمای ۱±۳۰ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۷۰-۶۵ و در شرایط تاریکی در انکوباتور پرورش یافت.

تهیه عصاره آزمایش‌های سمیت تنفسی و شاخص‌های تغذیه‌ای

به هر ۵۰ گرم از نمونه پودر شده بذر ۲۰۰ میلی لیتر اتانول ۹۹/۸ درصد اضافه شد و دهانه ارلن توسط پارافیلم پوشانده شد. نمونه‌ها به مدت یک ساعت توسط شیکر تکان داده و بعد در یخچال در دمای ۴ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شد. سپس مجدداً مدت یک ساعت توسط شیکر به شدت تکان داده شد. پس از همزدن هر نمونه با شدت ۲۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد تا عصاره اولیه کاملاً جدا گردید. به طور کلی عصاره‌ها در سه مرحله استخراج و توسط دستگاه تقطیر در دمای ۴۰ درجه سلسیوس و سرعت ۱۰۰ دور دقیقه تغلیظ شد (Wang & Lei, 2005).

بررسی سمیت تنفسی عصاره های گیاهی

به این منظور مطابق روش Rabertson & Preisler (1992) ابتدا برای تعیین غلظت‌های لازم در آزمایش سمیت تنفسی، آزمایش‌های مقدماتی انجام و پس از تعیین غلظت‌های حداقل و حداکثر، با استفاده از فواصل لگاریتمی سه غلظت بین آنها انتخاب و سپس آزمایش اصلی با استفاده از ۵ غلظت شامل ۵۰، ۸۹، ۱۵۸، ۲۸۱ و ۵۰۰ میکرولیتر بر لیتر هوا از عصاره در ۳ تکرار انجام شد. در آزمایش اصلی، ۲۰ عدد حشره بالغ ۳-۴ روزه درون ظروف پلاستیکی به

حجم ۷۱/۵ میلی لیتر قرار داده و مقادیر لازم از عصاره روی قطعه کاغذ های صافی که داخل درپوش ظروف پلاستیکی چسبانده شده بودند، ریخته شد. ظروف آزمایشی در شرایط بهینه پرورش آفت گذاشته شدند. پس از گذشت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت کلیه ظروف بازدید و تعداد حشرات مرده ثبت گردید. حشراتی که قادر به تکان دادن شاخک و پاهای خود نبودند مرده در نظر گرفته شدند.

بررسی تاثیر عصاره‌ها روی شاخص‌های تغذیه‌ای

به این منظور، میزان تغذیه حشرات کامل شپشه آرد از دیسک‌های آردی مورد بررسی قرار گرفت. دیسک‌های آردی طبق روش Hauang & Ho (1998) تهیه شد. برای تهیه دیسک‌های آردی درون پتری دیش‌هایی با قطر ۹ سانتی متر مخلوطی از ۰/۲ گرم آرد و یک میلی‌لیتر آب ریخته شد تا خمیر حاصله به شکل دیسک درآید، سپس پتری دیش‌ها در انکوباتور با دمای ۱±۲۹ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند تا خمیرها خشک شود. سپس غلظت‌های ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرولیتر در ۱۰۰ میکرولیتر استون از عصاره به هر دیسک اضافه گردید. در شاهد فقط از ۱۰۰ میکرولیتر استون استفاده شد. سپس دیسک‌ها به طور جداگانه در داخل لوله‌های آزمایش دردار قرار داده و وزن شدند. در هر تکرار قبل از شروع آزمایش ۱۰ عدد حشره کامل با ترازوی دقیق ۰۰۰۱ /۰ وزن شده و به لوله‌های آزمایش حاوی دیسک اضافه گردیدند. حشرات به مدت ۳ روز در انکوباتور در شرایط تاریکی در دما و رطوبت ذکر شده تغذیه کردند. پس از ۳ روز حشرات کامل و همچنین دیسک‌های آردی موجود در لوله دوباره وزن شدند. این آزمایش به طور تصادفی با سه تیمار ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میکرولیتر در سه تکرار انجام شد.

تهیه عصاره‌های آزمایش آنتی‌اکسیدانی

مقدار ۵۰ گرم پودر بذر و برگ خشک شده در سایه هر کدام به طور جداگانه با ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر، اتانول ۸۰٪، متانول خالص و استون به روش سوکسله و پرکولاسیون عصاره‌گیری شد. پس از صاف کردن بوسیله کاغذ واتمن شماره ۱، با روش تبخیر در خلاء در ۴۰ درجه سانتی گراد خشک گردیده و تا انجام آزمایش در یخچال ۴+ سلسیوس نگهداری گردید (Kamkar, 2009; Ho *et al*., 2012).

