

بررسی ترکیبات شیمیایی میوه زیتون تلخ و اثر حشره‌کشی پودر و عصاره آن روی
Tribolium castaneum Herbst (Col. Tenebrionidae)

مریم پهلوان یلی*، محسن محمدی انایی

*استادیار گروه گیاه پزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

دانشجوی کارشناسی ارشد گروه گیاه پزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران

mrmpahlavan@gmail.com

چکیده

در این پژوهش، ترکیب‌های شیمیایی میوه زیتون تلخ و قابلیت حشره‌کشی عصاره و پودر آن روی حشره کامل شپشه آرد مطالعه و آزمایش‌های زیست‌سنجی به‌روش تماسی به‌صورت طرح کامل تصادفی در دمای 25 ± 5 درجه سلسیوس و رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد انجام شد. درصد مرگ و میر حشره کامل آفت، با کاربرد عصاره میوه زیتون تلخ در سه غلظت و در سه زمان و پودر میوه زیتون تلخ، در چهار دوز، پس از گذشت چهار زمان محاسبه شد. اختلاف معنی‌داری در درصد کشندگی عصاره و پودر، روی آفت در غلظت‌های مختلف پس از هریک از زمان‌های مورد مطالعه مشاهده شد. بر اساس نتایج، مرگ و میر با افزایش غلظت و گذشت زمان افزایش یافت. کمترین و بیشترین میزان تلفات، با کاربرد عصاره میوه زیتون تلخ به‌ترتیب در غلظت ۱۰ و ۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر پس از ۱۲ و ۳۶ ساعت (17.5 ± 2.0 درصد و 81.75 ± 11.89 درصد) بود. همچنین بالاترین و پایین‌ترین میزان تلفات به‌هنگام کاربرد پودر میوه زیتون تلخ، به‌ترتیب در دوز ۳ و ۶ گرم پس از ۲۴ و ۹۶ ساعت (2.33 ± 3 درصد و 92.00 ± 5.89 درصد) به‌دست آمد. بعلاوه ۵۲ ترکیب شیمیایی تشکیل‌دهنده میوه زیتون تلخ، با استفاده از دستگاه GC/Mass شناسایی و شش پیک در آن مشاهده شد.

کلمات کلیدی: شپشه آرد، سمیت تماسی، غلظت، GC/Mass

مقدمه

مدفوع و پوسته‌های لاروی خود، موجب آلوده شدن محصولات انباری و کاهش کیفیت و مرغوبیت آن‌ها می‌شود (۲، ۲۰). خسارت به محصولات انباری می‌تواند از زمان برداشت تا زمان مصرف اتفاق بیفتد. به‌طور معمول، از سموم شیمیایی تدخینی و مواد رادیواکتیو، برای کنترل آفات انباری استفاده می‌شود که

شپشه آرد (*Tribolium* (Col. Tenebrionidae) یکی از آفات مهم محصولات انباری، به‌ویژه آرد، در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری است (۱۵). این حشره علاوه بر تغذیه و خسارت مستقیم، تشکیل کلنی‌های بزرگ داده و با

محصولات انباری، خاصیت حشره‌کشی بیشتری از خود نشان داده است (۲۹).

جنس زیتون تلخ (*Melia L.*) متعلق به خانواده Meliaceae بوده و در ایران دارای دو گونه زیتون تلخ (*M. indica* (Adr.) و چریش (*Melia azedarach L.*) D. Brandis (Juss.) است. بر اساس بسیاری از پژوهش‌ها، عصاره برگ و میوه این گیاه خاصیت دارویی و فعالیت ضد ویروسی و میکروبی دارد و همچنین دارای اثرات تخم و لارو کشی در حشرات است (۸، ۳۰). نتایج پژوهش مدرس نجف آبادی (۲۰۱۰) نشان داد میزان دورکنندگی پودر برگ چریش، در مقایسه با پودر بذر و برگ اکالیپتوس روی شپشه آرد، بیشتر بود (۱۹). بسیاری از مطالعات نیز تاثیر تنظیم کنندگی رشد گیاهان خانواده Meliaceae را در مقابل بسیاری از آفات ثابت می‌کند (۴، ۱۱، ۱۳). هدف از این تحقیق بررسی ترکیب‌های ثانویه موجود در میوه زیتون تلخ و تاثیر حشره‌کشی پودر و عصاره آن در غلظت‌های مختلف روی شپشه آرد است، تا زمینه معرفی ترکیب‌های گیاهی مناسب و جایگزین سموم شیمیایی برای تولید محصول سالم فراهم شود.

مواد و روش‌ها

پرورش حشره

جمعیت اولیه شپشه آرد از آزمایشگاه حشره‌شناسی دانشگاه شهید باهنر کرمان تهیه و روی آرد در دمای 25 ± 5 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد و در شرایط تاریکی پرورش داده شد. جهت پرورش حشرات از ظروف پلاستیکی به طول ۱۰ و عرض ۱۵ سانتی‌متر که روی درب ظرف جهت تهویه هوا با یک

هر دو اثرات جبران‌ناپذیری بر سلامت انسان و محیط زیست دارند. یکی از روش‌های جایگزین و سالم، استفاده از حشره‌کش‌های طبیعی است (۲۳، ۲۶) کاربرد ترکیب‌های ثانویه گیاهی به‌عنوان سموم گیاهی، در دهه‌های اخیر به دلیل سمیت کم برای انسان و تجزیه سریع آن باعث استفاده گسترده از آن‌ها جهت کنترل آفات کشاورزی به‌خصوص آفات انباری در بسیاری از نقاط دنیا شد (۲۴، ۲۸). متابولیت‌های ثانویه گیاهی شامل آلکالوئیدها، تربنوئیدها، ترکیب‌های فنولیک و سایر ترکیب‌های دیگر است که تاثیرهای مختلفی مانند دورکنندگی، کشندگی و ضد تغذیه‌ای، در برابر گروه‌های زیادی از حشرات از جمله سخت بال‌پوشان (آفات انباری) دارا هستند (۱، ۱۷، ۲۵).

