Archive of SID

JESI

DOI: 10.22117/JESI.2019.122732.1248

نامه انجمن حشره‌شناسی ایران ۹۲-۸۱ ,(۱)۳۹ ,۱۳۹۸

JOURNAL OF ENTOMOLOGICAL SOCIETY OF IRAN
2019, 39 (1), 81-92

بررسی اثر کنه‌کشی روغن و عصاره متانولی بذر منداب *Eruca sativa* روی *Tetranychus urticae* (Red form)(Acari:Tetranichidae)

مریم معصومی[۱]، سعید محرمی پور[۱،*] و مهدی عیاری[۲]

۱- دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه حشره شناسی کشاورزی، تهران، ایران و ۲- دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی، تهران، ایران

*مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: moharami@modares.ac.ir

چکیده

در این پژوهش اثر کنه‌کشی روغن و عصاره‌ی متانولی بذر منداب *Eruca sativa* (Miller) (Brassicaceae) روی کنه *Tetranychus urticae* (Red form) (Acari:Tetranychidae) در شرایط آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفت. تلفات کنه‌های بالغ بعد از ۲٤ ساعت ارزیابی و مقادیر LC_{50} روغن و عصاره محاسبه شد. این مقادیر برای روغن و عصاره‌ی متانولی بذر منداب به ترتیب ۳۰٦۲ و ٥٦۷٤ میلی‌گرم بر لیتر به دست آمد. اندازه‌گیری میزان ایزوتیوسیانات روغن و عصاره متانولی بذر منداب با روش کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا (HPLC) نشان داد که میزان ایزوتیوسیانات اروسین در روغن منداب نسبت به عصاره متانولی آن بالاتر می‌باشد. همچنین آنالیز اسیدهای چرب روغن بذر منداب با استفاده از کروماتوگرافی گازی (GC) وجود ۱۲ نوع اسید چرب را در روغن نشان داد که سطح اسیدهای چرب آراشیدونیک، اولئیک و گامالینولنیک در آن بالا بود. با توجه به پایین بودن میزان ایزوتیوسیانات اروسین و اسیدهای چرب در عصاره متانولی بذر منداب می‌توان علت کنه‌کشی بیشتر روغن منداب را به نوع و مقدار ایزوتیوسیانات و اسیدهای چرب آن نسبت داد. بنابراین یافته‌های ما نشان داد که حضور فیتوکمیکال‌های فعال در روغن *E. sativa* نقش مهمی در اثر بخشی آن علیه کنه *T. urticae* دارد.

واژه‌های کلیدی: روغن منداب، ایزوتیوسیانات، اسید چرب، کنه‌کش

Acaricidal activity of *Eruca sativa* seed oil and its methanolic extract on *Tetranychus urticae* (Red form)(Acari:Tetranichidae)

Maryam Masoumi[1], Saeid Moharramipour[1,*]& Mehdi Ayyari[2]

1. Department of Agricultural Entomology, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran & 2. Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

*Corresponding author, E-mail: moharami@modares.ac.ir

Abstract

In this study, contact toxicity of *Eruca sativa* (Miller) (Brassicaceae) oil and its methanolic extract were examined on the adult female of *Tetranychus urticae* (Red form)) (Tetranychidae) at five concentrations and three replications set at 25 ± 1°C, 65 ± 5% RH and 16: 8 h (light: dark). The mortality was evaluated 24 h after treatment. The LC_{50}s of *E. sativa* oil and the methanol extract were 3062 and 5674 mg L^{-1}, respectively. Measurement of erucin as the main isothiocyanate compound in the oil and methanolic seed extract using high performance liquid chromatography (HPLC) showed that the amount of erucin in the oil was higher than methanol extract. Also, analysis of fatty acids in the oil using gas chromatography (GC) showed that there were 12 types of fatty acids in oil, high level of arachidonic, oleic and Y-linolenic acids. Due to the biological activity and phytochemical analysis, it can be concluded that

دریافت: ۱۳۹۷/۰٤/۳۱، پذیرش: ۱۳۹۸/۰۳/۲۰

دبیر تخصصی : یعقوب فتحی پور

www.SID.ir

Archive of SID

the higher amount of erucin and fatty acids in the oil, caused the higher acaricidal activity of *E. sativa* oil compared to methanolic extract. Therefore, our findings showed that the presence of main active phytochemicals in the *E. sativa* oil plays a decisive role in its efficacy.
Key words: *Eruca sativa* oil, Isothiocyanate, fatty acid, acaricid
Received: 22 July 2018, *Accepted:* 10 June 2019.