تهیه مواد شیمیایی

تمام مواد شیمیایی و حلال‌های مورد استفاده در این تحقیق از شرکت مرک (آلمان) و رادیکال آزاد DPPH، از شرکت سیگما (آمریکا) خریداری شدند .

بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی به روش DPPH

در بررسی خاصیت آنتی رادیکالی به روش DPPH، توانایی دادن اتم هیدروژن یا الکترون در ترکیبات و عصاره‌های مختلف با میزان بی‌رنگ کردن محلول بنفش ۲و۲ دی فنیل-۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) در متانول مورد سنجش قرار می‌گیرد. در این روش به عنوان ترکیب رادیکالی پایدار از ماده DPPH به عنوان معرف استفاده شد. بدین ترتیب که ۵۰ µl از غلظت‌های مختلف عصاره متانولی برگ و بذر به ۵ ml محلول ۰/۰۰۴ درصد DPPH در متانول، اضافه گردید. پس از ۵ دقیقه نگهداری در دمای اتاق، جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۱۷ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر UV-visible مدل Lambda25 خوانده شد. درصد مهار رادیکال‌های آزاد DPPH با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\%I= (A_{blank} - A_{sample}/ A_{blank}) *100$$

در این فرمول A_{blank} میزان جذب نوری کنترل منفی را که فاقد عصاره گیاهی می‌باشد، نشان می‌دهد و A_{sample} بیانگر جذب نوری غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاه می‌باشد. پس از آن غلظتی از عصاره‌های گیاه که دارای درصد مهار رادیکالی ۵۰ درصد بوده یا (IC50) توسط نمودار محاسبه گردید. بدیهی است که هر چه این عدد کوچکتر باشد قدرت آنتی‌اکسیدانی یا مهار رادیکالهای آزاد، بیشتر می‌باشد. آزمایشها ۳ بار تکرار شد و میانگین آنها گزارش شد. در این تست به عنوان کنترل مثبت از آسکوربیک اسید استفاده گردید (Kamkar, 2009).

بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی به روش احیاکنندگی آهن

یک میلی‌لیتر از عصاره‌های اتانولی، متانولی، آبی و استونی برگ و بذر به صورت جداگانه برداشته و مراحل زیر بر روی آنها انجام شد: ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۰/۲ مولار و ۲/۵ میلی لیتر محلول آبی فری سیانید پتاسیم ۱٪ به عصاره اضافه کرده و سپس محلول به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سلسیوس قرار داده شد. ۲/۵ میلی‌لیتر محلول تری کلرو استیک اسید ۱۰٪ به محلول فوق اضافه کرده و سپس با دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. ۲/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی را برداشته و ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر، ۲/۵ میلی‌لیتر محلول کلراید فریک به آن افزوده تا رنگ آبی پروس (رنگی بین رنگ سبز و آبی) (محلول واکنش که شامل عصاره گیاه، فری سیانید پتاسیم و بافر فسفات است پس از افزودن تری کلرو استیک است به رنگ لیموئی در می آید و پس از افزودن کلراید فریک به رنگ سبز تا آبی تغییر می یابد که همان آبی پروس است و برای مختصر گویی همان آبی پروس بیان شد) ظاهر شود. جذب محلول واکنش نهایی، توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۰۰ نانومتر خوانده شد. افزایش جذب در مخلوط واکنش به مفهوم افزایش قدرت احیاکنندگی (آنتی اکسیدانی) خواهد بود. آزمایشها ۳ بار تکرار شد و میانگین آنها گزارش شد (Jalili *et al*., 2012).

تجزیه و تحلیل آماری

آزمایش‌های سمیت تنفسی و شاخص‌های تغذیه‌ای در قالب طرح‌های کاملا تصادفی انجام شد. در سمیت تنفسی چهار تکرار و در شاخص‌های تغذیه‌ای سه تکرار به کار برده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها از جمله میزان LC_{50} (غلظتی از عصاره که قادر است ۵۰ درصد جمعیت را که به طور تصادفی انتخاب شده از بین ببرد) و LC_{95} (غلظتی از عصاره که قادر است ۹۵ درصد جمعیت را که به طور تصادفی انتخاب شده از بین ببرد) با استفاده از نرم افزار SPSS و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه دانکن انجام شد. شاخص‌های مورد بررسی عبارت بودند از (Farrar *et al.*, 1989):

نرخ مصرف نسبی غذا (RCR) : $RCR=\frac{D}{B\times 3}$

D: مقدار غذای خورده شده (میلی‌گرم) پس از ۳ روز

B: مجموع وزن اولیه حشرات (میلی‌گرم)

شاخص بازدارندگی تغذیه (FDI): $FDI(\%)=\frac{(C-T)\times 100}{C}$

C: وزن غذای مصرف شده در شاهد (میلی‌گرم)

T: وزن غذای مصرف شده در تیمار (میلی‌گرم)