چندین مطالعه در این راستا مانند تاثیر حشره‌کشی عصاره گیاهان گندواش (*Artemisia annual L.*) و آفتی (*Sambucus ebulus L.*) روی شپشه آرد، *Tribolium Confusum* Duv. (۱۸)؛ بررسی ترکیب‌های شیمیایی و اثر حشره‌کشی اسانس برگ نارنج *Citrus aurantium L.* روی سه آفت مهم انباری (۵)؛ بررسی میزان حشره‌کشی پودر و عصاره چهار گیاه دارویی روی *Sitophilus oryzae* (L) *Ryzopertha*، *Oryzaephilus mercator* (Faur) *dominica* (Fabr.) (۱۶) و تاثیر عصاره چند گیاه دارویی رو شپشه آرد (۲۱) انجام شده است. همچنین پودر برگ و میوه برخی از گونه‌های اکالیپتوس به‌صورت مخلوط با محصولات انباری خاصیت دورکنندگی بیشتری برای شپشه آرد نسبت به عصاره استخراج شده از برگ و میوه این گیاهان دارد. در حالی که کاربرد عصاره‌های استخراج شده از اندام‌های دیگر این گیاهان به‌صورت محلول‌پاشی روی

"پهلوان یلی و محمدی، بررسی ترکیبات شیمیایی میوه زیتون تلخ و اثر حشره‌کشی پودر و ..."

توری مسدود شده بود، استفاده شد. این ظروف با حدود یک سوم آرد پر شدند و بعد از گذشت ده روز از تخم‌گذاری حشرات کامل، آردها الک و به ظرف دیگری حاوی آرد سالم (به‌منظور بدست آوردن جمعیت یکنواخت) منتقل شدند.

تهیه پودر و عصاره گیاهی

میوه گیاه زیتون تلخ، از منطقه ماهان استان کرمان تهیه و پس از خشک شدن در سایه توسط آسیاب برقی به مدت ۵ دقیقه پودر شد. برای تهیه عصاره گیاهی میوه زیتون، ۱۵۰ گرم از پودر حاصله از هر گیاه در یک ارلن شیشه‌ای با ۵۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۰ درصد مخلوط شد. درب ارلن شیشه‌ای را با پارافیلیم بسته و بعد از ۵ دقیقه هم‌زدن محتویات موجود، ارلن به مدت ۲۴ ساعت در یخچال داخل یک فویل آلومینیومی نگه‌داری شد تا از تابش نور خورشید به آن جلوگیری شود. بعد از گذشت زمان مورد نظر، عصاره گیاهی، توسط کاغذ صافی از باقی مانده گیاهی جدا و پس از چند ساعت زیر هود آزمایشگاه، عمل تبخیر شدن حلال صورت گرفت تا عصاره خشک و خالص گیاهی فراهم شود. عصاره جامد مدت زمان کوتاهی در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد داخل یخچال نگه‌داری و برای انجام هر آزمایش، عصاره حاصل با آب مقطر رقیق و غلظت‌های ۱۰، ۵۰ و ۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه شد.

آزمایش‌های زیست‌سنجی

سمیت عصاره میوه زیتون روی حشره کامل

سمیت تماسی عصاره اتانولی میوه زیتون تلخ، روی حشرات کامل شپشه آرد در شرایط آزمایشگاهی انجام شد. بدین‌صورت که در هر آزمایش، از ۳ غلظت

مختلف عصاره (۱۰، ۵۰ و ۸۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در ۴ تکرار استفاده شد. در تیمار شاهد نیز از آب مقطر استفاده شد. کاغذهای صافی با غلظت‌های مختلف عصاره آغشته و پس از خشک شدن به‌طور جداگانه داخل پتری قرار داده شد. در هر پتری دیش ۱۰ حشره کامل شپشه آرد را در وسط کاغذ صافی قرار داده و تعداد حشرات مرده پس از زمان‌های مورد نظر (۱۲، ۲۴ و ۳۶ ساعت) شمارش و ثبت شد. ملاک تشخیص حشرات مرده، عدم بروز عکس‌العمل در پاها و شاخک‌ها در صورت تحریک به وسیله قلم‌مو بوده است. کلیه آزمایش‌ها در ژرمیناتور با شرایط دمایی 25 ± 5 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 65 ± 5 و در تاریکی انجام شد.

سمیت پودر میوه زیتون روی حشره کامل

۵۰ گرم آرد گندم در ظروف ۲۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد، سپس مقادیر ۳، ۴، ۵ و ۶ گرم از پودر گیاهی به هر یک از ظروف اضافه شد. آرد گندم و پودرها به‌طور کامل باهم ترکیب و ۵۰ گرم آرد تیمار نشده هم به‌عنوان شاهد تنظیم شد. در مرحله بعد، ۵ جفت حشره کامل در ظروف آزمایش قرار داده و مرگ و میر حشرات پس از ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت شمارش و یادداشت شد.

شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده میوه زیتون تلخ

شناسایی ترکیب‌های تشکیل دهنده میوه زیتون تلخ با استفاده از کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC-MS) انجام شد. برای تجزیه و تحلیل، از دستگاه Varian مدل ۳۸۰۰ مجهز به ستون DB-5 به طول ۶۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر استفاده شد. دمای آون از

هشتاد درجه سانتی گراد شروع و دو دقیقه بعد، با سرعت ده درجه بر دقیقه به دویست و چهل (به مدت دو دقیقه) و در مرحله سوم با سرعت ده درجه بر دقیقه به دویست و هشتاد درجه سانتی گراد (به مدت پنج دقیقه) رسید. زمان کل آزمایش ۲۹ دقیقه به طول انجامید. از گاز حامل هلیوم با سرعت ۲ میلی متر بر دقیقه و انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت استفاده شد. شناسایی این ترکیب های با استفاده از پارامترهای مختلف از قبیل زمان بازداری (RT)، مطالعه طیف های جرمی و مقایسه این طیف ها با ترکیب های استاندارد و دانسته های موجود در کتابخانه رایانه دستگاه GC-MS (NIST Ver.2.00, 2008) صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

تمامی آزمایش ها در قالب طرح کامل تصادفی و در ۴ تکرار انجام شد. تجزیه واریانس داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS v22 انجام و در صورت معنی دار بودن، با استفاده از آزمون توکی در سطح ۵ درصد مقایسه میانگین شدند.

نتایج

میانگین درصد مرگ و میر حشرات کامل شپشه آرد

در اثر کاربرد غلظت های مختلف عصاره میوه زیتون تلخ، پس از هریک از زمان های مورد مطالعه تفاوت معنی داری نشان داد که مقایسه میانگین آن ها در جدول ۱ ارایه شده است. بیشترین و کمترین درصد کشندگی عصاره میوه زیتون تلخ روی شپشه آرد پس از ۱۲ ساعت، به ترتیب در غلظت ۸۰ و ۱۰ میکرو گرم بر میلی لیتر به طور معنی دار به دست آمد. در این بازه زمانی، درصد کشندگی عصاره میوه زیتون تلخ در غلظت ۵۰ میکرو گرم بر میلی لیتر حالت حد واسط را داشت ($f=38/16$ ، $df=29$ ، $p\leq 0/001$ ؛ جدول ۱). همچنین عصاره میوه زیتون تلخ در غلظت ۵۰ و ۸۰ میکرو گرم بر میلی لیتر، در مقایسه با غلظت ۱۰ میکرو گرم بر میلی لیتر به طور معنی دار، درصد تلفات بیشتری روی شپشه آرد پس از ۲۴ و ۳۶ ساعت نشان داد (به ترتیب $f=14/02$ ، $df=29$ ، $p\leq 0/05$ و $f=19/59$ ؛ جدول ۱). به طور کلی میزان مرگ و میر حشرات کامل شپشه آرد با کاربرد عصاره میوه زیتون از $17/5\pm 2/50$ درصد در غلظت ۱۰ میکرو گرم بر میلی لیتر پس از ۱۲ ساعت تا $81/75\pm 11/89$ درصد در غلظت ۸۰ میکرو گرم بر میلی لیتر پس از ۳۶ ساعت متغیر بود.

جدول ۱- درصد مرگ و میر شپشه آرد در اثر کاربرد عصاره زیتون تلخ *Melia azedarach* L.

Plant material	% Mortality (Mean $\pm$ SE) in hours			
	Concentration (μ g/ml)	12h	24h	36h
<i>Melia azedarach</i> L. extract	10	17.50 $\pm$ 2.50c	19.25 $\pm$ 2.84b	21.25 $\pm$ 3.28b
	50	37.00 $\pm$ 2.36b	43.08 $\pm$ 4.95a	62.38 $\pm$ 2.15a
	80	46.75 $\pm$ 2.36a	50.50 $\pm$ 4.11a	81.75 $\pm$ 11.89a

حروف مشابه در هر ستون نشانه عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال $\alpha=0/05$ است

"پهلوان یلی و محمدی، بررسی ترکیبات شیمیایی میوه زیتون تلخ و اثر حشره‌کشی پودر و ..."

میانگین درصد مرگ و میر حشرات کامل شپشه آرد در اثر کاربرد دوزهای مختلف پودر میوه زیتون تلخ پس از هریک از زمان‌های مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری نشان داد که مقایسه میانگین آن‌ها در جدول ۲ ارایه شده است. درصد کشندگی پودر میوه زیتون تلخ روی شپشه آرد پس از ۲۴ ساعت در دوز ۵ و ۶ گرم در مقایسه با دوز ۳ گرم به‌طور معنی‌داری بیشتر بود. درصد کشندگی این پودر در دوز ۴ گرم اختلاف معنی‌داری با دوزهای ۳، ۵ و ۶ گرم پس از ۲۴ ساعت نشان نداد ($f=4/47$, $df=3,12$, $p\leq 0/05$; جدول ۲). براساس نتایج حاصل، درصد کشندگی پودر میوه زیتون تلخ در سه دوز ۴، ۵ و ۶ گرم در مقایسه با دوز ۳ گرم پس از ۴۸ ساعت به‌طور معنی‌داری بیشتر بود ($f=16/66$, $df=3,12$, $p\leq 0/001$; جدول ۲). همچنین پودر زیتون تلخ در دوز ۵ و ۶ گرم در مقایسه با دوز ۳ و ۴ گرم به‌طور معنی‌دار درصد تلفات بیشتری روی شپشه آرد پس از ۷۲ و ۹۶ ساعت نشان داد (به‌ترتیب $f=41/12$, $df=3,12$, $p\leq 0/001$ و $f=38/93$, $df=3,12$, $p\leq 0/001$; جدول ۲). به‌طور کلی میزان مرگ و میر حشرات کامل شپشه آرد با کاربرد پودر میوه زیتون تلخ روی حشرات کامل شپشه آرد، از $3/33\pm 2/36$ درصد (دوز ۳ گرم پس از ۲۴ ساعت) تا $5/89\pm 0/92$ درصد (دوز ۶ گرم پس از ۹۶ ساعت) متغیر بود.

