

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشکده کشاورزی

پایان نامه کارشناسی ارشد حشره شناسی

تأثیر عصاره‌های گیاهان نعناع فلفلی و
مریم‌گلی بر پروفایل سلول‌های خونی و شاخص
تغذیه شب‌پره هندی

Plodia interpunctella Hubner

(Lepidoptera:Pyralidae)

نگارنده: زهرا ابراهیمی زاده برج قلعه

استاد راهنما

دکتر مریم عجم حسنی

اسفند ۱۴۰۰

در این صفحه صورت جلسه دفاع را قرار دهید. لازم است پس از صحافی این صفحه مجدداً توسط دانشکده مهر گردد و استاد راهنما با امضای خود اصلاحات پایان نامه را تایید کند.

تقدیم بہ

شہید سردار بہید علی قاسم سلیمانی

و پدر و مادر عزیز تر از جانم

و تمامی مہمانان حرم و مہمانان سلامت کہ در این روزگار سخت کہ ہمان درگیر وروس منحوس کرونا است بی دریغ از جان خود برای مہمی گذرند.

امید است بایاری پرور و کار حراہہ سریع تر از این وروس رنجانی یابیم.

بیہاس تمام زحمت بی دریغ آن ہا

شکر و قدردانی

به نام خداوند لوح و قلم
تحقیقت محار و جود و عدم
خدایی که دانه را زماست
تختین سرا غار آغاز ماست

منت خدای را غنوجل که طاعتش موجب قهرمت و شکر اندرش مزید نعمت. جادارو که پس از شکر پروردگار از تمام کسانی که در راه رسیدن به ابدافهم یاری ام نمودند کمال شکر را به جای آورم.
پدر و مادر عزیزم که با حمایت بی سائبه و بی درنیشان در این راه مریاری دادند و موجب دلگرمی ام بودند کمال شکر را دارم و برایشان توفیق روز افزون و سلامتی را از پروردگار خواستارم.
از محضر استاد راهنمای عزیزم خانم دکتر مریم عجم حسنی که بهواره با کمال داور اینجانی بی وقفه خود در طول تسه و تدوین پایان نامه صبورانه یاری ام دادند صمیمانه تقدیر و تشکر می کنم.
از تمامی اساتیدم در طول تحصیل کارشناسی ارشد آقایان دکتر علی درخشان سادهمری، دکتر مسعود حکیمی تبار که با سعد صدر به دانش آموختن نهایت شکر را دارم.
همچنین از خانم مهندس عبدالملی (منول محترم آزمایشگاه گیاه پزشکی) دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهرود صمیمانه تشکر می کنم. جادارو در این جاز هم کلاسی محترم جناب آقای مهندس آبهنگی که در طول تسه پایان نامه پانچلوی سوا لاتم بودند کمال شکر را به جای آورم.

با آرزوی توفیق و سلامتی و شادکامی تمامی این عزیزان.

تعمدنامه

اینجانب زهرا براهیمی زاده برج قلعه دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته حشره شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود نویسنده پایان نامه تأثیر عصاره های گیاهان نعنای فلفلی و مریم گلی بر پروفایل سلول های خونی و شاخص تغذیه شب پره هندی *Plodia interpunctella* Hubner (Lepidoptera:Pyralidae)

تحت راهنمایی دکتر مریم عجم حسنی متعهد می شوم.

- تحقیقات در این پایان نامه توسط اینجانب انجام شده است و از صحت و اصالت برخوردار است .
- در استفاده از نتایج پژوهش های محققان دیگر به مرجع مورد استفاده استناد شده است .
- مطالب مندرج در پایان نامه تاکنون توسط خود یا فرد دیگری برای دریافت هیچ نوع مدرک یا امتیازی در هیچ جا ارائه نشده است .
- کلیه حقوق معنوی این اثر متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد و مقالات مستخرج با نام « دانشگاه صنعتی شاهرود » و یا « Shahrood University of Technology » به چاپ خواهد رسید .
- حقوق معنوی تمام افرادی که در به دست آمدن نتایج اصلی پایان نامه تأثیرگذار بوده اند در مقالات مستخرج از پایان نامه رعایت می گردد.
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه ، در مواردی که از موجود زنده (یا بافتهای آن ها) استفاده شده است ضوابط و اصول اخلاقی رعایت شده است .
- در کلیه مراحل انجام این پایان نامه، در مواردی که به حوزه اطلاعات شخصی افراد دسترسی یافته یا استفاده شده است اصل رازداری ، ضوابط و اصول اخلاق انسانی رعایت شده است .