نتایج

سمیت تنفسی عصاره بادیان رومی

بر اساس نتایج حاصل، مقادیر LC_{50} پس از گذشت ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۱۶۸ ساعت به ترتیب ۲۱۵/۱۹، ۱۸۱/۳۳، ۱۵۷/۸۶، ۱۱۶/۹۳ میکرولیتر بر لیتر هوا برآورد گردید. همچنین مقادیر LC_{95} پس از گذشت زمان‌های ذکر شده به ترتیب ۸۶۲/۸۲، ۶۶۶/۵۵، ۵۹۰/۹۵، ۴۱۱/۹۵ میکرولیتر بر لیتر هوا تخمین زده شد. با گذشت زمان مقادیر LC_{50} و LC_{95} به تدریج کاهش یافت که به واسطه فرصت کافی برای اثر عصاره روی حشره می‌باشد. با توجه به اعداد مربوط به حدود اطمینان LC_{50} و LC_{95} (جدول یک)، در بازه‌های زمانی مورد آزمایش، بین مقادیر LC_{50}و LC_{95} اختلاف معنی داری مشاهده نشد.

تاثیر عصاره بادیان رومی بر نرخ مصرف نسبی غذا (RCR) در حشرات کامل شپشه آرد

میانگین نرخ مصرف نسبی غذا در بالاترین و پایین‌ترین غلظت (۵۰ و ۱۰۰ میکرولیتر)، پس از گذشت ۳ روز به ترتیب ۰/۱۳۵ و ۰/۰۵۴ برآورد شد (جدول ۲). بر این اساس بین تیمارها و شاهد اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($F=30.09, df=2;8, P=0.001$). این مقادیر نشان داد

که با افزایش غلظت، نرخ مصرف نسبی غذا به طور معنی داری کاهش یافته است یعنی حشرات میزان کمتری غذا مصرف کرده‌اند.

جدول۱- سمیت تنفسی عصاره گیاه بادیان رومی روی حشرات کامل شپشه آرد

Table 1. Respiratory toxicity of anise extract on *Tribolium castaneum* adults

	Time (h)			
	24	48	72	168
LC_{50}(µl/l air)	215/19	181/33	157/86	116/93
Fiducial limit	167/91-286/39	142/68-233/64	123/28-202/23	90/41-147/65
LC_{95}(µl/l air)	862/82	666/55	590/95	411/95
Fiducial limit	551/75-2044/61	449/69-1375/93	401/37-1201/12	288/38-795/33
Slope	48±2/72	0/49±2/90	0/48±2/86	0/51±3/00
X^2 (df.)	0/74(3)	0/70(3)	0/63(3)	1/19(3)
P. Value	0/86	0/87	0/88	0/75

جدول ۲- *گروه‌بندی میانگین نرخ مصرف نسبی (RCR) بر اساس آزمون چند دامنه دانکن*

Table 2. Grouping of relative consumption rate (RCR) according to Duncan test

Grouping	Relative consumption rate	Treatment (µl)
A	0/135 ± 0/007	50
B	0/106 ± 0/007	75
C	0/054 ±0/006	100

تاثیر عصاره بادیان رومی بر شاخص بازدارندگی تغذیه (FDI) حشرات کامل شپشه آرد

با توجه به میانگین شاخص تغذیه‌ای بالاترین و پایین ترین غلظت (۵۰ و ۱۰۰ میکرولیتر)، پس از گذشت ۳ روز به ترتیب دارای ۸۲/۶۸ و۹۴/۸۶ درصد بازدارندگی تغذیه‌ای بودند (جدول۳). بر این اساس بین تیمارها اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($F=25.15, df=2;8, P=0.001$) . این مقادیر نشان داد که با افزایش غلظت، بازدارندگی تغذیه‌ای هم افزایش یافت.

بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی

در این مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ و بذر به دو روش DPPH و قدرت احیاکنندگی آهن ارزیابی گردید. در قدرت احیاکنندگی آهن میزان رنگ بستگی به میزان احیا شدن و غلظت یون‌های Fe^{2+} داشت که توسط آنتی‌اکسیدان‌های داخل عصاره گیاه از احیا شدن Fe^{3+} داخل ترکیب فری سیانید پتاسیم بدست آمد. هر چه میزان آنتی‌اکسیدان‌ها بیشتر باشد، میزان احیا شدن و تولید Fe^{2+} بیشتر خواهد بود بنابراین رنگ آبی عصاره بیشتر و میزان جذب هم عدد بزرگتری خواهد بود. جذب‌های بدست آمده از عصاره‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۷۰۰ نانومتر بیان شده است. نتایج نشان داد که در مقایسه بین عصاره‌های مختلف برگ و