جدول ۲- درصد مرگ و میر شپشه آرد در آرد گندم تیمار شده با پودر گیاه زیتون تلخ *Melia azedarach* L.

Plant material	Dosage (gr)	% Mortality (Mean $\pm$ SE) in hours			
		24h	48h	72h	96h
<i>Melia azedarach</i> L. powder	3	3.33 $\pm$ 2.36b	4 $\pm$ 2.36c	14.44 $\pm$ 2.72b	21.00 $\pm$ 3.42b
	4	6.75 $\pm$ 2.36ab	14.25 $\pm$ 2.14b	17 $\pm$ 2.83b	35.00 $\pm$ 3.02b
	5	13.33 $\pm$ 2.36a	23.33 $\pm$ 2.36ab	39.67 $\pm$ 1.18a	80.00 $\pm$ 8.16a
	6	14.00 $\pm$ 2.36a	24.78 $\pm$ 2.77a	51.00 $\pm$ 3.72a	92.00 $\pm$ 5.89a

نتایج تجزیه و تحلیل ترکیب‌های شیمیایی میوه زیتون تلخ بر اساس کروماتوگرافی گازی شامل نام ترکیب شیمیایی، فرمول مولکولی (MF) و زمان بازداری (RT) در جدول ۳ نشان داده شده است.

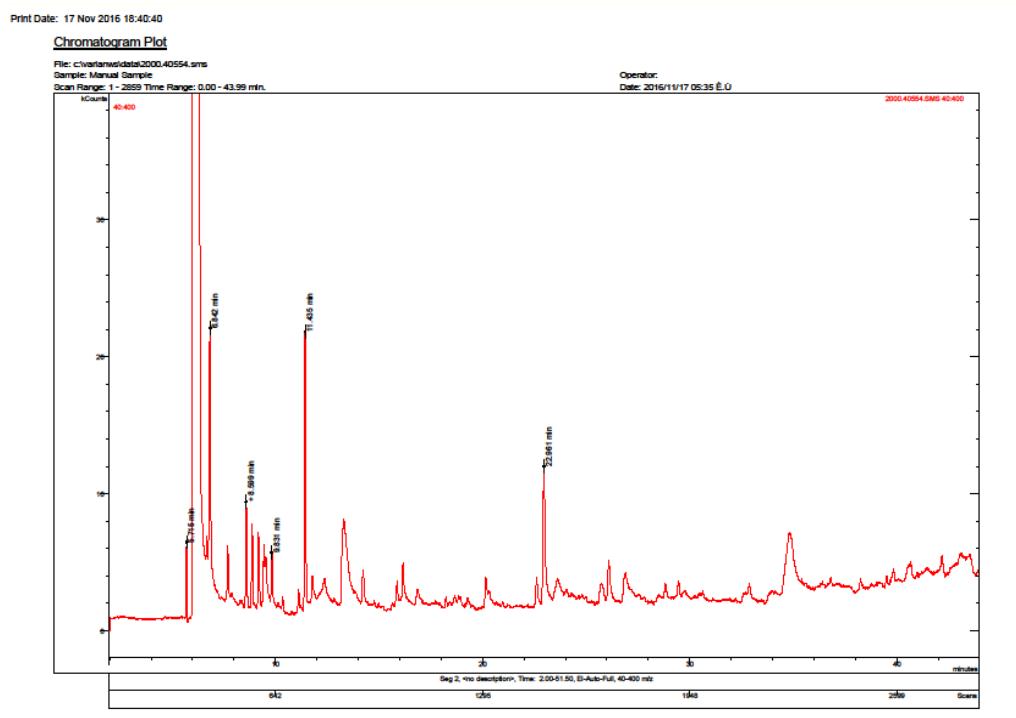
جدول ۳- ترکیب‌های شیمیایی شناسایی شده در عصاره میوه زیتون تلخ (*Melia azedarach* L.) با استفاده از GC/MS