مقدمه

در سال‌های اخیر مصرف زیاد آفت‌کش‌های شیمیایی به دلیل بروز مقاومت در آفات، مسمومیت‌های ناشی از مصرف بیش از اندازه برای جانوران، آبزیان و حشرات مفید و نیز اثرات سوء باقی‌مانده آنها، مشکلات عدیده‌ای را برای سلامت انسان و محیط زیست فراهم آورده است (Nicolopoulou *et al*., 2016). بنابراین امروزه نیاز به جایگزین‌های غیرشیمیایی ایمن، ارزان، با امکان مصرف آسان و سازگار با محیط زیست بیشتر احساس می‌شود. سمومی که از مشتقات گیاهی تهیه می‌شوند دارای اثرات مضر کمتری روی پستانداران هستند و در محیط زیست به سرعت تجزیه می‌شوند. روغن‌ها و عصاره‌های گیاهی ترکیبات طبیعی با منشا گیاهی هستند و در کنترل آفات از اهمیت زیادی برخوردارند. بنابراین استفاده از مشتقات گیاهی می‌تواند به عنوان یک روش جایگزین در مدیریت آفات گیاهی مطرح شود (Khater, 2012). اثر بخشی بالا، سمیت کم برای موجودات غیر هدف، اثرات جانبی کمتر برای انسان و محیط زیست باعث مزیت ترکیبات طبیعی، روغن‌ها و اسانس‌های گیاهی نسبت به آفت‌کش‌های شیمیایی شده است (Isman, 2006; Pavela, 2015; Pavela & Benelli, 2016). گیاهان در مسیر تکاملی خود به یک سیستم دفاعی کارآمد در مقابل حشرات دست یافته‌اند و بعضی از آنها به عنوان منبع غنی ترکیبات ثانویه با خاصیت سمی تبدیل شده‌اند که منابع قابل توجهی از حشره‌کش‌های گیاهی می‌باشند (Rattan, 2010). از گیاهان حاوی ترکیبات ثانویه می‌توان گیاه منداب متعلق به تیره شب‌بویان، Brassicaceae را نام برد که از زمان‌های قدیم به عنوان گیاه دارویی مورد توجه قرار گرفته است (Garg & Sharma, 2014). منداب، *Eruca sativa* Mill گیاهی از تیره شب‌بویان است که حاوی مقادیر مختلف مشتقات گلوکوزینولات‌ها، ایزوتیوسیانات‌ها، بوتان و هگزان می‌باشد که عطر و رایحه خاص گیاه را تشکیل می‌دهند. گلوکوزینولات‌های موجود در شب بویان دارای اثرات ضد سرطانی، ضد قارچی، ضد باکتریایی و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی هستند (Kim *et al*., 2004). گلوکوزینولات‌ها توسط آنزیم میروزیناز به محصولات متنوع شامل ایزوتیوسیانات‌ها، تیوسیانات‌ها و نیتریل‌ها شکسته شده و هیدرولیز می‌شوند (Matusheski *et al*., 2006). ایزوتیوسیانات‌ها گروهی از ترکیبات شیمیایی با منشا گیاهی هستند که به فراوانی در گیاهان تیره شب‌بویان یافت می‌شوند. این ترکیبات به عنوان محصولات بسیار سمی حاصل از هیدرولیز گلوکوزینولات‌ها (Morra & Kirkegaard, 2002) در برابر طیف وسیعی از قارچ‌های خاکزی و باکتری‌های بیمارگر گیاهی موثر می باشند (Rosa & Rodrigues, 1999). از مطالعاتی که در مورد خواص حشره‌کشی گیاهان تیره شب‌بویان صورت گرفته است می‌توان به بررسی سمیت ترکیبات ایزوتیوسیاناتی روی شپشه آرد *Tribolium confusum* Du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) (Demirel *et al*., 2009) و بررسی سمیت ایزوتیوسیانات حاصل از گلوکوزینولات‌ها روی تخم سرخرطومی سیاه مو *Byctiscus betulae* L. (Borek *et al*., 1998) و مطالعه عصاره‌ی اتانولی *E. sativa* روی *Teteanychus cinnabarinus* Boisduval (Azaizeh *et al*, 2007) اشاره کرد. با توجه به اینکه روغن منداب توسط برخی گلخانه‌داران در کشور به‌صورت تجربی استفاده می‌شد، در این پژوهش به منظور پی بردن به خواص کنه‌کشی آن، سمیت تماسی روغن بذر و عصاره‌ی متانولی آن روی مراحل ماده‌های بالغ *Tetranychus urticae* (Red form) مورد بررسی قرار گرفت.

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش‌ها

پرورش گیاه لوبیا

برای پرورش کنه *T. urticae* از گیاه لوبیا قرمز *Phaseolus vulgaris* L. رقم اختر به عنوان میزبان استفاده شد. گلدان‌های لوبیا در شرایط استاندارد در دمای ۱±۲٦ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۱۰±٤۰ درصد و دوره‌ی نوری ۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند (Chen & Dai, 2015).

پرورش کنه تارتن دو لکه‌ای

برای ایجاد کلنی آزمایشگاهی برگ‌های آلوده به کنه *T. urticae* از جمعیت مزرعه‌ای دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس جمع‌آوری و روی لوبیاهای کاشته شده در گلدان‌های پلاستیکی منتقل شدند و در شرایط آزمایشگاهی در دمای ۱±۲٦ درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی۱۰±٤۰ درصد و دوره‌ی نوری (L:D) ۸: ۱٦ ساعت پرورش داده شد (Chen & Dai, 2015).

همسن‌سازی کنه‌ها

به منظور همسن‌سازی کنه‌ها طبق روش Sabelis & Dicke (1985) عمل شد. هر دیسک برگی متشکل از یک لایه پنبه استریل مرطوب شده با آب مقطر بوده و در کف ظرف پتری پهن گردید. پس از آماده‌سازی دیسک‌های برگی محتوی برگ‌های لوبیا در ظروف پتری به قطر ۱۰ سانتی‌متر، تعدادی از کنه‌های بالغ نر و ماده روی این دیسک‌ها رهاسازی شد و پس از ۲٤ ساعت کنه‌های بالغ موجود روی دیسک‌ها به کمک قلم مو حذف و تراکم معینی از تخم‌های هم سن (Cohort) به عنوان جمعیت اولیه به دست آمد. تا زمان بلوغ کنه‌ها، ظروف پتری در شرایط ثابت دمایی ژرمیناتور دمای ۲±۲٦ درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±٤۵ درصد و دوره‌ی نوری (L:D) ۸: ۱٦ ساعت نگهداری شد.

مواد مورد استفاده

مواد و حلال‌های مورد استفاده در مطالعه شامل استونیتریل، متانول و هگزان از شرکت Merck آلمان تهیه شد. اروسین استاندارد نیز از شرکت Cayman (USA) خریداری شد. عصاره تازه روغن منداب از اصفهان و بذر همان سال از شیراز (شرکت گورنگی) خریداری شد. امولسیفایر مورد استفاده برای فرمولاسیون روغن و عصاره‌ی منداب با نام TansoAct EC-oil از شرکت کیمیا پویش فرآیند تهیه شد. برای تهیه فرمولاسیون از امولسیفایر ۱۰ درصد استفاده شد.