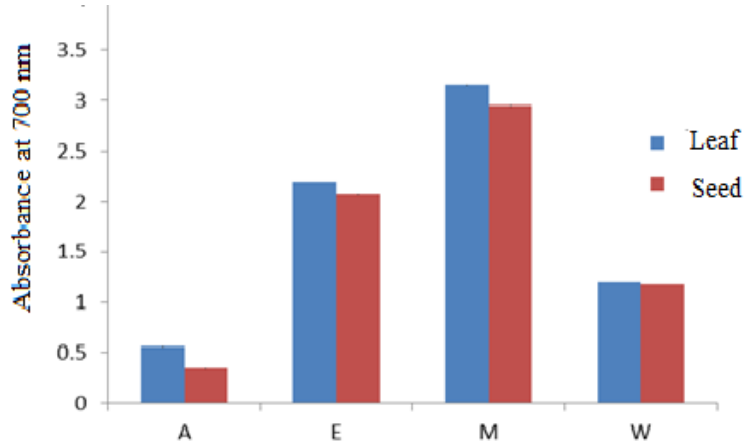
بذر اختلاف معنی‌داری وجود ندارد به این معنی که هم عصاره‌های برگ و همچنین عصاره‌های بذر خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی را نشان می‌دهند. براساس اطلاعات شکل ۱ قدرت احیاکنندگی عصاره استونی برگ ۰/۵۵۸۵، عصاره آبی برگ ۱/۲۳۷۵، عصاره اتانولی برگ ۲/۳۱۴۵ و عصاره متانولی برگ ۳/۱۵۳۲ بود و قدرت احیاکنندگی عصاره استونی بذر ۰/۳۴۶۹، عصاره آبی بذر ۱/۱۶۴۳، عصاره اتانولی بذر ۲/۲۵۳۶، عصاره متانولی بذر ۲/۹۵۰۳ بود که بیشترین قدرت احیاکنندگی مربوط به عصاره متانولی برگ و کمترین قدرت احیاکنندگی مربوط به عصاره استونی بذر بود.

در آزمون به دام اندازی رادیکال DPPH مشخص شد که با افزایش غلظت عصاره‌های متانولی برگ و بذر، مهار رادیکال DPPH با قدرت بیشتری صورت گرفت. بر اساس شکل شماره ۲ غلظت مهار ۵۰ درصد (IC50) در عصاره متانولی برگ ۵۲/۷۶ و عصاره متانولی بذر ۶۹/۰۸ میکروگرم بر میلی لیتر بود. IC50 برای آسکوربیک اسید ۵/۰۵ میکروگرم بر میلی لیتر بدست آمد.

جدول ۳- *گروه‌بندی میانگین شاخص بازدارندگی تغذیه‌ای (FDI) بر اساس آزمون چند دامنه دانکن*

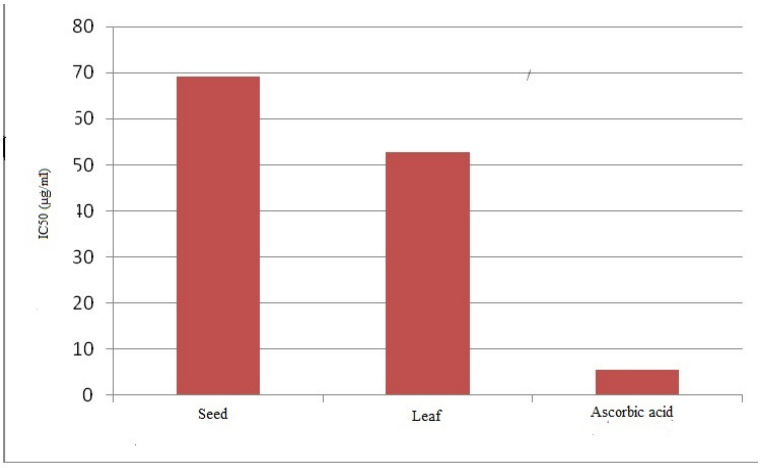
Table 3. Grouping of feeding deterrence index (FDI) according to Duncan test

Grouping	feeding deterrence index	Treatment (µl)
A	82/68 ±1/11	50
B	87/17 ±0/64	75
C	94/86±1/69	100



شکل **۱**. *مقایسه خاصیت آنتی‌اکسیدانی برگ و بذر در روش احیا آهن (III) به آهن(II). A: عصاره استونی، E: عصاره اتانولی، M : عصاره متانولی، W : عصاره آبی. محور عمودی: جذب محلول در ۷۰۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر*

Figure 1. *Comparison of the antioxidant properties of leaves and seeds of recovery in iron (III) to Fe (II). A: Acetone extract, E: Ethanol extract, M: Methanol extract, W: Wather extract. Vertical axis:* absorbance at 700 nm by spectrophotometer