Sr.no.	Retention Time (min)	Formula	Phytochemical compound
1	6.842	C ₂ H ₄ OS	Methanecarbothiolic acid
2	8.599	C ₄ H ₈ O ₂	Ethyl Acetate
3	13.815	C ₃ H ₅ FO	2-Propanone, 1-fluor
4	16.163	C ₅ H ₁₀ O ₂	Acetic acid, 1-methylethyl ester
5	16.876	C ₅ H ₁₀ O ₂	n-Propyl acetate
6	9.454	C ₂ H ₅ NO ₂	Acetohydroxamic Acid
7	11.123	C ₃ H ₄ O ₂	Methylglyoxal
8	11.435	C ₆ H ₉ NO ₄	N,N,O-Triacetylhydroxylamine
9	14.277	C ₃ H ₄ O ₃	Propanoic acid, 2-oxo-
10	7.708	C ₄ H ₆ O ₃	Acetic anhydride
11	5.715	C ₆ H ₁₄ O ₂	Ethane, 1,1-diethoxy-
12	24.802	C ₇ H ₁₆ O ₂	Propane, 1-(1-ethoxyethoxy)-
13	26.099	C ₅ H ₁₄ OSi	(Methoxymethyl)trimethylsilane
14	27.287	C ₄ H ₈ O ₃	1,3-Dioxan-5-ol
15	27.536	C ₄ H ₈ O ₃	2-Methoxy-1,3-dioxolane
16	29.455	C ₇ H ₁₆ O ₃	Butane, 1,2,4-trimethoxy-
17	11.788	C ₃ H ₇ NO ₂	Propane, 2-nitro
18	12.375	HN ₃	Hydrogen azide
19	13.847	C ₄ H ₉ N	Cyclobutylamine
20	20.162	C ₆ H ₁₂ O ₄	1,2,4,5-Tetroxane, 3,3,6,6-tetramethyl
21	22.610	C ₄ H ₇ NO ₂	2,3-Butanedione, monooxime
22	6.689	C ₆ H ₁₂ O ₂	2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl-
23	15.879	C ₆ H ₉ ClO ₃	2-Acetoxyisobutryl chloride
24	26.892	C ₇ H ₁₆ O ₂	2,4-Dimethyl-2,4-pentanediol
25	27.065	C ₆ H ₁₂ O ₃	1,3-Dioxolane-2-methanol, 2,4-dimethyl-
26	27.203	C ₇ H ₁₆ O	2-Pentanol, 2,4-dimethyl-
27	8.882	C ₃ H ₆ O ₃	2-Propanone, 1,3-dihydroxy
28	9.187	C ₆ H ₁₂ O ₆	dl-Glyceraldehyde dimer
29	10.359	C ₃ H ₉ NO ₂	3-Amino-1,2-propanediol
30	13.847	C ₃ H ₆ O ₃	Propanal, 2,3-dihydroxy-
31	23.594	C ₂ H ₇ NO	Methanamine, N-hydroxy-N-methyl-
32	23.864	C ₅ H ₈ O ₂	Acetic acid, 2-propenyl ester
33	24.310	C ₃ H ₉ NO ₂	2-Amino-1,3-propanediol
34	24.371	C ₅ H ₁₀ O ₅	DL-Arabinose
35	24.429	C ₂ H ₈ N ₂	Ethylenediamine
36	24.643	CH ₅ N ₃ S	Hydrazinecarbothioamide
37	2.033	C ₆ H ₈ O ₄	4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-
38	22.961	C ₆ H ₈ O ₄	2,4-Dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furan-3-one
39	28.831	C ₈ H ₁₆ O ₂	2-Propyl-tetrahydropyran-3-ol
40	29.748	C ₆ H ₁₂ O ₂	1,3-Dioxolane, 2,4,5-trimethyl-
41	29.865	C ₁₀ H ₁₄ O ₇	Threose triacetate
42	29.799	C ₆ H ₁₂ O ₂	1,3-Dioxane, 2,4-dimethyl-
43	30.434	C ₉ H ₁₇ NO ₄	N-(1-Methoxycarbonyl-1-methylethyl)-4-methyl-2-aza-1,3-dioxane
44	8.982	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	Sucrose
45	9.538	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	β-D-Glucopyranose, 4-O-β-D-galactopyranosyl-
46	9.831	C ₁₈ H ₃₂ O ₁₆	α-D-Glucopyranoside, O-α-D-glucopyranosyl-(1.fwdarw.3)-β-D-fructofuranosyl
47	11.788	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	D-Glucose, 4-O-α-D-glucopyranosyl
48	13.309	C ₆ H ₈ O ₄	2,3-Anhydro-d-galactosan
49	15.879	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	α-D-Glucopyranose, 4-O-β-D-galactopyranosyl-
50	21.319	C ₁₂ H ₂₂ O ₁₁	Lactose
51	24.047	C ₁₀ H ₁₇ NO ₆ S	Desulphosinigrin
52	25.744	C ₆ H ₁₂ O ₄	Digitoxose

"پهلوان یلی و محمدی، بررسی ترکیبات شیمیایی میوه زیتون تلخ و اثر حشره‌کشی پودر و ..."

پیک‌های بعدی بترتیب Ethyl Acetate، α -D-Glucopyranoside، O- α -D-glucopyranosyl-N,N,O-(1,6-darw.3)- β -D-fructofuranosyl-2,4-Dihydroxy-2,5- و Triacetylhydroxylamine و dimethyl-3(2H)-furan-3-one بوده است (شکل ۱).

کروماتوگرام تجزیه و تحلیل GC/MS حاصل از عصاره اتانولی میوه زیتون تلخ، ۶ قله اصلی (peak area) را نشان داد که ترکیب‌های آن به ترتیب شامل موارد زیر است. اولین پیک مربوط به 1,1-Ethane, 1,1-diethoxy-، پیک دوم Methanecarbothiolic acid و



شکل ۱- کروماتوگرام GC/MS حاصل از عصاره اتانولی میوه زیتون تلخ (*Melia azedarach* L.)

