

## ترکیبات اکدیستروئیدی گیاه *Silene aucheriana* و اثر تغذیه ای آن بر بید کلم *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae)

مینا کوه جانی گرجی<sup>۱</sup>، سعید محرمی پور<sup>۲\*</sup> و کریم کمالی<sup>۳</sup>

۱- دانشجوی دکتری حشره شناسی، دانشکده کشاورزی، گروه حشره شناسی کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس  
 ۲- نویسنده مسوول: دانشیار گروه حشره شناسی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس (moharami@modares.ac.ir)  
 ۳- استاد گروه حشره شناسی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۲/۳

تاریخ دریافت: ۹۲/۹/۲۳

### چکیده

با توجه به اثرات سوء آفتکش ها بر موجودات غیر هدف و بقایای آنها در محیط زیست استفاده از ترکیبات کم خطر با اثر اختصاصی ضروری به نظر می رسد. امروزه بررسی ها جهت استفاده از عصاره های گیاهی، از جمله اکدیستروئیدهای گیاهی، به دلیل توانایی در کنترل آفات در حال افزایش است. هدف از این مطالعه، شناسایی فیتواکدیستروئیدهای موجود در گیاه بومی *Silene aucheriana* Boiss و سپس تاثیر آن بر وزن لاروی و شفیرگی بید کلم (*Plutella xylostella* (L.)) می باشد. پس از عصاره گیری و تغلیظ، سه ترکیب فیتواکدیستروئیدی به نام های 20-Hydroxyecdysone (20E)، Polypodin B (Pol B) و Integristerone A (Int A) (توسط HPLC-MS) تشخیص داده شد. سپس، از عصاره ی اکدیستروئیدی تغلیظ شده غلظت های ثابت ۲، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ درصد تهیه شد. لاروهای سن سوم بید کلم با برگ های تیمار شده با این غلظت ها تغذیه شدند. نتایج نشان داد که ترکیبات اکدیستروئیدی به طور معنی داری وزن لاروی و وزن شفیرگی را کاهش داده اند. هرچند، برای کنترل آفات محصولات کشاورزی در برنامه های مدیریت تلفیقی آفات (IPM) لازم است مطالعات جامعی روی ترکیبات اکدیستروئیدی *S. aucheriana* انجام شود.

### کلید واژه ها: فیتواکدیستروئید، *Silene aucheriana* بید کلم، 20-Hydroxyecdysone

#### مقدمه

از پنجاه سال گذشته تا کنون، استفاده از آفت کش ها به میزان قابل توجهی افزایش داشته و باعث ارتقاء کمیّت و کیفیت محصولات کشاورزی شده است. با این حال، با افزایش مقدار مصرف، نگرانی درباره اثرات سوء آن روی موجودات غیر هدف شامل انسان نیز افزایش یافته است. سمیّت آفتکش های غیر انتخابی موجب مسمومیّت و مرگ

و میر ماهی ها، پرندگان، آلودگی محیط زیست و آب های زیرزمینی شده است (رو و همکاران<sup>۱</sup>، ۱۹۹۳). جدیدترین ترکیبات آفت کش، به عنوان تنظیم کننده های رشد حشرات (IGRs) شناخته می شوند و در سال های اخیر توجه زیادی را برای کنترل آفات، به دلیل آلوده نکردن

1- Rao et al.

محیط زیست و رابطه اختصاصی با آفت، به خود معطوف داشته اند. در حقیقت، IGR ها می‌توانند مسیرهای خاص شیمیایی را در بعضی حشرات دچار اختلال کنند و این بزرگترین برتری آنها نسبت به حشره کش‌های رایج است. چنین ترکیباتی رشد و فیزیولوژی طبیعی آفت، مانند پوست اندازی را به هم می‌زنند به همین دلیل برای موجودات غیر هدف ایمن هستند (پدیگو<sup>۱</sup>، ۲۰۰۲). این آگونیست‌ها تنها روی مراحل رشدی آفت موثر هستند و بهترین تاثیر را بر حشراتی با دوره رشدی کوتاه دارند (دالایر و همکاران<sup>۲</sup>، ۲۰۰۴). از این رو ترکیبات شبه اکدایسونی، بازدارنده سنتز کیتین و یا هورمون جوانی که تنظیم کننده های رشد حشرات هستند به طور امیدوار کننده‌ای می‌توانند بخش کلیدی برنامه های کنترل تلفیقی آفات باشند. فیتواکدیستروئیدها گروهی از ترکیبات گیاهی هستند که از نظر ساختمانی و مکانیسم عمل مشابهت زیادی به هورمون اکدایسون داشته و در پوست اندازی و تولید مثل حشرات اختلال ایجاد می‌نمایند. تمامی گیاهان دارای ژن مربوط به این ترکیبات می‌باشند که در تعدادی از آنها این ژن خاموش است. این حدس وجود دارد که عمل آنها در گیاه، حفاظت در برابر حشرات گیاه خوار و یا نماتد های خاکزی است (کوبو و هنکل<sup>۳</sup>، ۱۹۸۶). اولین جداسازی فیتواکدیستروئید ها تقریبا مقارن با جداسازی ۲۰- هیدروکسی اکدایسون (20E) از شفیره کرم ابریشم بود. ناکانیسی و همکاران<sup>۴</sup> (۱۹۶۶) هنگام پژوهش روی ترکیبات شیمیایی برگ های (Podocarpaceae) *Podocarpus nakaii* Hayata سه فیتواکدیستروئید پوناسترون A، B و C را جدا کردند. اکدیستروئیدهای گیاهی دارای پتانسیل بالا جهت حفاظت محصولات