شکل ۲- *مقایسه خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره متانولی برگ و بذر در مهار رادیکال های DPPH در مقایسه با آسکوربیک اسید. محور عمودی : میزان به دام اندازی رادیکال آزاد (IC50)*

Figure 2. *Comparison of the antioxidant properties of methanol extracts of the leaves and seeds on DPPH radical scavenging compared to ascorbic acid. Vertical axis: the amount of trapping free radicals (IC50)*

بحث

نتایج بررسی سمیت تنفسی عصاره بادیان رومی روی حشرات کامل ۷-۱۰ روزه شپشه آرد نشان داد بین میزان سمیت تنفسی عصاره گیاه بادیان رومی با افزایش غلظت عصاره و مدت تاثیر همبستگی مثبتی وجود دارد. به گونه‌ای که بیشترین مقدار تلفات در غلظت ۵۰۰ میکرولیتر بر لیتر هوا و در زمان ۲۴ ساعت ثبت گردید و همچنین غلظت ۲۸۱ میکرولیتر بر لیتر هوا بعد از ۴۸ ساعت تلفات بیشتری را نشان داد. نتایج آزمایشات حاضر با بررسی Tapondjou *et al.* (2005) مطابقت داشت. آنها در بررسی خود اثر حشره‌کشی اسانس گونه‌ای اکالیپتوس به نام *Eucalyptus saligna* را روی حشرات کامل شپشه آرد، طی ۴ روز متوالی مورد بررسی قرار دادند که با گذشت زمان و افزایش غلظت، بر میزان تلفات نیز افزوده می‌شود. همچنین بررسی حاضر با نتایج Al-Jabr *et al.* (2006) در مورد خاصیت حشره‌کشی اسانس نعنا (*Menta viridis*) و رزماری (*Rosmarinus officinalis*) روی شپشه آرد طی ۳ هفته متوالی، از نظر افزایش تلفات در نتیجه افزایش غلظت و زمان مطابقت داشت. در تحقیقی دیگر که توسط Sarac (1995) روی عصاره‌های روغنی *Pimpinella anisum, Ecalyptus camaldulensis, Thymbra spicata* و *Satureja thymb* انجام گرفت، نتایج نشان داد که غلظت حدود ۱۰۸ تا ۱۳۵ میکرولیتر در یک لیتر هوا و در دوره‌های زمانی بین ۲۴ تا ۱۴۴ ساعت، در دو گونه از حشرات انباری، به شکل تنفسی بیش از ۹۵ درصد مرگ و میر را موجب می شوند.

از طرفی LC_{50} عصاره به صورت سمیت تنفسی برای حشرات کامل شپشه آرد پس از ۲۴ ساعت ۲۱۵/۱۹ میکرولیتر بر لیتر هوا ارزیابی شد. یافته‌های این تحقیق با مطالعات Arab *et al.* (2007) مطابقت دارد. آنها در بررسی اثر حشره‌کشی عصاره برخی گیاهان از جمله *Calotropis procera, Anethum graveolens, Laurus lovilis* روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات (*Cllosobruchus maculatus*) مقدار LC_{50} محاسبه شده برای این حشره پس از ۳۶ ساعت از تیماردهی با عصاره آویشن شیرازی و شیرتیغال، به ترتیب با مقدار ۱۲۶/۲۷ و ۳۷۰/۰۹ میکرولیتر بر لیتر هوا بیشترین و کمترین حساسیت را نسبت به سایر عصاره‌ها نشان دادند. همچنین در همه تیمارها با افزایش غلظت، درصد تلفات نیز افزایش یافت.

در این پژوهش شاخص‌های تغذیه شامل مصرف نسبی غذا (RCR) و شاخص بازدارندگی تغذیه (FDI) اندازه‌گیری شد. همانطور که از این شاخص‌ها برمی‌آید میزان غذایی که توسط حشره مورد مصرف قرار می‌گیرد باعث افزایش رشد می شود و با توجه به کیفیت غذا، کارایی غذای مصرف شده برای حشره متفاوت است. در صورت مطلوب نبودن غذا، حشره به طور قابل توجهی از خوردن غذا امتناع کرده و در حقیقت غذا دارای اثر بازدارندگی تغذیه روی حشره می‌باشد. در صورت تغذیه، حشره توانایی هضم و جذب (تبدیل) آن را در دستگاه گوارش نداشته و به صورت سمیت گوارشی مانع از افزایش وزن و یا حتی موجب کاهش وزن حشره می‌شود. همانطور که جدول ۲ نشان می دهد، با افزایش غلظت، مقدار RCR کاهش یافته است به گونه‌ای که در عصاره با غلظت بالا میزان تاثیر بیشتر بوده است. بنابراین عامل اجتناب حشره از تغذیه را می توان به اثرات عصاره نسبت داد. اثر عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی روی شاخص‌های تغذیه توسط محققان مختلف مورد بررسی قرار گرفته است. گزارشها نشان می‌دهد که کاهش نرخ رشد شپشه آرد توسط اسانس گیاه اودیا (*Evodia rutaecarpa*) عموما به خاطر امتناع حشره از تغذیه از غذای آغشته به اسانس (بازدارندگی تغذیه) می‌باشد (Liu & Ho, 1999).