تاریخ

امضای دانشجو

مالکیت نتایج و حق نشر

کلیه حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج ، کتاب ، برنامه های رایانه ای ، نرم افزار ها و تجهیزات ساخته شده است) متعلق به دانشگاه صنعتی شاهرود می باشد . این مطلب باید به نحو مقتضی در تولیدات علمی مربوطه ذکر شود . استفاده از اطلاعات و نتایج موجود در پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نمی باشد.

حکیده

استفاده از عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی ضمن کم‌خطر بودن برای انسان، پستانداران و طبیعت، اغلب به عنوان جایگزین‌های مناسبی برای ترکیبات شیمیایی پیشنهاد می‌شوند. بنابراین در تحقیق حاضر، تأثیر عصاره‌های گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بر پروفایل سلول‌های خونی و شاخص‌های تغذیه شب پره هندی (*Plodia interpunctella* Hubner (Lepidoptera Pyralidae); در شرایط آزمایشگاهی (دمای 25 ± 3 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 40 ± 5 در صد و دوره نوری ۱۶:۱۰ ساعت (تاریکی و روشنایی)) مورد بررسی قرار گرفت. لاروهای سن چهارم این آفت انباری، با عصاره‌های اتانولی نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران در غلظت‌های ۱۰، ۶ و ۲۰ گرم/میلی‌لیتر در دو بازه زمانی ۲۴ و ۴۸ ساعته تیمار شدند. نتایج ایمنی شناسی نشان داد، تأثیر عصاره‌های مختلف گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بر تعداد پلاسموتوسیت‌ها و گرانولوسیت‌ها و نیز تعداد کل سلول‌های خونی نسبت به شاهد معنی‌دار بود و با افزایش غلظت عصاره‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت بر اساس نتایج تعداد کل سلول‌ها در تیمار نعنای فلفلی با غلظت‌های ۲۰٪ و ۱۰٪ و شیرین‌بیان با غلظت ۲۰٪ در ۲۴ ساعت و تیمار نعنای فلفلی با غلظت‌های ۲۰٪ و ۱۰٪ و مریم‌گلی با غلظت ۶٪ در ۴۸ ساعت بیشترین افزایش را نسبت به شاهد داشتند و تیمارهای نعنای فلفلی و زعفران با غلظت‌های ۶٪ کمترین افزایش را نسبت به شاهد نشان دادند. در مورد پارامتر تعداد گرانولوسیت‌ها نتایج نشان داد که تمامی عصاره‌ها در تمامی غلظت‌ها نسبت به شاهد تا ۲۰٪ افزایش داشتند. پلاسموتوسیت‌ها نیز تحت اثر تیمار نعنای فلفلی با غلظت‌های ۱۰٪ و ۲۰٪ پس از ۲۴ ساعت و تیمار نعنای فلفلی با غلظت ۲۰٪ پس از ۴۸ ساعت بیشترین افزایش را نسبت به شاهد داشتند و تیمارهای شیرین‌بیان و زعفران با غلظت ۶٪ بیشترین کاهش را نسبت به شاهد نشان دادند. با توجه به ارزیابی‌های صورت گرفته غلظت ۲۰٪ مریم‌گلی بیشترین افزایش فعالیت فنل اکسیداز را نسبت به شاهد نشان داد و سایر تیمارها نسبت به شاهد تفاوت معنی‌دار

نداشتند.