کشاورزی در برابر حشرات آفت می‌باشند. این ترکیبات در بیش از ۱۰۰ تیره از گیاهان خاکزی گزارش شده است (دینان<sup>۵</sup>، ۲۰۰۱) که در غلظت های زیرکشنده، بازدارنده تغذیه و دورکننده حشرات هستند (لافونت<sup>۶</sup>، ۱۹۹۷). این ترکیبات به دلیل دارا بودن خواص دارویی، برای انسان و سایر پستانداران کم خطر هستند. احتمال بروز مقاومت آفات در برابر این سموم بسیار کم است. به این دلیل که ترکیبات اکدیستروئیدی، مشابه هورمون حشرات هستند و حشرات نسبت به هورمون های خود مقاوم نمی‌گردند (دینان، ۱۹۹۵؛ اسلما و لافونت<sup>۷</sup>، ۱۹۹۵). در سال های اخیر بید کلم از جمله مخرب ترین آفات گیاهان تیره کروسیفر یا چلیپانیان در سرتاسر دنیا شده است و هزینه سالانه مدیریت آن حدود یک میلیارد دلار تخمین زده می‌شود (تالکار و شلتون<sup>۸</sup>، ۱۹۹۳). این آفت چند نسلی است و به برگ گیاهان تیره چلیپانیان به خصوص انواع کلم (کلم برگ، کلم گل و کلم قمری)، شلغم، کلزا، خردل و کروسفرهای وحشی حمله نموده و باعث خسارت می‌گردد (زاهدی، ۱۳۷۱). با وجود خسارت سنگین بید کلم به انواع گیاهان تیره چلیپانیان و مقاومت آن به سموم شیمیایی، ضرورت پژوهش برای استفاده از ترکیبات گیاهی در کنترل این آفت احساس می‌شود. با این وجود پژوهش های اندکی در مورد خواص حشره کشی ترکیبات فیتواکدیستروئیدی بر بید کلم انجام شده است. گزارش ها، حاکی از وجود مقادیر قابل توجهی فیتواکدیستروئید با تنوع بالا در تعدادی از گونه های تیره میخکیان (Caryophyllaceae) می‌باشد. با توجه به وجود حدود ۳۰ گونه بومی از گیاهان جنس *Silene* در مناطق مختلف کوهستانی ایران، سعی شد تا با

5- Dinan  
6- Lafont  
7- Slama & Lafont  
8- Talekar & Shelton

1- Pedigo  
2- Dallaire *et al.*  
3- Kubo & Hankel  
4- Nakanishi *et al.*

قسمت‌های هوایی گیاه در دمای اتاق خشک و در کیسه های در بسته و تیره نگهداری شدند.

### عصاره گیری

پنجاه گرم از قسمت هوایی گیاه *S. aucheriana* که در هوای اتاق خشک شده بود، توسط آسیاب به صورت پودر درآمد و به آن ۲۵۰ میلی لیتر متانول ۷۰ درصد (شرکت دکتر مجلی) اضافه شد. سپس به مدت ۳ ساعت در دمای ۵۵ درجه سلسیوس درون حمام اولتراسونیک مدل Power Sonic 510 (ساخت کشور کره) قرار گرفت. پس از سرد شدن عصاره متانولی به شیشه ای درپوش دار منتقل شد. شیشه در یخچال تا جمع آوری کامل عصاره نگهداری شد. به رسوب بدست آمده دو بار دیگر ۲۵۰ میلی لیتر متانول ۷۰ درصد اضافه گردید و هر بار ۳ ساعت در دمای ۵۵ درجه سلسیوس درون حمام اولتراسونیک قرار گرفت. سپس، عصاره متانولی حاصل به شیشه قبلی منتقل شد. محلول به دست آمده از عصاره گیری توسط دستگاه تقطیر در خلاء (روتاری<sup>۲</sup>)، مدل هایدولف ساخت کشور آلمان) در دمای ۵۰ درجه سلسیوس و دور متوسط تبخیر گردید. عصاره‌ی تغلیظ شده حدود ۵ میلی لیتر و وزن تقریبی آن ۱۰ گرم بود. برای جداسازی اکدیستروئیدها از عصاره‌ی تغلیظ شده از کارتریج Chromabond C18 متعلق به شرکت Macherey-Nagel به حجم ۳ میلی لیتر استفاده شد. به این ترتیب که، ۱/۵ میلی لیتر از عصاره غلیظ شده را به همراه ۱/۵ میلی لیتر متانول ۱۰ درصد درون لوله فالكون ریخته و سانتریفیوژ گردید. پس از برداشتن مایع رویی، مجدداً ۱/۵ میلی لیتر متانول ۱۰ درصد به ماده ته نشین شده اضافه شده و سانتریفیوژ گردید. مایع رویی برداشته شد و بار دیگر این مرحله تکرار شد. مایع رویی حاصل از مراحل قبل، پس از فعال کردن کارتریج، از آن عبور داده شد و سپس ۵ میلی لیتر متانول با درصد های ۲۵،