استخراج عصاره متانولی

به منظور خارج کردن روغن از بذور مقدار۲۰۰ میلی لیتر هگزان روی ۲۰۰ گرم بذر منداب اضافه شد و به‌مدت ٤۸ ساعت روی همزن قرار داده شد. بعد از ٤۸ ساعت هگزان توسط صافی جدا شد (Zhang, 2016). بذرها بعد از خشک شدن توسط آسیاب برقی پودر شدند و مقدار ۱۰۰۰ میلی لیتر متانول به آن اضافه گردید و به مدت ٤۸ ساعت روی همزن قرار داده شد. پس از عبور از کاغذ صافی واتمن، حلال توسط دستگاه تقطیر در خلا ساخت شرکت IKA ساخت آلمان در دمای ۳۵ درجه‌ی سلسیوس و دور 100 rpm جدا شد. راندمان تولید عصاره خالص ٦/۷۵ درصد بود.

اندازه‌گیری و شناسایی ایزوتیوسیانات اروسین

www.SID.ir

Archive of SID

جداسازی، شناسایی و اندازه‌گیری ایزوتیوسیانات اروسین به روش Wathelet *et al*. (2004) با سه تکرار برای هر تیمار انجام شد. محلول رویی عصاره‌ی متانولی بعد از سانتریفیوژ شدن به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت 7000 g جدا شد و در میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی لیتری ریخته شد. برای تزریق به ستون مقدار ۱۰ میلی‌گرم از روغن و عصاره‌ی متانولی در ۱ میلی‌لیتر استونیتریل حل شد. نمونه‌ها به منظور تزریق به دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارآیی بالا یا HPLC (Waters, USA) توسط صافی‌های سرسرنگی ۰/۲۲ میکرومتر صاف شدند. برای جداسازی از ستون مخصوص جداسازی EC 250/4.6 NEUCLEODUR 100-6 C18 ec ساخت کمپانی Macherey-Nagel استفاده شد. فاز متحرک مورد استفاده برای نمونه‌ها به نسبت ۷۰ درصد از متانول ۸۰ درصد و نسبت ۳۰ درصد آب با سرعت جریان فاز متحرک ۱ میلی‌لیتر در دقیقه بود. همچنین از آشکار ساز Waters 2487 با طول موج ۲۲۰ نانومتر استفاده شد. دمای ستون در زمان جداسازی و دمای آشکار ساز، تابع دمای محیط بود. پس از انجام تنظیمات دستگاه و پایدار شدن آن ۲۰ میکرولیتر از استاندارد اروسین و نمونه‌ها توسط سرنگ هامیلتون به دستگاه تزریق و کروماتوگرام مربوطه ثبت شد. جهت تشخیص ایزوتیوسیانات اروسین در نمونه‌ها، ابتدا استاندارد اروسین با چند غلظت مشخص تهیه و به دستگاه تزریق گردید، سپس منحنی استاندارد رسم گردید. با توجه به زمان بازداری ایزوتیوسیانات اروسین موجود در نمونه استاندارد و با توجه به سطح زیر پیک و منحنی درجه بندی، غلظت اروسین در نمونه‌های مختلف اندازه گیری شد.

آنالیز اسید های چرب

ابتدا ۰/۱ گرم از روغن و عصاره‌ی بدست آمده با ۵ میلی‌لیتر محلول سود متانولی ۲ درصد به مدت ده دقیقه رفلاکس شد. سپس مقدار ۲/۱۷۵ میلی‌لیتر محلول بورتری فلوراید متانول ۲۰ درصد (BF_3 20%) را به محتویات بالن اضافه کرده و به مدت ده دقیقه جوشانده شد تا عمل مشتق سازی انجام شود. بعد از خنک شدن ۱ میلی‌لیتر ان–هگزان اضافه کرده و تکان داده شد و سپس ۱ میلی‌لیتر محلول فوق اشباع نمک طعام افزوده شد. محتوی لوله را هم زده و اجازه داده شد تا محلول داخل آن دو فاز شود. پس از آبگیری مقدار ۰/۲ میکرولیتر از هر نمونه به دستگاه گاز کروماتوگرافی GC/FID مدل (UNICAM 4600, England) تزریق شد. دمای دتکتور ۳۰۰ درجه سلسیوس و دمای انژکتور ۲۵۰ درجه سلسیوس بود. از گاز هلیوم با فشار بار ۲۵ میلی‌لیتر بر دقیقه به عنوان گاز حامل استفاده شد. پس از تزریق هر نمونه به دستگاه منحنی‌های گاز کروماتوگرام مربوطه رسم شده و زمان بازداری مربوط به هر اسید چرب با منحنی مربوط به اسید چرب استاندارد و زمان بازداری مربوطه مقایسه گردید. بدین ترتیب نوع و میزان اسیدهای چرب موجود در نمونه‌های مورد آزمایش مشخص شد. این روش برای هر نمونه سه بار تکرار شد (Metcalf *et al*., 1966).