بحث

به دست آمد. درصد مرگ و میر بالا می‌تواند به علت عدم توانایی تغذیه حشره از ماده غذایی، وقتی با ترکیب گیاهی مخلوط می‌شود، باشد که باعث مرگ در اثر گرسنگی می‌شود. همچنین بسته شدن منافذ تنفسی حشره با ترکیب‌های گیاهی نیز می‌تواند باعث اختلال در تنفس، خفگی و در نتیجه مرگ و میر حشرات شود (۱۶). مدرس نجف آبادی (۱۹) نشان داد که پودر برگ چریش دارای خاصیت حشره‌کشی بیشتری نسبت به پودر بذر و برگ اکالیپتوس است.

حشره‌کش‌های گیاهی می‌تواند جایگزین مناسبی برای سموم شیمیایی جهت کنترل آفات محصولات انباری به خصوص آفات خانواده‌های بالپولک‌داران و سخت بال‌پوشان باشند (۲۲). در تحقیق حاضر میزان مرگ و میر بیش‌تر از حد متوسط شیشه آرد، به‌هنگام کاربرد پودر میوه زیتون تلخ در دوز ۵ گرم پس از ۹۶ ساعت (۱۶/۸۰±۰/۱۶ درصد) و دوز ۶ گرم پس از ۷۲ و ۹۶ ساعت (به ترتیب ۷۲/۵۱±۳/۷۲ و ۸۹/۵۱±۵/۹۲ درصد)

همچنین این پژوهشگر گزارش کرد که میزان دورکنندگی پودر برگ چریش برای شپشه آرد (۸۶/۷ درصد) در مقایسه با پودر بذر و برگ اکالیپتوس (به ترتیب ۷۵ درصد و ۶۵ درصد) بیشتر است. در مطالعه ما، میزان مرگ و میر شپشه آرد به هنگام کاربرد عصاره میوه زیتون تلخ در غلظت ۵۰ و ۸۰ میکروگرم بر میلی لیتر، پس ۳۶ ساعت بیشتر از حد متوسط (به ترتیب $62/38 \pm 2/15$ و $81/75 \pm 11/89$ درصد) بود. هاشم محمد (۱۴) اثر عصاره برگ *M. azadirach* را در چهار غلظت ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر روی *T. confusum* پس از سه فاصله زمانی (۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) بررسی کرد. نتایج این پژوهشگر نشان داد میزان مرگ (LD50) در غلظت ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر در زمان ۲۴ ساعت، ۷۶/۶۷ درصد بوده است. یافته های کاسیدا (۷) نشان داد، سمیت ترکیب های شیمیایی گیاهی روی *T. castaneum* وابسته به فاکتورهای زیادی است که از بین آنها حساسیت حشره و محتویات شیمیایی ترکیب گیاهی، دارای بیشترین تاثیر هستند. پژوهش فانگ و همکاران (۱۰) نشان داد گونه های جنس *Tribolium*، در گروه آفات انباری با کمترین حساسیت قرار دارند و اغلب نسبت به سایر سخت بال پوشان انباری، کمترین مرگ و میر را دارند. مطالعات چادا و همکاران (۶) نشان داد که پودر بذر و برگ زیتون تلخ رو لارو شپشه آرد، اثر کشندگی بیشتری نسبت به حشره بالغ دارد. در بسیاری از پژوهش ها، تری ترپنویدهای موجود در بذر *M. azadirach* به عنوان یک بازدارنده تغذیه ای قوی روی شپشه آرد و مدیریت این آفت گزارش شده است

(۱۴، ۱۷). در تحقیق حاضر، ۵۲ ترکیب شیمیایی در عصاره اتانولی میوه زیتون تلخ با وزن های مولکولی متفاوت با استفاده از GC/MS شناسایی شد که بیشترین پیک متعلق به Ethan, 1,1- diethoxy (۹۱/۷ درصد) بود. در مطالعه ای دیگر، متیل پالمات (۱۸/۸ درصد)، متیل لینالئات (۱۶/۱ درصد) و متیل لینولیت (۹/۸ درصد)، بیشترین ترکیب های تشکیل دهنده عصاره هگزانی میوه زیتون تلخ در منطقه گلستان گزارش شده است (۱۲). البته نوع حلال، در جداسازی ترکیب های شیمیایی تاثیر قابل توجهی دارد و از دلیل تفاوت نوع ترکیب های شناسایی شده است. به طور کلی، تجزیه شیمیایی گیاهی عصاره اتانولی کلیه قسمت های گیاه زیتون تلخ (*M. azedarach*) وجود ترپنویدها، استروئیدها، لیمونوئیدها، هیدروکربن ها، ساپونین، آلکالوئیدها و تانن ها را نشان داده است (۳، ۲۷). البته میوه این گیاه بیشتر دارای ترکیب های تری ترپنوییدی (Triterpnoids) به خصوص لیمونوئیدها و اسیدهای مختلف است (۹)، که تاییدی بر مطالعه ما هست. این ترکیب ها دارای خاصیت حشره کشی بوده و قادر به جلوگیری از رشد، دگردیسی و تغذیه حشره می باشند (۸). بی شک سموم گیاهی، حشره کش های ارزشمند و قابل توجهی هستند و با تولید در سطح تجاری می توان استفاده مناسب و بجا از آنها نمود. باتوجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه، می توان گفت میوه زیتون تلخ اثر قابل توجهی روی مرگ و میر شپشه آرد دارد. این تحقیق می تواند در کاهش کاربرد حشره کش های مصنوعی موثر بوده و زمینه استفاده از حشره کش های طبیعی گیاهی که ارزان تر، تجزیه پذیرتر و و سالم تر هستند فراهم کند.