شناسایی ترکیبات فیتواکدیستروئیدی مؤثر گونه *Silene aucheriana* Boiss، اثرات آن، بر وزن لاروی و شفیرگی بید کلم (*Plutella xylostella* (L.)) (Lepidoptera: Plutellidae) مورد بررسی قرار گیرد. در این رابطه، پژوهش ها در ایران منحصر به مطالعاتی بر خواص فیتواکدیستروئیدی گیاه اسفناج *Spinacia oleracea* L. (صحاف و محرمی پور<sup>۱</sup>)، (۲۰۱۳) و گیاه سرخس شترمرغی *Matteuccia struthiopteris* (L.) (تابع بردبار و همکاران، ۱۳۹۴). پژوهش های انجام شده بیانگر اثرات بلند مدت عصاره این گیاهان بر بیولوژی مراحل نابالغ بید کلم می باشد. اما تا کنون پژوهشی در ارتباط با اثر فیتواکدیستروئیدی گیاه *S. aucheriana* به منظور کنترل آفات انجام نشده است. لذا این پژوهش اولین گزارش از وجود ترکیبات و خواص فیتواکدیستروئیدی این گیاه روی حشرات آفت می باشد. استفاده از ترکیبات گیاهی از جمله عصاره‌های گیاهی با اثرات پایدار و طولانی مدت، در قالب برنامه‌های IPM مناسب‌ترین راه حل، جهت کاهش مصرف سموم شیمیایی در اکوسیستمهای کشاورزی به نظر می‌رسد.

### مواد و روش ها

#### جمع آوری و نگهداری گیاه

جمع آوری گیاه *S. aucheriana* بسته به گرم شدن هوا و پایش مکان رویش، از اواخر اردیبهشت تا اواسط تیر ماه طی سال های ۹۰ تا ۹۲ صورت گرفت. این گیاه، چند ساله و صخره زی بوده و در ارتفاع ۲۴۹۰ متری کوه های توچال (N 35° 50' 11.0394", E 51° 24' 28.8")، رشد می کند و برای انجام آزمایشات از این محل جمع آوری شد. پس از جمع آوری و انتقال آنها به آزمایشگاه، ساقه های خشک سال های گذشته حذف شده و بقیه

کوه جانی گرجی و همکاران: ترکیبات اکدیستروئیدی گیاه...

رطوبت نسبی  $5 \pm 60$  درصد و ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی روی گلدان در اتاق رشد پرورش یافتند.

### اثر تغذیه ای عصاره اکدیستروئیدی S.

*aucheriana* بر وزن لاروهای سن سوم بید کلم لاروهای سنین سوم تازه پوست اندازی کرده انتخاب و به مدت ۲ ساعت گرسنگی داده شدند. برگ های کوچک کلزای مورد نظر، شسته شده و پس از خشک شدن در هوای اتاق در غلظت های مختلف عصاره (۲، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ درصد) به مدت ۱۵ ثانیه غوطه ور گردیده و سپس در هوای اتاق خشک شدند. برگ های مربوط به آزمایش شاهد تنها در متانول خالص فرو برده شد. برای هر تکرار ۲۰ عدد لارو سن سوم به طور تصادفی انتخاب شدند و روی برگ ها در ظروف یکبار مصرف نگهداری شدند. پس از دو روز تغذیه از برگ های تیمار شده، برگ های تیمار نشده جایگزین شد. پس از رسیدن لاروها به مرحله ی انتهایی سن ۴، لاروها در هر تکرار در دسته های ۵ تایی وزن شدند. وزن شفیره های ۳ روزه نیز در دسته های ۵ تایی انجام شد. آزمایش در ۴ تکرار و هر تکرار با ۲۰ عدد لارو انجام گرفت. آزمایش های بالا تحت شرایط مشابه با پرورش قرار داشت. مقایسه میانگین داده ها توسط نرم افزار SPSS (۱۷/۰) به روش تجزیه واریانس یک طرفه ANOVA One-way توسط آزمون LSD و در سطح پنج درصد انجام شد.

### نتایج و بحث

ترکیبات فیتواکدیستروئیدی گیاه *S. aucheriana* پس از تزریق ۲۰-هیدروکسی اکدیسیون خالص با غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام به عنوان استاندارد به دستگاه HPLC، این ترکیب در زمان ۱۵ دقیقه و ۳۹ ثانیه توسط شناساگر UV تشخیص داده شد (شکل ۱ بالا). تجزیه عصاره گیاه *S. aucheriana* نیز مشابه بالا انجام شد و در بازه زمانی ۱۵

و ۶۰ درصد به ترتیب از کارتریج عبور داده شد. برای شناسایی فیتواکدیستروئیدها، فراکشن ۶۰ درصد به دستگاه HPLC تزریق شد.

### تجزیه و شناسایی اکدیستروئیدها با کمک HPLC

برای شناسایی فیتواکدیستروئیدها، محلول متانولی ۶۰ درصد تهیه شده از گیاه *S. aucheriana* که حاوی بیشترین مقدار ترکیبات اکدیستروئیدی است (دینان و همکاران، ۲۰۰۱) به دستگاه HPLC (Column Zorbax-SIL(5 $\mu$ m) 250 mm long, 4.6 mm i.d.) تزریق شد. فاز متحرک: دی کلرومتان- ایزوپروپانول- آب (۳:۴۰:۱۲۵)، سرعت ۱ ml/min مجهز به شناساگر UV واقع در دانشگاه تربیت مدرس تزریق و جذب در ۲۵۴ نانومتر خوانده شد. محلول هایی با غلظت های متفاوت از 20E خالص (شرکت سیگما) نیز جهت کالیبراسیون دستگاه استفاده شد (دینان<sup>۱</sup> و همکاران، ۲۰۰۱). جهت بررسی بیشتر، نمونه ها به فرانسه نزد پروفیسور Lofont در دانشگاه پیر ماری کوری فرستاده شد و نتایج بالا تایید گردید.