آزمایش‌های زیست سنجی

آزمایش‌های زیست سنجی با استفاده از روش Choi *et al*. (2004) با اندکی تغییرات روی مرحله‌ی بالغ کنه انجام شد. به منظور به دست آوردن غلظت‌های موثر، آزمایش‌های مقدماتی روی کنه‌های بالغ انجام گرفت و حدود بالا و پایین غلظت مورد نظر روغن و عصاره متانولی که باعث ایجاد مرگ و میر حدود ۲۰ تا ۸۰ درصد کنه‌های تیمار شده بود، تعیین شد. آزمون‌های نهایی بر اساس ۵ غلظت به دست آمده از آزمون اولیه با فواصل لگاریتمی ۱۰۰۰، ۱۷۰۰، ۲۷۰۰، ٤۳۰۰ و ۷۰۰۰ برای روغن منداب و غلظت‌های ۲۰۰۰، ۲۹۹۰، ٤٤۰۰، ٦٦۰۰ و ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر برای عصاره‌ی متانولی در ۳ تکرار انجام شد. بدین منظور دیسک های برگی از گیاه لوبیا به قطر ۳ سانتیمتر تهیه شد و درون ظروف پتری ٦ سانتیمتری روی دستمال کاغذی خیس قرار داده شد. تعداد ۱۵ کنه ماده بالغ روی هر کدام از دیسک‌های برگی قرار داده شد و بعد از ثابت شدن آنها، یک میلی‌لیتر از هر

www.SID.ir

Archive of SID

غلظت با فشار یک بار توسط دستگاه اسپری متصل به کپسول گاز نیتروژن ساخت شرکت پلیکان روی دیسک‌های برگی پاشیده شد. ظروف پتری به مدت ۲٤ ساعت در شرایط استاندارد (دمای۱±۲۵ درجه‌ی سلسیوس، رطوبت نسبی ۵ ± ٦۵ درصد و دوره‌ی نوری ۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) نگهداری شدند و پس از آن تعداد کنه‌های مرده و زنده شمارش شدند. در صورت عدم حرکت ضمایم بدن کنه در اثر تحریک با قلم مو، مرده محسوب می‌شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

میزان مرگ و میر در کنه‌ها در صورت مشاهده مرگ و میر در تیمار شاهد، با استفاده از فرمول Abbott اصلاح شد (Abbott, 1925). محاسبه مقادیر LC_{50} به روش Finney (1971) و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS 23 انجام شد. برای بررسی وجود اختلاف معنی‌داری میان مقادیر LC_{50} روغن و عصاره از روش میانه سمیت نسبی Relative Median Potency (RMP) استفاده شد. در این روش نسبت سمیت (LC_{50}) یک سم نسبت به دیگری سنجیده و حدود اطمینان ۹۵ درصد این نسبت محاسبه می شود.

نتایج

بررسی سمیت تماسی (LC_{50}) روغن منداب روی *T. urticae*

نتایج حاصل از آزمایش‌های زیست سنجی نشان داد که سمیت تماسی فرمولاسیون روغن بذر منداب روی ماده‌های بالغ کنه *T. urticae* نسبت به عصاره‌ی متانولی آن دارای LC_{50} کمتری می‌باشد و عصاره‌ی متانولی بذر منداب روی ماده‌های بالغ اثرات ضعیفی نشان داد. مقدار LC_{50} محاسبه شده برای روغن منداب روی ماده‌های بالغ پس از ۲٤ ساعت برابر با ۳۰٦۲ میلی‌گرم بر لیتر و برای عصاره‌ی متانولی برابر با ٥٦۷٤ میلی گرم بر لیتر بود (جدول ۱). در هر دو آزمایش با افزایش غلظت، میزان مرگ و میر نیز افزایش یافته است (شکل ۱). با محاسبه میانه سمیت نسبی Relative Median Potency (RMP) مشخص شد که بین LC_{50} ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد (RMP = 0.54; 95% CL = 1.241 – 2.207) و فرمولاسیون روغن منداب، کشندگی بیشتری نسبت به عصاره‌ی متانولی آن دارد (شکل ۱).

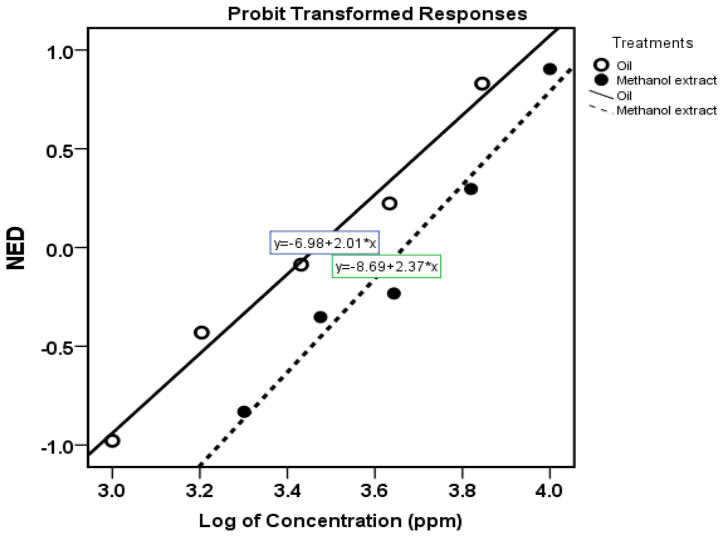
جدول ۱- مقادیر LC_{50} محاسبه شده در بررسی سمیت تماسی فرمولاسیون روغن بذر منداب و عصاره‌ی متانولی آن روی *T. urticae* پس از ۲٤ ساعت

Table 1. LC_{50} values for contact toxicity formulation of *Eruca sativa* oil and its methanolic extract on *T. urticae* after 24 hours

Formulations	n	$\chi2$ (df)	P-value	Slope ± SE	LC_{50} (mg L^{-1})	95% Confidence limits (mg L^{-1})	
						Lower	Upper
Oil	373	1.023 (3)	0.796	2.042 ± 0.211	3062	2562	3700
Methanol	358	1.834 (3)	0.608	2.495 ± 0.423	5675	4946	6568

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱– پروبیت مرگ و میر ناشی از اثر روغن و عصاره‌ی متانولی بذر منداب روی ماده‌های بالغ *T. urticae* پس از ۲٤ ساعت.

Fig 1. Mortality probit of *Eruca sativa* oil and its methanolic extract on females of *T. urticae* after 24 h. (NED: Normalized equivalent deviation, Probit = NED + 5).