References

فهرست منابع

- 1- **Ascher KRS, Schmutterer H, Zebitz CPW, Naqvi SNH. 1995.** The persian lilac or chinaberry tree: *Melia azedarach* L. In: Schmutterer, H. ed., The Neem Tree. VCH. Weinheim, Federal Republic of Germany. pp. 605-642.
- 2- **Bagheri-Zenouz E. 1986.** Stored products pests and its control methods. 2nd ed. Sepehr Publishing. 309 pp. (In Farsi)
- 3- **Bahuguna Y, Patil K, Rawat MSM, Jalalpure, S, Uniyal S. 2009.** "Antiulcer activity of *Melia azedarach* Linn in aspirin induced and pylorus ligated rats", Journal of Pharmacy Research 2: 1456–1459.
- 4- **Banchio E, Valladares G, Defago M, Palacio SS, Carpinella C. 2003.** "Effects of *Melia azedarach* (Meliaceae) fruit extracts on the leaf miner *Liriomyza haidobrensis* (Diptera: Agromyzidae): assessment in laboratory and field experiments". Annals of Applied Biology 143: 187-193.
- 5- **Bande-Borujeni Sh, Zandi-Sohani N, Ramezani L. 2016.** Chemical composition and insecticidal effects of essential oil from *Citrus aurantium* L. leaves on three major stored product pests. Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture) 38(4): 32p. (In Farsi)
- 6- **Bounechada M, Arab R, Begam W, Takerkert Z. 2009.** Effects of *Melia azedarach* l. and *Ocimum basilicum* l, Extracts against the stored products pest *Tribolium castaneum* Herbst, Arab Journal of Plant Protection 27: 110-120.
- 7- **Casida JH. 1990.** Pesticide mode of action, evidence for implications of a finite number of biochemical targets, in: J.E. Casida (Ed.), Pesticides and Alternatives, Innovative Chemical and Biological Approaches to Pest Control, Elsevier Amsterdam pp. 11-22.
- 8- **Corpinella MC, Miranda M, Almiron WR, Ferrayoli CG, Almedia FL, Palacios S. 2007.** In vitro pediculicidal and ovicidal activity of an extract and oil from fruit of *Melia azedarach* L. Journal of American Academic Dermatology 56: 250-256.
- 9- **Deepika Sh, Yash P. 2013.** Preliminary and Pharmacological Profile of *Melia azedarach* L.: An Overview. Journal of Applied Pharmaceutical Science 3(12): 133-138.
- 10- **Fang L, Subramanyam BH, Arthur FH. 2002.** Effectiveness of spinosad on four classes of wheat against five stored product insects. Journal of Economic Entomology 95: 640-650.
- 11- **Gaymer T, Singh R, Saini RK, Kalidhar SB. 2001.** "Effect of methanolic extracts of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) and bakain (*Melia azedarach* L.) seeds on oviposition and egg hatching of *Earias vittella* (Fab.) (Lepidoptera: Noctuidae)". Journal of applied Entomology 126: 238-234.
- 12- **Hadjiakhoondi A, Vatandoost H, Khanavi M, Sadeghipour-Roodsari HR, Vosoughi M, Kazemi M, Abai MR. 2006.** Fatty acid composition and toxicity of *Melia azedarach* L. fruits against malaria vector *Anopheles stephensi*. Iranian Journal of Pharmaceutical Sciences 2(2): 97-102.
- 13- **Hammal AEM, Zournajian H, Talhouk S. 2001.** "Efficacy of extracts of *Melia azedarach* L. Callus, leaves and fruits against adults of the sweet potato whitefly *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae)". Journal of applied Entomology 125: 483-488.
- 14- **Hashim Mohammad H. 2012.** Insecticidal Effect of Different Plant Extracts against *Tribolium confusum* (du val) (Coleoptera: Tenebrionidae). Journal of Agricultural Science and Technology A (2): 1175-1181.
- 15- **Hollingsworth CS, Coil WM, Murray KD, Ferro DN. 2002.** Intergrated Pest Management for Northeast Schools. Natural Resource, Agriculture and Engineering Service. NRAES-152, pp.60.