### کشت گیاه

گیاه کلزا رقم اپرا در مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس کشت شد. پس از رشد کامل، بوته درون گلدان قرار داده شد و به اتاقک رشد در دمای  $1 \pm 27$  درجه سلسیوس و رطوبت نسبی  $5 \pm 60$  درصد و ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل شد.

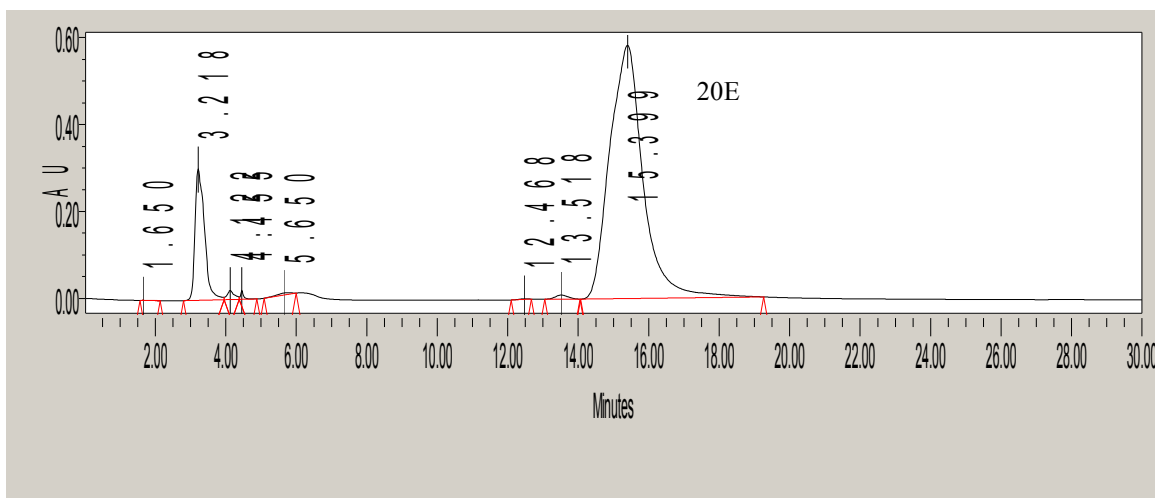
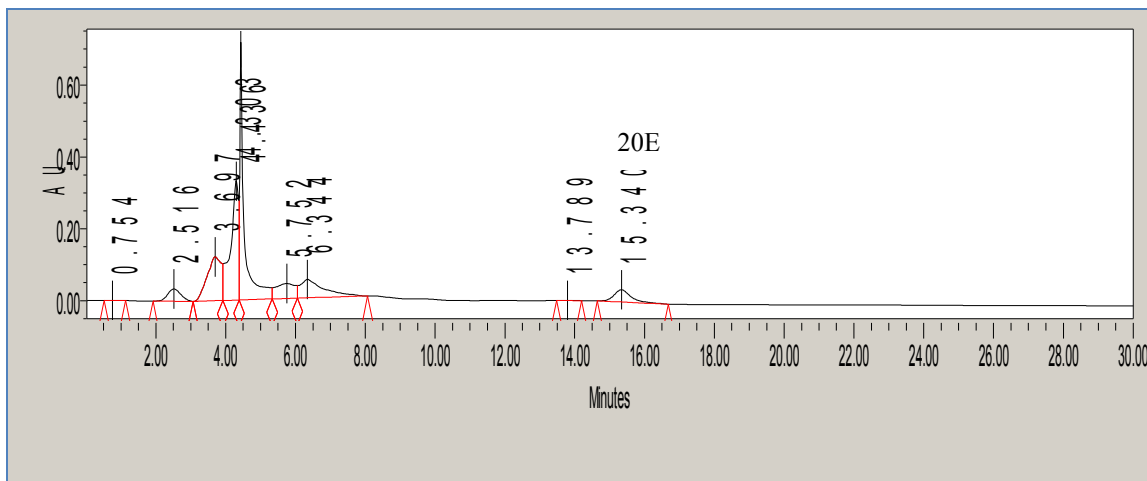
### پرورش حشرات

آزمایش ها روی بید کلم انجام گرفت. لارو و شفیره این حشره از برگ های گل کلم مزارع واقع در کهریزک تهران جمع آوری شد و به آزمایشگاه منتقل گردید. این حشره روی گلدان های گیاه کلزا (رقم اپرا) رهاسازی و پرورش یافت. حشرات در دمای  $1 \pm 27$  درجه سلسیوس،

Polypodin 20-Hydroxyecdysone (20E)