نتایج حاصل از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

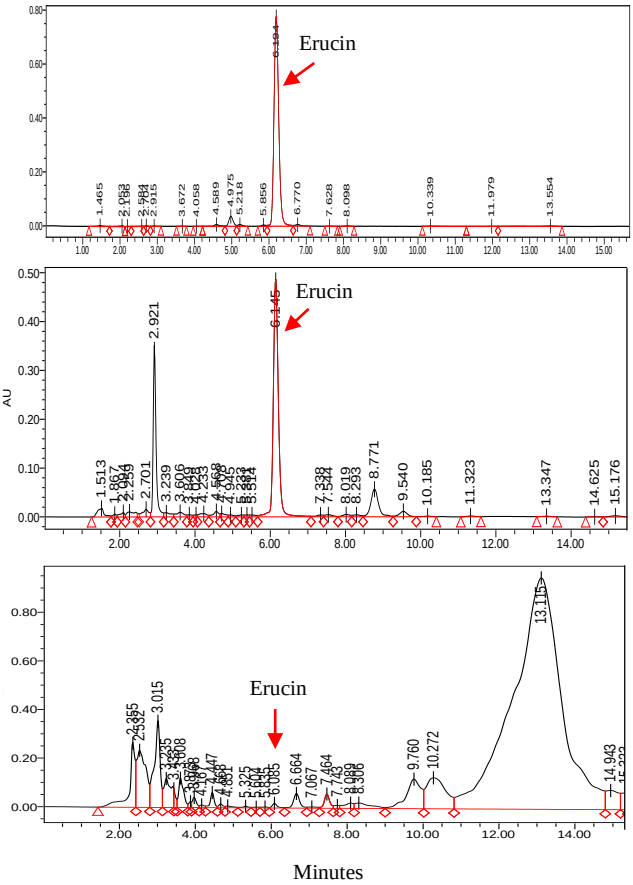
شناسایی ایزوتیوسیانات اروسین در روغن منداب و عصاره‌ی متانولی آن با مقایسه زمان بازداری پیک‌های نمونه با استاندارد اروسین مشخص شد. با توجه به معادله رگرسیونی بدست آمده در منحنی کالیبراسیون نمونه‌های استاندارد (شکل۲) و قرار دادن عدد سطح زیر پیک نمونه‌ها در این معادله غلظت اروسین برای هر یک از نمونه‌ها به دست آمد. مقدار اروسین موجود در روغن منداب اصفهان و عصاره‌ی متانولی به ترتیب برابر با ٤/٦٧ و ۰/٤٦ گرم در صد گرم بود.

نتایج حاصل از آنالیز اسیدهای چرب

همانگونه که در جدول ۲ نشان داده شده است در روغن منداب ۱۲ نوع اسید چرب با مقادیر مختلف شناسایی شدند. نتایج نشان دادند که میزان اسیدهای چرب آراشیدونیک، اولئیک و گامالینولنیک اسید در روغن بذر منداب نسبت به سایر اسیدهای چرب موجود در آن بیشتر می باشد. به دلیل روغن زدایی بذور در عصاره‌ی متانولی این عصاره فاقد اسید چرب می باشد.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲- کروماتوگرام مربوط به جداسازی ایزوتیوسیانات اروسین (HPLC) و زمان بازداری آن از بالا به پایین به ترتیب نمونه استاندارد اروسین، روغن و عصاره‌ی بذر منداب

Fig 2. Chromatograms corresponding to the separation of HPLC and retention time of Erucin standard (upper), oil (middle) and extracts (lower) of *Eruca sativa* in mobile phase.

جدول ۲- نتایج حاصل از آنالیز اسیدهای چرب روغن و عصاره‌ی بذر منداب به وسیله دستگاه کروماتوگرافی گازی

Table 2. The results of analysis of fatty acids in *Eruca sativa* oil and extract methanol by GC

	Fatty acid content (%)	
Fatty acid	Oil	Methanol
C16:0	4.85	0.00
C16:1	0.18	0.00
C18:0	1.28	0.00
C18:1	18.29	0.00
C18:2(n-6)C	11.25	0.00
C18:3 n3	0.00	0.00
C18:3 n6	14.89	0.00
C20:0	0.80	0.00
C20:1	10.95	0.00
C20:3 n6	0.37	0.00
C20:4 n6	34.78	0.00
C22:1n9	2.35	0.00