در آزمایشی دیگر مشخص شد که عصاره صمغ آنغوزه *(Ferula asafetida)* و اسانس *Artemisia aucheri* روی حشرات کامل شپشه آرد خواص ضد تغذیه‌ای دارند (Moharramipour *et al*., 2003). در تحقیق حاضر نیز عصاره مورد استفاده اثر سمیت تنفسی و اثرات ضد تغذیه‌ای نشان داد.

استفاده صحیح از گیاهان دارویی مستلزم اطلاعات دقیق علمی و شناخت ترکیبات شیمیایی موجود در آنهاست زیرا وجود ترکیبات شیمیایی است که باعث اثر درمانی آنها می‌گردد. بادیان رومی *(Pimpinella anisum)* دارای فلاونوئید و ترکیبات فنلی بسیاری از جمله فلاونول گلوکوزید، فنولیک اسید، فنولیک گلوکوزید، هیدروکسی کومارین (آمبلی فرون) است به همین علت این گیاه یک آنتی‌اکسیدان طبیعی مهم می‌باشد (Tepe *et al*., 2010). در مطالعات

دیگری که بر روی گیاهان دیگر از جمله نعنا انجام شده است، وجود ترکیبات فنلی به اثبات رسیده است که عامل ایجاد فعالیت آنتی‌اکسیدانی طبیعی در گیاه هستند (Swetie *et al*., 2007). مدل به دام اندازی DPPH به طور گسترده برای ارزیابی توانایی به دام اندازی رادیکال آزاد در نمونه‌های مختلف مورد استفاده قرار می‌گیرد (Tamaino *et al*., 2005). DPPH یک رادیکال آزاد پایدار با اتم مرکزی نیتروژن بوده که با احیاء توسط فرآیندهای گرفتن هیدروژن یا الکترون رنگ آن از ارغوانی به زرد تبدیل می‌شود. ترکیبهایی که قابلیت انجام این عمل را دارند به عنوان یک آنتی‌اکسیدان مطرح می‌شوند (Chatchawan *et al*., 2008). بر پایه IC50 بدست آمده مشخص شد که عصاره برگی فعالیت بیشتری نسبت به عصاره بذر از خود نشان می‌دهد. قدرت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی برگ در مقایسه با آسکوربیک اسید کاملا قابل ملاحظه است. در تحقیقی که توسط Souri و همکاران (2008) با روش DPPH بر روی محتوی فنولیک عصاره بذر گیاه بادیان رومی انجام شده، مقدار IC50، 0.52 ± 101.26 میکروگرم بر میلی لیتر گزارش شده که نشانگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی پایین‌تر نسبت به نتایج حاصل از تحقیق حاضر بود. سنجش قدرت احیاکنندگی (آنتی‌اکسیدان) در نمونه ناشی از احیاء Fe^{2+} به Fe^{3+} با اهداء الکترون می باشد. میزان کمپلکس آهن با اندازه‌گیری میزان تشکیل رنگ آبی پروس در ۷۰۰ نانومتر قابل اندازه‌گیری است. افزایش جذب در این طول موج حاکی از افزایش قابلیت احیاکنندگی می‌باشد (Senji & Yuuya, 2008). همچنین عصاره‌های برگ قابلیت احیاکنندگی بهتری نسبت به عصاره‌های بذر از خود نشان داد. از آنجا که قابلیت احیاکنندگی عصاره‌های برگ بالا بود، می توان نتیجه گرفت که این عصاره ها با کمک اهداء الکترون موجب ختم واکنشهای زنجیره‌ای می‌شود. در ارزیابی خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی پونه *(Mentha longolifolia)* با روش DPPH میزان IC50 عصاره متانولی ۷۴/۴ میکروگرم در میلی‌لیتر اعلام شد که مشابه محدوده IC50 عصاره‌های گیاه بادیان رومی بود (Golluce *et al*., 2007). در بررسی حاضر مشاهده شد که در هر دو روش میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ و بذر گیاه بادیان رومی با افزایش غلظت بیشتر شد که در مطالعه Ebrahimzadeh et al. (2008) روی برگ و میوه گیاه *Feijoa sallowiana* روند مشابهی مبنی بر افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی به دنبال افزایش غلظت، بدست آمده است.