همچنین در مطالعه شاخص‌های تغذیه‌ای تفاوت معنی‌داری بین عصاره‌ها با شاهد مشاهده شد به طوری که در تمامی تیمارها نسبت به شاهد کاهش نرخ رشد نسبی مشاهده گردید و نیز نرخ مصرف نسبی عصاره‌ها نسبت به شاهد دارای تفاوت معنی‌داری بود. تمامی غلظت‌های نعنای فلفلی نسبت به شاهد دچار کاهش شد و سایر تیمارها با شاهد در یک گروه قرار گرفتند. شاخص بازدهی غذای خورده شده عصاره‌ها نسبت به شاهد دارای تفاوت معنی‌داری بود و تمامی تیمارها نسبت به شاهد کاهش داشتند. در ارزیابی حاصل از شاخص بازدارندگی تغذیه تمامی عصاره‌ها با شاهد دارای تفاوت معنی‌دار بودند. عصاره‌های گیاهی به کار رفته در این تحقیق بر ویژگی‌های زیستی شب‌پره هندی مؤثر بودند. به طوری که عصاره نعنای فلفلی و مریم‌گلی در غلظت ۲۰٪ سبب افزایش طول دوره لاروی و نیز همین غلظت عصاره نعنای فلفلی سبب افزایش طول دوره شفیرگی گردید در میزان وزن شفیره نیز تمامی تیمارها مؤثر بودند. طول عمر حشرات کامل تحت تأثیر تیمارها و شاهد اختلاف معنی‌داری نشان نداد.

کلید واژگان: شب‌پره هندی، عصاره اتانولی گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران،

ایمنی، آنزیم فنل اکسیداز، شاخص‌های تغذیه، ویژگی‌های زیستی

لیست مقالات مستخرج از پایان نامه

۱-

۲-

۳-

فهرست مطالب

۱	فصل اول
۱	مقدمه و کلیات
۲	۱-۱ مقدمه
۵	فصل دوم
۵	بررسی منابع
۶	۲-۱ آفات انباری
۶	۲-۲ خسارت آفات انباری
۷	۲-۳ استراتژی‌های کنترل آفات انباری
۷	۲-۳-۱ مهندسی در احداث انبار، بهداشت در ذخیره‌سازی:
۸	۲-۳-۲ هوادهی و کنترل حرارتی:
۸	۲-۳-۳ پودرهای خنثی و حفاظت کننده‌های بذر:
۹	۲-۳-۴ کاربرد امواج الکترومغناطیسی:
۱۰	۲-۳-۵ پیام‌رسان‌های شیمیایی:
۱۱	۲-۳-۶ کنترل شیمیایی:
۱۱	۲-۳-۷ کنترل بیولوژیک:
۱۲	۲-۳-۸ آفت‌کش‌های بایروشنال:
۱۳	۲-۴ ترکیبات گیاهی:

۵-۲- مطالعات انجام شده در زمینه بررسی عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی بر سامانه ایمنی و شاخص تغذیه..... ۱۹

۶-۲- انواع گیاهان مورد مطالعه در این تحقیق و تأثیر آن‌ها بر حشرات..... ۲۳

۱-۶-۲- نعنای فلفلی:..... ۲۳

۲-۶-۲- مریم‌گلی:..... ۲۴

۳-۶-۲- شیرین‌بیان:..... ۲۵

۴-۶-۲- زعفران..... ۲۶

۲۹ فصل سوم

۲۹ مواد و روش‌ها

۱-۳- پرورش حشرات..... ۳۰

۲-۳- مواد گیاهی..... ۳۱

۳-۳- تهیه عصاره گیاهی..... ۳۱

۳-۴- زیست‌سنجی:..... ۳۲

۵-۳- بررسی تأثیر عصاره‌های گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی بر تعداد کل، گرانولوسیتها و پلاسموتوسیتها در لاروهای سن چهارم شب‌پره هندی..... ۳۳

۶-۳- بررسی عصاره‌های گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بر شاخص تغذیه لارو سن چهارم شب‌پره هندی:..... ۳۴

۷-۳- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم فنل اکسیداز:..... ۳۵

۸-۳- بررسی غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بر خصوصیات زیستی شب‌پره هندی..... ۳۸

۳۹ فصل چهارم

۳۹ نتایج و بحث

۱-۴- زیست‌سنجی..... ۴۰

۴-۲-نتایج ایمنی‌شناسی.....۴۲

۴-۲-۱- تأثیر عصاره‌های گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بر تعداد کل

سلول‌های خونی (Total Hemocyte Count).....۴۲

۴-۲-۲- تأثیر عصاره‌های گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بر تعداد