www.SID.ir

Archive of SID

بحث

در این پژوهش اثرات کنه‌کشی روغن و عصاره متانولی بذر منداب روی ماده‌های بالغ *T. urticae* مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که روغن منداب LC_{50} پایین‌تری نسبت به عصاره متانولی آن دارد که حاکی از سمیت بالای روغن منداب نسبت به عصاره متانولی می‌باشد. نتایج اندازه‌گیری ایزوتیوسیانات اروسین با کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا نشان داد که مقدار آن در روغن منداب ٤/٦٦ درصد و در عصاره متانولی برابر با ۰/٤٦٨ درصد بود که نشان دهنده مقدار ایزوتیوسیانات بالای اروسین در روغن بذر منداب نسبت به عصاره متانولی آن می‌باشد. هم‌چنین با افزایش غلظت در هر کدام از تیمارهای روغن درصد مرگ‌ومیر نیز افزایش پیدا کرد که علت آن را می‌توان به مقدار بالای اروسین در غلظت‌های بالای روغن نسبت داد. پژوهش‌ها نشان داده است که اروسین یک ایزوتیوسیانات غالب در گیاه منداب می‌باشد (Blažević & Mastelić, 2008) و به عنوان یک ترکیب سمی برای حشرات در غلظت‌های بالاتر است. متیل ایزوتیوسیانات‌ها جزء فعال آفت‌کش‌هایی از قبیل متام سدیم، متام پتاسیم و دازومت (باسمید) هستند (Mattner *et al*., 2008). مطالعات متعدی اثر ایزوتیوسیانات‌ها روی آفات مختلف را تایید می کند که از آن جمله می‌توان اثر سمیت تنفسی ایزوتیوسیانات استخراج شده از ترب کوهی *Armoracia rusticana* L. روی چهار آفت اصلی محصولات انباری *Sitophilus. zeamais, Rhyzopertha dominica* F., *Tribolium ferrugineum* F., *Liposcelis entomophila* (End.) را نشان می دهد (Wu *et al*., 2009)، هم چنین اثر آلیل‌ایزوتیوسیانات جوانه‌های بذری سیر *Allium tuberosum* L. روی مراحل رشدی *Bradysia odoriphaga* Yang et Zhang (Diptera; Sciaridae) را نام برد (Shi *et al*., 2017). پژوهش‌ها هم‌چنین از اثر ایزوتیوسیانات‌ها روی قارچ‌ها، نماتدها و سایر آفات دلالت دارند. مطالعات Aissani *et al.* (2015) فعالیت نماتدکشی ترکیبات فرار ایزوتیوسیاناتی منداب را نشان داد و LC_{50} برابر با ۳/۲±۱/۷ میلی‌گرم بر لیتر را برای نماتد *Meloidogyne incognita* Acrita ثبت کرد. هم‌چنین در مطالعات انجام شده توسط Seifi *et al*. (2018) روی اثر کنه‌کشی گیاه گز روغنی *Moringa peregrina* F. ثابت شد که وجود ترکیبات ایزوتیوسیاناتی می‌تواند موجب افزایش مرگ و میر در کنه *T. urticae* شود. به دلیل بالا بودن قیمت اروسین، ایزوتیوسیانات اروسین به تنهایی در این آزمایش مورد بررسی قرار نگرفت. هم چنین امکانات آزمایشگاهی امکان اجازه شناسایی سایر ترکیبات علاوه بر اروسین در نمونه‌های مورد نظر را ندادند. در این مطالعه هم چنین ۱۲ نوع اسید چرب در روغن بذر منداب نیز توسط GC شناسایی و آنالیز شدند. با توجه به روغن زدایی بذر منداب توسط حلال هگزان میزان اسیدهای چرب موجود در آن قابل اغماض بوده و از آنجایی که سمیت پایین‌تری نسبت به روغن بذر داشت بنابراین در مقایسه با روغن می‌توان علت دیگر کشندگی بالای روغن را به میزان اسید چرب‌های موجود در آن نسبت داد که مقدار آن در عصاره متانولی قابل شناسایی نبود. پژوهش‌های قبلی نیز تاثیر روغن منداب علیه حشراتی مانند *Perkinsiella insignis* Fennah (Hem.: Delphacidae) و *Peregrinus maidis* Ashmead (Hem.: Delphacidae) را در برنج به اثبات رسانده است (Garg & Sharma, 2014). همچنین Mahdavian (2016) روغن منداب و ترکیب پلیمری آن را روی پوره پسیل پسته *Agonoscena pistaciae* Burckhardt and Lauterer (Hem.: Aphalaridae) بررسی نمود و LC_{50} برابر با ۲۹۳۷ میلی‌گرم بر لیتر (روغن منداب) و ۲۷۲۱ میلی‌گرم بر لیتر (ترکیب پلیمری) را برای آن گزارش نمود. در این پژوهش عصاره‌ی متانولی به وسیله هگزان روغن زدایی شد بنابراین پایین بودن میزان اسیدهای چرب در آن طبیعی می‌باشد با توجه به پایین بودن میزان اسیدهای چرب هم چنین کمتر بودن میزان اروسین در عصاره متانولی علت کشندگی آن را می‌توان به وجود مشتقات دیگری نسبت داد. نمودار کروماتوگرام HPLC نیز تائید می‌کند که علاوه بر اروسین پیک‌های دیگری نیز در این نمودار دیده می شود که نیاز به شناسایی