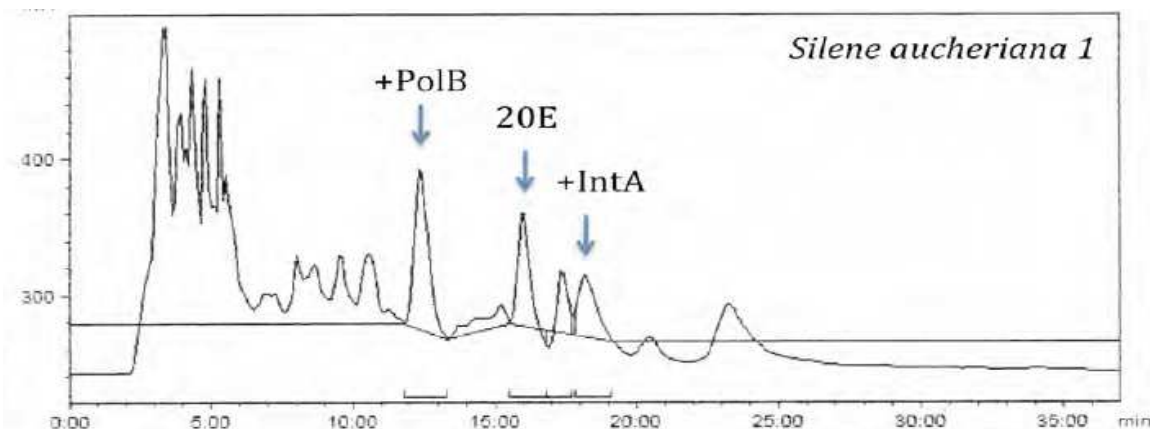
Integristerone A (Int A) و B (PolB),  
این گیاه به اثبات رساند (شکل ۲).

دقیقه و ۳۴ ثانیه توسط شناساگر، ترکیب ۲۰- هیدروکسی  
اکدیسون تشخیص داده شد (شکل ۱ پایین). آزمایش های  
تکمیلی وجود سه ترکیب اکدیستروئیدی به نام های



شکل ۱- کروماتوگرام حاصل از تزریق 20-Hydroxyecdysone (20E) خالص با غلظت ۱۰۰۰ پی پی ام (بالا) و گیاه *Silene aucheriana* (پایین) با استفاده از HPLC

کوه جانی گرجی و همکاران: ترکیبات اکدیستروئیدی گیاه...



شکل ۲- تعیین فیتواکدیستروئیدهای 20-Hydroxyecdysone (20E)، Polygodin B (Pol B) و Integristerone A (Int A) در گیاه *Silene aucheriana* با استفاده از HPLC

وزن، نزدیک به ۳۰ درصد از وزن شفیرگی کاسته شده که می تواند اثرات شدیدی را در مراحل بعدی بر جای بگذارد. حدود ۶ درصد از گونه های گیاهی آزمایش شده قادر به سنتز اکدیستروئیدها هستند و تنها کمتر از ۲ درصد از گیاهان برای وجود این ترکیبات بررسی شده اند (دینان<sup>۱</sup>، ۲۰۰۱). مقدار اکدیستروئیدها در گیاهان حدود ۰/۰۱ درصد یا کمتر از وزن خشک آنهاست، لذا غلظت این ترکیبات در گیاهان بیشتر از حشرات می باشد. بیشترین مقدار این ترکیبات در حشرات حدود ۰/۰۲۵ درصد (جنین ملخ) است (دینان، ۲۰۰۱). در پژوهش های اخیر، مقدار 20E در گیاه اسفناج ۱۹۴/۷ میکرو گرم بر ۱۰۰ گرم تر گیاه (صحاف و محرمی پور<sup>۲</sup>، ۲۰۱۳) و در سرخس شترمرغی ۱۵۰/۴ میکرو گرم بر ۱۰۰ گرم وزن خشک گیاه تعیین شده است (تابع بردبار و همکاران، ۱۳۹۴). اما مقدار تقریبی این ترکیب (20E) در گیاه *S. aucheriana* در حدود ۱۰۰۰ میکرو گرم در ۱۰۰ گرم وزن خشک گیاه برآورد شده است، هر چند که نیاز به مطالعات دقیق تر توسط دستگاه HPLC-MS می باشد.

#### اثر تغذیه ای عصاره اکدیستروئیدی *S. aucheriana* بر وزن لاروی و شفیرگی سن سوم بید کلم

نتایج حاصل از تغذیه لاروهای سن سوم بید کلم از برگ های تیمار شده با غلظت های مختلف نشان دهنده ی کاهش وزن لاروی نسبت به شاهد می باشد. همان طور که در جدول شماره ۱ نشان داده شده، وزن لارو با افزایش غلظت، کاهش یافته است. کمترین میانگین وزنی در غلظت ۴۰ درصد (۲/۸۹±۰/۰۵ میلی گرم) و بیشترین مقدار آن در شاهد (۳/۷۵±۰/۰۱۴ میلی گرم) مشاهده شد. تفاوت معنی داری بین شاهد و سایر غلظت ها وجود داشت؛ با توجه به درصد کاهش وزن در جدول شماره ۱، مشاهده می شود که در بالاترین غلظت حدود ۲۳ درصد مقدار وزن کاهش یافته است.