- 16- **Ileke KD, Ogunbite OC. 2014.** Entomocidal Activity of Powders and Extracts of Four Medicinal Plants against *Sitophilus oryzae* (L), *Oryzaephilus mercator* (Faur) and *Ryzopertha dominica* (Fabr.). Jordan Journal of Biological Sciences 7(1): 57-62.
- 17- **Isman MB, Gunning PJ, Spollen KM. 1997.** Tropical timber species as sources of botanical insecticides, in: P.A. Hedin, R.M. Hollingworth, E.P. Masler, J. Miyamoto, D. G. Thompson (Eds.), Phytochemicals for Pest Control, American Chemistry of Society Symposium Series 658: 27-37.
- 18- **Jalali Sendi J, Haghighian F, Ali Akbar AR. 2003.** Insecticidal Effects of *Artemisia annua* L. and *Sambucus ebulus* L. Extracts on *Tribolium Confusum* Duv. Iranian Journal of Agricultural Science 34(2): 313-319. (In Farsi)
- 19- **Modarres Najafabadi SS. 2010.** Evaluate effects of *Azadirachta indica* Adr. Juss. leaf powder and *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. seed and leaf powder on stored product pests (*Trogoderma granarium* and *Tribolium* sp.) of wheat and barley. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 25(4): 513-527. (In Farsi)
- 20- **Modarres Najafabadi SS, Fanai H, Ghlamian Gh. 2006.** Study on Eucalyptus Product Uses (Seed and Leaf Powder) on Stored Product Pests of Wheat and Barley in Sistan Region-Iran. Iranian Journal of Medical and Aromatic Plants 22(2): 117-127. (In Farsi)
- 21- **Moharramipour S, Nazemi Rafih J. 2008.** Repellency of *Nerium oleander* L., *Lavandulla officinalis* L. and *Ferula assafoetida* L. extracts on *Tribolium castaneum* (Herbst). Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants 23(4): 443- 452. (In Farsi)
- 22- **Nathan SS, Choi M, Paik C, Seo H. 2007.** Food consumption, utilization and detoxification enzyme activity of the rice leaf folder larvae after treatment with *Dysoxylum triterpenes*. Pesticide Biochemistry and Physiology 88: 260-267.
- 23- **Navarro S, Finkelman S, Donahaya E, Dias R, Rindnner M, Azrieli, A. 2001.** Integrated storage pest control methods using vacuum or CO2 intransportable system. Meeting of the IOBC WPRS/OILB SROP working group integrated protection of stored products (eds. A. Cornel and S. Navarro), Lisbon Portugal P: 31.
- 24- **Pascual-Villalobos M. 1998.** Repelencia, inhibición del crecimiento y toxicidad de extractos vegetales en larvas de *Tribolium castaneum* Herbst. (Coleoptera: Tenebrionidae). Boletín de Sanidad Vegetal Plagas 24: 143-154.
- 25- **Rahman MM, Schmidt GH. 1999.** Effect of *Acorus calamus* (L.) (Araceae) essential oil vapours from various origins on *Callosobruchus phaseoli* (Gyllenhal) (Coleoptera:Bruchidae), Journal of Stored Product Research 35: 285-295.
- 26- **Rajendran S. 2001.** Alternatives to methyl bromide as fumigants for stored food commodities, The Royal Society of Chemistry 249-253.
- 27- **Suresh K, Deepa P, Harisaranraj R, Vaira Achudhan V. 2008.** Antimicrobial and phytochemical investigation of the leaves of CARICA PAPAYA L., CYNODON DACTYLON (L.) Pers., EUPHORBIA HIRTA L., MELIA AZEDARACH L. and PSIDIUM GUAJAVA L. Ethnobotanical Leaflets 12: 1184-1191.
- 28- **Topondjon AL, Adler C, Fontem, DA, Bouda H, Reichmuth, C. 2005.** Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Tribolium confusum* Duval. Journal of Stored Products Research 41: 91-102.
- 29- **Tripathi Pal RK, Prasad RA. 1996.** Relative toxicity certain plant extracts to Khapra beetle, *Trogoderma granarium*. Annals of plant protection sciences 4(1): 35-37.
- 30- **Wandscheer CB, Duque JEL, Navarro Silva MA, Fukuyama Y, Wohlke JL, Adelmann J, Fontana JD. 2004.** "Larvicidal action of ethanolic extracts from fruit endocarps of *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* against the dengue mosquito *Aedes aegypti*". Toxicon 44: 829-835.

"پهلوان یلی و محمدی، بررسی ترکیبات شیمیایی میوه زیتون تلخ و اثر حشره‌کشی پودر و ..."

Studying chemical compounds of *Melia azedarach* L. fruit and the insecticidal effect of extract & powder's on *Tribolium castaneum* Herbst (Col. Tenebrionidae)

Maryam Pahlavan Yali*, Mohsen Mohammadi Anaii

*Assistant professor, Department of Plant Protection, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran

MSc student, Department of Plant Protection, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran

mrmpahlavan@gmail.com

Abstract

In this study, chemical compounds of *Melia azedarach* L. fruit and the insecticidal effect of extract & powders was investigated on adult insects of *Tribolium castaneum* Herbst (Col. Tenebrionidae). Bioassays experiment with contact method was performed in a completely randomized design in laboratory conditions (temperature 25 ± 5 °C and relative humidity $65 \pm 5\%$). Mortality percentage of *T. castaneum* by *Melia* fruit extract calculated at three concentrations (10, 50 and 80 $\mu\text{g/ml}$) after 12, 24 & 36 hours and also by *Melia* fruit powder at four different dosage (3, 4, 5 and 6 gr) after 24, 48, 72 & 96 hours respectively. Significant differences were observed on mortality percentage of *T. castaneum* by *Melia* fruit extract and powder on different concentrations after each of the times. Based on the results, mortality increased with the passage of time. The lowest and highest mortality of *T. castaneum* was in use of *M. azedarach* fruit extract in 10 and 80 $\mu\text{g/ml}$ concentrations after 12 & 36 hours ($17.50 \pm 2.50\%$ & $81.75 \pm 11.89\%$) respectively. Also the highest and lowest mortality rate of adult insects was obtained when used *Melia* fruit powder at a dose of 3 and 6 grams after 24 & 96 hours ($3.33 \pm 2.36\%$ & $92.00 \pm 5.89\%$) respectively. In this study, 52 chemical compounds of the *Melia* fruit were identified by GC/Mass. The major material contains: Ethane, 1,1-diethoxy-; Methanecarbothiolic acid; Ethyl Acetate; α -D-Glucopyranoside, O- α -D-glucopyranosyl-(1.fwdarw.3)- β -D-fructofuranosyl; N,N,O-Triacetylhydroxylamine and 2,4-Dihydroxy-2,5-dimethyl-3(2H)-furan-3-one.

Keywords: *Tribolium castaneum*, contact toxicity, concentration, GC/Mass