www.SID.ir

Archive of SID

و کارهای تکمیلی دارد. یافته‌های ما هم چنین نشان دادند که روش استخراج عصاره‌های گیاهی بر نوع ترکیبات و اسیدهای چرب آنها نیز اثر گذاشته و در قدرت کشندگی آنها موثر است. همان‌طور که عصاره‌ی متانولی به دلیل پایین بودن ایزوتیوسیانات و اسیدهای چرب قدرت کشندگی کمتری نسبت به روغن منداب آن دارد. بیشترین مطالعات انجام گرفته در مورد ایزوتیوسیانات‌ها مربوط به آفات انباری و در محیط بسته می‌باشد (Cardiet *et al*., 2012; Paes *et al*., 2012; Santos *et al*., 2012; Mansour *et al*., 2012). در صورت مصرف ایزوتیوسیانات‌ها به عنوان آفت‌کش در مزارع و فضای باز فشار بخار آن به اندازه‌ای نمی‌رسد که سمیت تنفسی ایجاد کند، بنابراین پژوهش‌ها روی اثرات تماسی ترکیبات ایزوتیوسیاناتی کاربردی‌تر از مطالعات سمیت تنفسی می‌باشد. در پژوهشی اثر روغن‌های گیاهی (پنبه دانه، سویا، ذرت، بادام زمینی و پالم) در غلظت‌های مختلف در آزمایشگاه علیه جمعیت‌های *Cryptolestes pusillus* F. و *Rhyzopertha dominica* F. مورد ارزیابی قرار گرفت. قرار دادن افراد بالغ سوسک‌های هر دو گونه در معرض دانه‌های تیمار شده با ۱۰ میلی‌لیتر برکیلوگرم از روغن‌های مختلف باعث مرگ و میر صدرصد در عرض ۲٤ ساعت شد (Obeng-Ofori, 1995). نتایج پژوهش ما نشان داد که روغن بذر منداب به دلیل داشتن ایزوتیوسیانات اروسین و اسیدهای چرب بالا قابلیت کنترل آفت مهم کنه تارتن دولکه‌ای (فرم قرمز) را داشته و اروسین موجود در آن به دلیل خاصیت سمی خود قدرت رقابت با حشره‌کش‌های شیمیایی را دارا می‌باشد. با توجه به این‌که بسیاری از متابولیت‌های ثانویه‌ی گیاهی دارای خاصیت حشره‌کشی و کنه‌کشی می باشند و نقش دفاعی در برابر گیاه‌خواران، آفات و پاتوژن‌ها دارند ، به دلیل اثرات مضر کمتر و پایداری با محیط زیست می‌توانند در تولید حشره‌کش‌های آینده مورد استفاده قرار بگیرند (Dubey *et al*., 2010; Rattan, 2010; Wink, 2010). بر این اساس، بکارگیری این ترکیبات برای کنترل آفات می‌تواند موثر باشد. از معایب ترکیبات گیاهی هزینه بالای جداسازی و شناسایی آن‌ها می‌باشد که سبب می‌شود هزینه تولید و مصرف آن نسبت به سایر سموم بالاتر باشد. از دیگر معایب آن سمیت پایین آن‌ها می‌باشد که باعث افزایش میزان مصرف آن‌ها در واحد سطح می‌شود. برای حل این مشکل می‌توان این ترکیبات را فرموله کرد. استفاده از فرمولاسیون‌های مختلف برای ترکیبات گیاهی باعث کاهش غلظت مصرفی، افزایش خواص دورکنندگی و کشندگی مراحل مختلف کنه می‌شود. هم‌چنین فرموله کردن این ترکیبات باعث بهبود کارایی آن شده و خاصیت گیاه‌سوزی را کاهش می‌دهند. مطالعات قبلی نیز افزایش و بهبود کارایی ترکیبات گیاهی را به وسیله فرموله کردن را تایید می‌کنند (De Oliveira *et al*., 2014). نانو کپسوله کردن اسانس گندواش باعث کاهش LC_{50} آن شده و خواص تخم کشی، بالغ کشی، دور کنندگی و بازدارندگی تخم‌ریزی آن را بهبود بخشید (Seifi, 2015). در صورتی‌که این ترکیبات به صورت خالص جداسازی شوند رویکرد جدیدی را در صنعت تولید سموم گیاهی می‌توانند به وجود آوردند و به دلیل دارا بودن ماده‌ی سمی قابلیت رقابت در بازار سموم شیمیایی را خواهند داشت. تا پیش از این پژوهش، مطالعه‌ای روی ترکیب ایزوتیوسیاناتی اروسین گیاه منداب روی کنه تارتن دولکه‌ای (فرم قرمز) صورت نگرفته بود. یافته‌های ما پتانسیل بالای روغن منداب با میزان اروسین بالاتری را در مقایسه با عصاره‌ی متانولی با اروسین کمتر در کنترل کنه تارتن دولکه‌ای (فرم قرمز) نشان داد.

References

Abbott, W. (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18(2), 265-267.

Aissani, N., Urgeghe, P. P., Oplos, C., Saba, M., Tocco, G., Petretto, G. L., Eloh, K., Menkissoglu-Spiroudi, U., Ntalli, N. & Caboni, P. (2015) Nematicidal activity of the

www.SID.ir

Archive of SID

volatilome of *Eruca sativa* on *Meloidogyne incognita*. *Journal of Agricultural & Food Chemistry* 63(27), 6120-6125.

Azaizeh, H., Kobaisy, M., Dakwar, S., Saad, B., Shaqir, I. & Said, O. (2007) Botanical pesticides as a source of safe bioacaricides for the control of *Tetranychus cinnabarinus*. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* 42(1), 143-152.

Blažević, I. & Mastelić, J. (2008) Free and bound volatiles of rocket (*Eruca sativa* Mill.). *Flavour & Fragrance Journal* 23(4), 278-285.

Borek, V., Elberson, L. R., McCaffrey, J. P. & Morra, M. J. (1998) Toxicity of isothiocyanates produced by glucosinolates in brassicaceae species to black vine weevil eggs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46(12), 5318-5323.

Cardiet, G., Fuzeau, B., Barreau, C. & Fleurat-Lessard, F. (2012) Contact and fumigant toxicity of some essential oil constituents against a grain insect pest *Sitophilus oryzae* and two fungi, *Aspergillus westerdijkiae* and *Fusarium graminearum. Journal of Pest Science* 85(3), 351-358.

Chen, Y. & Dai, G. (2015) Acaricidal, repellent, and oviposition-deterrent activities of 2, 4-di-tert-butylphenol and ethyl oleate against the carmine spider mite *Tetranychus cinnabarinus*. *Journal of Pest Science* 88(3), 645-655.

Choi, W. I., Lee, S. G., Park, H. M. & Ahn, Y. J. (2004) Toxicity of plant essential oils to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). *Journal of Economic Entomology* 97(2), 553-558.

De Oliveira, J. L., Campos, E. V. R., Bakshi, M., Abhilash, P. C. and Fraceto, L. F. (2014) Application of nanotechnology for the encapsulation of botanical insecticides for sustainable agriculture: prospects and promises. *Biotechnology Advances* 32(8), 1550-1561.

Demirel, N., Kurt, S., Gunes, U., Uluc, F. & Cabuk, F. (2009) Toxicological responses of confused flour beetle, *Tribolium confusum* du Val (Coleoptera: Tenebrinoidea) to various isothiocyanate compounds. *Asian Journal of Chemistry* 21(8), 6411-6416.

Dubey, N. K., Shukla, R., Kumar, A., Singh, P. & Prakash, B. (2010) Prospects of botanical pesticides in sustainable agriculture. *Current Science* 98(4), 479-480.