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق، عصاره گیاه بادیان رومی پتانسیل بالایی برای خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد و از توانایی لازم در کنترل آفت شپشه آرد (*Tribolium castaneum*) برخوردار است بنابراین می‌توان از فرمولاسیون‌هایی که محتوی این عصاره هستند در تدوین برنامه‌های کنترل آفت شپشه آرد استفاده نمود.

سپاسگزاری

از آقای مهندس فرشید شخصی زارع و خانم طرلان آیت به دلیل همکاری در انجام آزمایش‌ها، کمال تشکر و قدردانی می گردد

منابع

Al-Jabr, A.M. 2006. Toxicity and repellency of seven plant essential oils *Oryzaephilus surinamensis* and *Tribolium castaneum*. *Scientific Journal of King Faisal University*, 7(1): 49-60.

Chatchawan, C., Soottawat, B., Jakul, H. & Nattiga, S. 2008. Antioxidant components and properties of five long grained rice bran extracts from commercial available cultivars in thailands. *Journal of Food Chemistry*, 111: 641-636.

Ebrahimzadeh, M.A., Hosseinimehr, S.J., Hamidinia, A. & Jafari, M. 2008. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Feijoa sallowiana* fruits peel and leaves. *Journal of Pharmacology online*, 1: 7-14.

Farrar, R.R., Barbour, J.D. & Kennedy, G.G. 1989. Quantifying food consumption and growthin insects. *Annals of the Entomological Society of America*, 82: 593-598.

Gilligan, N.P. 2005. The palliation of nausea in hospice and palliative care patients with essential oils of *Pimpinella anisum, Foeniculum vulgare, Anthemis nobilis* and *Mentha piperita*. *The International Journal of Aromatherapy*, 15: 163-167.

Golluce, M., Sahin, F., Sokmen, M., Ozer, H., Daferera, D. & Sokmen, A. 2007. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Menta longifolia* L. *Journal of Food chemistry*, 103: 1449-1456.

Hauang, Y. & Ho, S.H. 1998. Toxcicity and antifeedant activity of cinnam aldehide against the grain storage insects. *Tribolium castaneum* and *Sitophilus zaemais*. *Journal of Stored Products Reserch*, 34: 11-17.

Ho, Y., Huang, S., Deng, J., Lin, Y., Chang, Y. & Huang, G. 2012. In vitro antioxidant properties and total phenolic contents of wetlands medicinal plants in Tainwan. *Journal of Botanical Study*, 53: 55-56.

Jalili, A., Heydari, R., Sadeghzade, A. & Alipour, S. 2012. Reducing power and radical scavenging activities of phenolic extracts from *Juglanregia* hulls and shells. *African Journal of Biotechnology*, 11(37): 9040 – 9047.

Kamkar, A. 2009. The study of antioxidant activity of essential oil and extract of Iranian *Anethum graveloens*. *Journal of Ofegh-e-Danesh*, 15: 11-17.

Kotan, R., Kordali, S., Cakir, A., Kesdek, M., Kaya, Y. & Kilik, H. 2008. Antimicrobial and insecticidal activities of essential oil isolated from Turkish *Salvia hydrangea* DC. *Journal of Biochemistry Systematic Ecollogical*, 36: 360-368.

Liu, Z.L. & HO, S.H. 1999. Bioactivity of essential oil extracted from *Evodia rutaecarpa* Hook f.et Thomus against the grain storage insects, *Sitophilus Zeamais* Motsch. And *Triboleum castaneum* (Herbst*). Journal of Stored Products Reserch*, 35: 317-328.

Ogendo, J.O., Deng, A.L., Kostyukovsky, M., Ravid, U., Matasyoh, J.C., Omolo, E.O., Kariuki, S.T., Bett, P.K., & Kamau, E.A.W. 2010. Fumigant toxicity of five essential oil constituents against major stored-product insect pests of food grains. *Journal of Research Application Summary*, 25: 325-332.

Mahdavi Arab, N., Ebadi, R., Hatami, B. & Talebi Jahromy, Kh. 2007. Insecticidal effect of extracts of some plants in the laboratory and on beetles, cowpea leaf cream sugar beet in greenhouse. *Journal of Tecnology of Agriculture and Natural Resources*, 11(42): 221-234.

Moharramipour, S., Nazemirafieh, J., Morovvati, M., Talebi, A.A. & Fathipour, Y. 2003. Effectiveness of Extracts of *Nerium oleander*, *Lavandula officinalis* and *Ferula assafoetida* on Nutritional Indices of *Tribolium castaneum* Adults. *Journal of Entomological Society of Iran*, 23(1): 69-86.