بر اساس جدول ۲، همین روند در آزمایش مربوط به اثر غلظت های مختلف عصاره مذکور بر مقدار وزنی شفیرگی مشاهده شد. وزن شفیرگی با افزایش غلظت کاهش پیدا کرد و این تفاوت در وزن، بین غلظت های مختلف در سطح ۵ درصد معنی دار بود، به طوری که بیشترین مقدار آن در شاهد (۳/۶۲±۰/۰۰۴ میلی گرم) و کمترین آن در غلظت ۴۰ درصد (۲/۵۶±۰/۰۰۲ میلی گرم) مشاهده شد. با توجه به درصد کاهش

1- Dinan

2- Sahaf & Moharramipour

جدول ۱- اثر غلظت های مختلف عصاره اکدیستروئیدی گیاه *Silene aucheriana* بر وزن لاروی بید کلم

درصد کاهش وزن	میانگین وزن لارو (میلی گرم) (Mean ± SE)	غلظت (%)
۰	۳/۷۵±۰/۱۴ <sup>a</sup>	۰
۱۰/۶۷	۳/۳۵±۰/۰۷ <sup>b</sup>	۲
۱۶/۲۷	۳/۱۴±۰/۰۸ <sup>bc</sup>	۵
۱۶/۸	۳/۱۲±۰/۱۱ <sup>bc</sup>	۱۰
۱۷/۰۷	۳/۱۱±۰/۰۵ <sup>bc</sup>	۲۰
۲۲/۹۳	۲/۸۹±۰/۰۵ <sup>c</sup>	۴۰

میانگین های با حروف مشترک در ستون با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری باهم ندارند.

جدول ۲- اثر غلظت های مختلف عصاره اکدیستروئیدی گیاه *Silene aucheriana* بر وزن شفیره گی بید کلم

درصد کاهش وزن	میانگین وزن شفیره (میلی گرم) (Mean ± SE)	غلظت (%)
۰	۳/۶۲±۰/۰۴ <sup>a</sup>	۰
۱۰/۷۷	۳/۲۳±۰/۰۴ <sup>b</sup>	۲
۱۳/۵۴	۳/۱۳±۰/۰۵ <sup>bc</sup>	۵
۱۳/۸۱	۳/۱۲±۰/۰۳ <sup>bc</sup>	۱۰
۱۷/۶۸	۲/۹۸±۰/۰۴ <sup>c</sup>	۲۰
۲۹/۲۸	۲/۵۶±۰/۰۲ <sup>d</sup>	۴۰

میانگین های با حروف مشترک در ستون با استفاده از آزمون LSD در سطح ۵ درصد اختلاف معنی داری باهم ندارند.

(Lepidoptera: Pyralidae) تاثیر می گذارند (رارب و همکاران<sup>۱</sup>، ۲۰۱۰).

در این پژوهش عصاره اکدیستروئیدی گیاه سیلن باعث کاهش معنی دار وزن لارو و شفیره های بید کلم شد. این پدیده در سایر حشرات تغذیه کرده از ترکیبات اکدیستروئیدی مشاهده شده است. به طور مثال تغذیه از فیتواکدیستروئیدها در بالپولکدارانی مانند *Aglais* *Inachis io* و *Cynthia cardui* L. *articae* L. از خانواده Nymphalidae (بلک فورد و دینان<sup>۲</sup>، ۱۹۹۷) و *Acrolepiopsis assectella* Zeller

همانطور که در نتایج مشاهده شد گیاه *S. aucheriana* همانند بیشتر اعضای تیره میخک دارای ترکیبات متنوع اکدیستروئیدی می باشد. دو ترکیب Pol B و 20E که جزء متداول ترین ترکیبات در گیاهان حاوی ترکیبات فیتواکدیستروئیدی می باشند، در این گیاه نیز وجود داشت. بررسی های انجام شده روی ترکیبات اکدیستروئیدی حاصل از گیاه *Ajuga* (Lamiaceae) *iva* (L.) و *Silene nutans* L. نیز نشان داد که ترکیبات اکدیستروئیدی 20E، Pol B و پوناسترون آ در این گیاهان غالب بوده و بر رشد و نمو شب پره هندی *Plodia interpunctella* Hubner

1- Rharrabe et al.

2- Blackford & Dinan

اکدیستروئیدی در گیاهان تیره چلیپائیان گزارشی در دسترس نمی باشد. لذا لاروهای بید کلم به راحتی می توانند از گیاهان آغشته شده به این ترکیبات تغذیه نمایند. در نتیجه به نظر می رسد که کاهش وزن در این حشرات ناشی از اختلال در دستگاه گوارش باشد که نیاز به اجرای طرح پژوهشی جدیدی دارد. در این رابطه، کاهش وزن و مرگ سلول های اپیتلیومی معده لاروهای شب پره هندی در اثر تغذیه از 20E (استخراج شده از گیاه *Ajuga iva*) اثبات شده است (رارب و همکاران<sup>۶</sup>، ۲۰۰۹). مطالعات قبلی نیز نشان می دهد که لاروهای بید کلم و شب پره آرد در صورتی که از ترکیبات اکدیستروئیدی گیاهان اسفناج و سرخس شترمرغی تغذیه نمایند، موجب بدشکلی و کاهش وزن لارو و حشرات کامل، اختلال در جفت گیری و کاهش تخم ریزی خواهد شد (صحاف و محرمی پور<sup>۷</sup>، ۲۰۱۳؛ صحاف و محرمی پور<sup>۸</sup>، ۱۳۹۳؛ تابع بردبار و همکاران، زیر چاپ). در این پژوهش نیز لاروها و حشرات کامل بید کلم بد شکل شدند که لازم است مطالعات بیشتری در مورد گیاه سیلن انجام شود. با توجه به اینکه بید کلم طول دوره تغذیه کوتاهی دارد و از طرفی میزان تخم ریزی حشرات کامل بستگی به ذخایر غذایی اندوخته شده در طی دوره لاروی دارد، انتظار می رود این کاهش وزن بر میزان تخم ریزی حشرات کامل اثر قابل توجهی داشته باشد که در این رابطه مطالعات جامع در حال انجام است. لذا وجود 20E در ترکیب سیلن می تواند در کاهش تخم ریزی موثر باشد. در این رابطه ثابت شده است که وجود ترکیب 20E در غذای لارو شب پره هندی موجب اختلال در ویتلوژنز (سنتر پروتئین زرده تخم) در حشرات کامل و کاهش تخم ریزی می گردد (شیرک و بروکس<sup>۸</sup>، ۱۹۷۸). بیشترین اختلالات رشدی در زمان پوست اندازی یا