Finney, D. J. (1971) Probit Analysis, 3rd ed. 333 pp. Cambridge University Press, London.

Garg, G. & Sharma, V. (2014) *Eruca sativa* (L.): Botanical description, crop improvement, and medicinal properties. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal plants* 20(2), 171-182.

Isman, M. B. (2006) Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology* 51, 45-66.

Khater, H. F. (2012) Prospects of botanical biopesticides in insect pest management. *Pharmacologia* 3(12), 641-656.

Kim, S. J., Jin, S. & Ishii, G. (2004) Isolation and structural elucidation of 4-(β-D-glucopyranosyldisulfanyl) butyl glucosinolate from leaves of rocket salad (*Eruca sativa* L.) and

www.SID.ir

Archive of SID

its antioxidative activity. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry* 68(12), 2444-2450.

Mahdavian, A. (2016) Insecticidal activity of some botanical extracts against pistachio psyllid *Agonoscena pistaciae* (Hem: Psyllid) in field and laboratory conditions. MS.C thesis, Department of Entomology, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. 89 p.

Mansour, E. E., Mi, F., Zhang, G., Jiugao, X., Wang, Y. & Kargbo, A. (2012) Effect of allylisothiocyanate on *Sitophilus oryzae*, *Tribolium confusum* and *Plodia interpunctella*: Toxicity and effect on insect mitochondria. *Crop Protection* 33, 40-51.

Mattner, S., Porter, I., Gounder, R., Shanks, A., Wren, D. & Allen, D. (2008) Factors that impact on the ability of biofumigants to suppress fungal pathogens and weeds of strawberry. *Crop Protection* 27(8), 1165-1173.

Matusheski, N. V., Swarup, R., Juvik, J. A., Mithen, R., Bennett, M. , Jeffery, & E. H. (2006) Epithiospecifier protein from broccoli (*Brassica oleracea* L. Ssp. Italica) inhibits formation of the anticancer agent sulforaphane. *Journal of Agricultural & Food Chemistry* 54(6), 2069-2076.

Metcalf, l. C., Schmitz, A. A. & Pelka, J. R. (1966) Rapid preparation of methyl esters from lipid for gas chromatography. *Analytical Chemistry* 38(3), 514-515.

Morra, M. & Kirkegaard, J. (2002) Isothiocyanate release from soil-incorporated brassica tissues. *Soil Biology & Biochemistry* 34(11), 1683-1690.

Nicolopoulou-Stamati, P., Maipas, S., Kotampasi, C., Stamatis, P. & Hens, L. (2016) Chemical pesticides and human health: the urgent need for a new concept in agriculture. *Frontiers in Public Health*, 4, 148.

Obeng-Ofori, D. (1995) Plant oils as grain protectants against infestations of *Cryptolestes pusillus* and *Rhyzopertha dominica* in stored grain. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 77(2), 133-139.

Paes, J., LRD'A, F., Dhingra, O., Cecon, P. & Silva, T. (2012) Insecticidal fumigant action of mustard essential oil against *Sitophilus zeamais* in maize grains. *Crop Protection* 34, 56-58.

Pavela, R. & Benelli, G. (2016) Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints. *Trends in Plant Science* 21(12), 1000-1007.

Pavela, R. (2015) Essential oils for the development of eco-friendly mosquito larvicides: a review. *Industrial Crops & Products* 76, 174-187.

Rattan, R. S. (2010) Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. *Crop Protection* 29(9), 913-920.

Rosa, E. & Rodrigues, P. (1999) Towards a more sustainable agriculture system: The effect of glucosinolates on the control of soil-borne diseases. *The Journal of Horticultural Science & Biotechnology* 74(6), 667-674.

www.SID.ir

Archive of SID

Sabelis, M. W. & Dicke, M. (1985) Long-range dispersal and searching behaviour. pp. 141-160 *In*: Helle, W. & Sabelis, M. W. (Eds.) Spider Mites: Their Biology, Natural Enemies and Control. Elsevier Amsterdam.

Santos, E. A. d., Carvalho, C. M. d., Costa, A. L., Conceição, A. S., Moura, F. d. B. P. & Santana, A. E. G. (2012) Bioactivity evaluation of plant extracts used in indigenous medicine against the snail, *Biomphalaria glabrata*, and the larvae of *Aedes aegypti*. *Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*.

Seifi, R., Moharramipour, S. & Ayyari, M. (2018) Acaricidal activity of different fractions of *Moringa peregrina* on two spotted spider mite *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Industrial Crops & Products* 125, 616-621.

Shi, C. H., Hu, J. R., Xie, W., Yang, Y. T., Wang, S. L. & Zhang, Y. J. (2017) Control of *Bradysia odoriphaga* (Diptera: Sciaridae) with allyl isothiocyanate under field and greenhouse conditions. *Journal of Economic Entomology* 110(3), 1127-1132.

Wathelet, J. P., Iori, R., Leoni, O., Rollin, P., Quinsac, A. & Palmieri, S. (2004) Guidelines for glucosinolate analysis in green tissues used for biofumigation. *Agroindustria* 3(3), 257-266.

Wink, M. (2010) Annual Plant Reviews, Functions and Biotechnology of Plant Secondary Metabolites (Vol. 39). John Wiley & Sons.

Wu, H., Zhang, G. A., Zeng, S. & Lin, K. C. (2009) Extraction of allyl isothiocyanate from horseradish (*Armoracia rusticana*) and its fumigant insecticidal activity on four stored-product pests of paddy. *Pest Management Science* 65(9), 1003-1008.

Zhang, W.G. (2016) Aqueous extraction and nutraceuticals content of oil using industrial enzymes from microwave puffing-pretreated *Camellia oleifera* seed powder. *Food Science and Technology Research* 22(1), 31-38.

www.SID.ir