Pitasawat, B., Champakaew, D., Choochote, W., Jitpakdi, A., Chaithong, U., Kanjanapothi, D., Rattanachanpichai, E., Tippawangkosol, P., Riyong, D., Tuetun, B. & Chaiyasit, D. 2007. Aromatic Plant-derived essential oil: An alternative larvicide for mosquito control. Photochemistry, 78: 205-210.

Rabertson, J.L & Preisler, H.K. 1992. *Pesticide Bioassays with Arthropods.* CRC Press, USA.

Rafiei-Karahroodi, Z., Moharramipour, S., Farazmand, H. & Karimzadeh-Esfahani, J. 2008. Effect of eighteen plant essential oils on nutritional indices of larvae *Plodia interpunctella* Hubner. *Journal of Entomological Reserch Islamic Azad University*, 1(3): 209-219.

Sarac, I. 1995. Toxicity of essential oil vapours to stored product insects. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 102: 69-74.

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

Senji, S. & Yuuya, I. 2008. Comparison of antioxidant properties of persimmon vinegar and some other commercial vinegar in radical-scavening assay and on lipid oxidation in tuna homogenates. *Journal of Food Chemistry*, 107(2): 744-739.

Shojaii, A. & Abdollahi Fard, M. 2012. Review and Pharmacolojical Properties and Chemical Constituents of *Pimpinella anisum*. *International Scholarly Reserch Network*. 8p.

Souri, E., Amin, G., Farsam, H. & Barazandeh Tehrani, M. 2008. Screening of antioxidant activity and phenolic content of 24 medicinal plants extracts. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 186: 83-7.

Swetie, R., Raesh, Ch. & Arun, S. 2007. Antioxidant potential of mint (Mentha Spicata L.) inradiation processed lamb meat. *Journal of Food Chemistry*, 100: 451-458.

Tamaino, A., Cimino, F., Zimbalatti, V., Venuti, V., Salfaro, V., Pasquale, A.D. & Saija, A. 2005. Influence of heating on antioxidant activity and chemical composition of some spice essential oil. *Journal of Food Chemistry*, 89: 549-554.

Tapondjou, A.L., Adler, C., Fontem, D.A., Boud, H. & Reichmuth, C. 2005. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* and *Tribolium confusum*. *Journal of Stored Products Research*, 41: 91-102.

Tepe, B., Askin Akpulat, H., Sokmen, M., Daferera, D., Yumrutas, O., Aydin, E., Polissiou, M. & Sokmen, A. 2010. Screening of the antioxidative and antimicrobial properties of the essential oils of *Pimpinella anisetum* and *Pimpinella flabellifolia* from turkey. *Journal of Food chemistry*, 97: 719-724.

Wang, J., Li, Y. & Lei, C. 2005. The repellency and fumigant activity of *Artemisia vulgaris* essential oil to *Musca domestica vicina*. *Chinese Bulletin of Entomology*, 42: 51-53.

Plant Protection Journal
(Islamic Azad University, Shiraz Branch)
Vol. 6, No. 4, 2013 (309-322)

Efficiency of anise *Pimpinella anisum* extract on biological activity of *Tribolium castaneum* and its antioxidant functional

Parisa JONOBI[1], Ahmad MAJD[1], Aref MAROF[2], Shahla AMINI[1*]
1. Department of Plant Biology, Kharazmy University, Tehran, Iran
[*](Corresponding author: shahlaamini511@yahoo.com)
3. Department of Agricultural Entomology Research, Iranian Research Institute of Plant Protection, Tehran, Iran

Abstrac

The red flour beetles *Tribolium castaneum* is one of the most important pests of stored products, to control this pests plant extracts are suitable components as alternate for chemical pesticides. On the other hand herbs as natural resources that are antioxidant properties, The attention of researchers for use in the food and biological systems are located. In this research the efficiency of *Pimpinella anisum* extract on biological activity of anise *Tribolium castaneum* and its antioxidant functional is evaluated. In this study, the effect of seed extract of *anisum* on nutritional indices of adults *T. castaneum*, in 3 concentrations 50, 75 and 100 µl and respiratory toxicity effects of extracts (50, 89, 158, 281, 500 µl of extract per liter of air) was in vitro (29 ± 1°C and 65 ± 5% R.H.). Also the antioxidant effects of *P. anisum* was investigated by two methods, radical scavenging, DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method and reducing power of iron method. Nutrition a lindices showed that the highest and lowest concentration, respectively, has 86/94% and 68/82% inhibition of feeding. The highest mortality concentration was 500 µl/L of air at 24 hours. The required concentration to 50% mortality of population (LC50) at 24 hours after treatment was 215/19 µl/L of air. In DPPH test, the 50% inhibitory concentration of leaf extract was higher than seed extract, the same result was obtained from the power reducing of iron test.

Keywords: stored product pests, *Pimpinella anisum*, *Tribolium castaneum*, Biological activity, Apiaceae, Antioxidant