خانواده Acrolepiidae (آرنولت و اسلاما<sup>۱</sup>، ۱۹۸۶) و کرم ابریشم *Bombyx mori* L. (کوبو و همکاران<sup>۲</sup>، ۱۹۸۳) و کرم سرخ پنبه *Pectinophora gossypiella* ، *Saun* (Lepidoptera: Gelechiidae) باعث کاهش وزن و افزایش مرگ و میر لاروها می شوند. همچنین نتایج مشابهی در کاهش وزن لاروهای سن سوم بید کلم تغذیه کرده از ترکیب اکدیستروئیدی *Cyasterone* تخلیص شده از گیاه جنس *Ajuga* در غلظت ۵۰ میلی گرم در لیتر گزارش شده است (زننگ و همکاران<sup>۳</sup>، ۲۰۰۱). کاهش وزن در اثر ترکیبات اکدیستروئیدی می تواند ناشی از دو علت باشد. در بعضی مواقع اجتناب از تغذیه، که ناشی از اثر بازدارندگی ترکیبات اکدیستروئیدی می باشد می تواند موجب کاهش تغذیه و در نتیجه کاهش وزن گردد. به طور مثال در حشرات پلی فاژی نظیر *Ostrinia nubilalis* (Hubner) و *Spodoptera littoralis* (Boisduval) که لارو سن یک قادر به درک ترکیبات اکدیستروئیدی می باشد، کاهش وزن را می توان به اثرات بازدارندگی از تغذیه ترکیبات اکدیستروئیدی نسبت داد (ماریون پل و دیکونیس<sup>۴</sup>، ۲۰۰۲؛ کالاس و همکاران<sup>۵</sup>، ۲۰۰۷). این حشرات با استفاده از گیرنده های چشایی این ترکیبات را تشخیص داده و از تغذیه اجتناب می ورزند. اما دلیل دیگر در کاهش وزن می تواند به خاطر اثر سمی ترکیبات اکدیستروئیدی بر سلول های اپیتلیومی دستگاه گوارش و اختلال در گوارش و جذب عناصر غذایی صورت گیرد. به طور مثال این حالت می تواند در حشراتی مانند بید کلم که الیگوفاز بوده و تنها از گیاهان تیره چلیپائیان تغذیه می نمایند مشاهده شود. تا کنون از وجود ترکیبات

1- Arnult &amp; Slama

2- Kubo *et al.*3- Zeng *et al.*

4- Marion-Poll &amp; Descoins

5- Calas *et al.*6 - Rharrabe *et al.*

7 - Sahaf &amp; Moharrampour

8 - Shirk &amp; Brookes



ایمنی بدن حائز اهمیت می باشند. به طور کلی می توان نتیجه گرفت که ترکیبات اکدیستروئیدی گیاه سیلن به طور گسترده ای می توانند موجب اختلال در تغذیه و تولید مثل بید کلم شوند که این امر نیاز به مطالعات جامعی دارد. از آنجا که اغلب گونه های گیاهی متعلق به تیره میخکیان حاوی ترکیبات اکدیستروئیدی می باشند و بعضی از آنها حتی به عنوان گیاه زینتی پرورش می یابند، لازم است در مورد شناسایی ترکیبات اکدیستروئیدی و اثرات دارویی و حشره کشی آنها مطالعات جامعی در کشور صورت گیرد.

### سپاس گذاری

از جناب آقای پروفیسور Lafont از دانشگاه Pierre and Marie Curie به خاطر تایید ترکیبات فیتواکدیستروئیدی گیاه *Silene aucheriana* نهایت تشکر و قدر دانی می شود.

دگردیسی حشره دیده شد که این پدیده بیانگر اثر هورمونی موجود در ترکیب سیلن می باشد زیرا ترکیبات تنظیم کننده رشد حشرات نظیر اکدیستروئیدها و ترکیبات شبه هورمون جوانی چنین علائمی را از خود بروز می دهند. ترکیب استخراج شده از گیاه سیلن را می توان در گروه ترکیبات تنظیم کننده رشد (IGR) قلم داد نمود. زیرا طی این پژوهش بیشترین اثرات مشاهده شده در مرگ و میر، در زمان پوست اندازی لاروی و همچنین دگردیسی حشره از لارو به شفیره و شفیره به حشره کامل مشاهده شد که این حالت در اثر ترکیبات تنظیم کننده رشد در حشرات مرسوم می باشد.

تا کنون پژوهشی روی گیاهان بومی ایران برای جستجوی این ترکیبات صورت نگرفته بود و نیاز به بررسی بیشتر روی گیاهان بومی ایران احساس می شود تا به یافتن ترکیبات جدید تری کمک شود. زیرا این ترکیبات از نظر گیاهپزشکی برای کنترل آفات و از نظر دارویی برای کمک به درمان بسیاری از بیماری های مرتبط با سیستم

### منابع

۱. تابع بردبار، ف.، محرمی پور، س. و صحاف، ب. ز.، ۱۳۹۴. خصوصیات حشره کشی و ضد تغذیه ای عصاره متانولی گیاه سرخس شترمرغی *Matteuccia struthiopteris* بر شب پره پشت الماسی *Plutella xylostella*. فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۳۱ (۱): زیر چاپ.
۲. صحاف، ب. ز. و محرمی پور، س.، ۱۳۹۳. اثر عصاره اکدیستروئیدی گیاه اسفناج *Spinacia oleracea* روی پارامترهای جدول زندگی و رشد جمعیت شب پره آرد *Ephestia kuehniella*. فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۳۰ (۲): زیر چاپ.
۳. زاهدی، ک. ۱۳۷۱. آفات گیاهان زینتی و صیفی در ایران و روشهای مبارزه با آنها. مرکز نشر دانشگاهی، تهران، چاپ اول، ۱۴۳ ص.

4. Arnult, C., and Sláma, K., 1986. Dietary effects of phytoecdysones in the leek-moth, *Acrolepiopsis assectella* Zell. (Lepidoptera: Acrolepiidae). Journal of Chemistry Ecology, 12: 1979–1986.

کوه جانی گرجی و همکاران: ترکیبات اکدیستروئیدی گیاه...

5. Blackford, M. J. P., and Dinan, L., 1997. The effect of ingested phytoecdysteroids on the larvae of *Aglais urticae*, *Inachis io*, *Cynthia cardui* (Lepidoptera, Nymphalidae) and *Tyria jacobaeae* (Lepidoptera, Arctiidae). *Journal of Insect Physiology*, 43: 315-327.
6. Calas, D., Berthier, A., and Marion-Poll, F., 2007. Do European corn borer females detect and avoid laying eggs in the presence of 20-hydroxyecdysone. *Journal of Chemical Ecology*, 33: 1393-1404.
7. Dallaire, R., Labrecque, A., Marcotte, M., Bauce, E., and Delisle, J., 2004. The sublethal effects of tebufenozide on the precopulatory and copulatory activities of *Choristoneura fumiferana* and *C. rosaceana*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 112: 169-181.
8. Dinan, L., 1995. A strategy for the identification of ecdysteroid receptor agonists and antagonists from plants. *European Journal of Entomology*, 92: 271-283.
9. Dinan, L., 2001. Phytoecdysteroids: biological aspects. *Phytochemistry*, 57: 325-339.
10. Kubo, I., and Hanke, F. J., 1986. Chemical methods for isolating and identifying phytochemicals biologically active in insects: 225-249. In: Miller, J. R. and Miller, T.A. (Eds), *Insect Plant Interactions*. Springer-Verlag, pp: 121-153.
11. Kubo, I., Klocke, J. A., and Asano, S., 1983. Effects of ingested phytoecdysteroids on the growth and development of two lepidopterous larvae. *Journal of Insect Physiology*, 29:307-316.
12. Lafont, R., 1997. Ecdysteroids and related molecules in animals and plants. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 35: 3-20.
13. Marion-Poll, F., and Descoins, C., 2002. Taste detection of phytoecdysteroids in larvae of *Bombyx mori*, *Spodoptera littoralis* and *Ostrinia nubilalis*. *Journal of Insect Physiology*, 48: 467-476.
14. Nakanishi, K., Koreeda, M., Sasaki, L., Chang, M. L., and Hsu, H. Y., 1966. Insect hormones I. the structure of ponasterone A, an insect molting hormone from the leaves of *Podocarpus nakaii* H. *Journal of Chemical Society, Chemical Communications*, 915-917.
15. Pedigo, L. P., 2002. *Entomology and pest management*. Prentice Hall, Hardbound, 742 pp.
16. Rao, P. S. C., Bellin, C. A., and Brusseau, M. L., 1993. Coupling biodegradation of organic chemicals to sorption and transport in soils and aquifers: paradigms and paradoxes in Sorption and Degradation of Pesticides and Organic Chemicals in Soil, 32: 1-26.

17. Rharrabe, K., Bouayad, N., and Sayah, F., 2009. Effect of ingested 20-hydroxyecdysone on development and midgut epithelial cells of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera, Pyralidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 93: 112-119.
18. Rharrabe, K., Bouayad, N., and Sayah, F., 2010. Dietary effects of four phytoecdysteroids on growth and development of the indian meal moth, *Plodia interpunctella*. *Journal of Insect Science*, 10(13):1-13.
19. Sahaf, B.Z., and Moharramipour, S., 2013. Effects of ecdysteroidal extract of *Spinacia oleracea* on demographic parameters of the diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Crop Protection*, 2(2):109-116.
20. Shirk, P., and Brookes, V., 1987. 20-Hydroxyecdysone suppresses yolk production in the indianmeal moth. *Molecular Entomology*, 4:415-424.
21. Slama, K., and Lafont, R., 1995. Insect hormones-ecdysteroids: their presence and actions in vertebrates. *European Journal of Entomology*, 92: 355-377.
22. SPSS. 2008. SPSS Base 17.0 User's Guide. SPSS Incorporation, Chicago, IL.
23. Talekar, N. S., and Shelton, A. M. 1993. Biology, ecology and management of diamondback moth. *Annual Review of Entomology*, 38: 275-301.
24. Xeng, X., Fang, J., Zhang, S., and Han, J., 2001. Effects of cyasterone on growth and development of Diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.). *Entomologia Sinica*, 8(3):233-239.