گرانولوسیت‌ها.....۴۵

۴-۲-۳- تأثیر عصاره‌های گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بر تعداد

پلاسموتوسیت‌ها.....۴۸

۴-۲-۴- تأثیر عصاره‌های اتانولی نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بر فعالیت

آنزیم فنل اکسیداز (Phenol Oxidase).....۵۱

۴-۳- ارزیابی شاخص‌های تغذیه.....۵۳

۴-۳-۱- تأثیر عصاره‌های گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بر رشد نسبی

(Relative Growth Rate).....۵۳

۴-۳-۲- تأثیر عصاره‌های گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بر نرخ مصرف

نسبی (Relative Consumption Rate).....۵۵

۴-۳-۳- تأثیر عصاره گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بر شاخص بازدهی

غذای خورده شده (Efficacy of conversion of Ingested Food).....۵۷

۴-۳-۴- تأثیر عصاره‌های گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بر شاخص

بازدارندگی تغذیه (Feeding Deterrent Index).....۵۸

۴-۴- تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌های اتانولی گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و

زعفران بر مراحل زیستی شب‌پره هندی.....۶۰

۴-۴-۱- تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهان بر طول دوره لاروی شب‌پره هندی.....۶۰

۴-۴-۲- تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهان بر طول دوره شفیرگی.....۶۱

۴-۴-۳- تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهان بر وزن شفیره.....۶۲

۴-۴-۴- تأثیر عصاره‌های گیاهان بر طول عمر حشرات کامل.....۶۳

فهرست جداول

جدول ۴-۱. بررسی سمیت اتانولی عصاره‌های نعناع فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بر لارو سن
چهارم شب‌پره هندی ۳۸

فهرست اشکال

- شکل ۳-۱- ظرف حاوی غذای مصنوعی (عکس اصلی) ۳۰
- شکل ۳-۲- الف) آسیاب نمودن گیاهان ۳۱
- شکل ۳-۳- شمارش سلولهای خونی به وسیله میکروسکوپ نوری (عکس ها اصلی) ۳۴
- شکل ۴-۱- تأثیر غلظت‌های اتانولی عصاره‌های نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بر تلفات لارو سن چهارم شبپره هندی ۴۱
- شکل ۴-۲- میانگین تعداد کل سلول‌های خونی لارو سن چهارم شبپره هندی تحت تأثیر تغذیه از غذای مصنوعی در غلظت‌های ۲۰، ۱۰، ۶ (گرم/ میلی گرم) از گیاهان پس از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت ۴۱
- شکل ۴-۳- میانگین گرانولوسیت‌های لارو سن چهارم شبپره هندی تحت تأثیر تغذیه از غذای مصنوعی در غلظت‌های ۲۰، ۱۰، ۶ درصد از گیاهان پس از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت ۴۵
- شکل ۴-۴- میانگین تعداد پلاسموتوسیت‌های لارو سن چهارم شبپره هندی تحت تأثیر تغذیه از غذای مصنوعی در غلظت‌های ۲۰، ۱۰، ۶ درصد از گیاهان پس از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت ۴۸
- شکل ۴-۵- میانگین فعالیت آنزیم فنل اکسیداز لارو سن چهارم شبپره هندی تحت تأثیر غذای مصنوعی حاوی عصاره گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران در غلظت‌های ۱۰، ۶ و ۲۰ درصد از گیاهان پس از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت ۵۱
- شکل ۴-۶- نرخ رشد نسبی (RGR) لاروهای سن چهارم شبپره هندی ۵۴
- شکل ۴-۷- نرخ مصرف نسبی غذا (RCR) لارو سن چهارم شبپره هندی ۵۵
- شکل ۴-۸- شاخص بازدهی غذای خورده شده (ECI) لارو سن چهارم شبپره هندی ۵۷
- شکل ۴-۹- شاخص بازدارندگی تغذیه (FDI) لارو سن چهارم شبپره هندی ۵۸
- شکل ۴-۱۰- میانگین طول دوره لاروی شبپره هندی تحت تأثیر تغذیه از غذای مصنوعی حاوی غلظت‌های مختلف عصاره گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران ۶۰
- شکل ۴-۱۱- میانگین طول دوره شفیرگی شبپره هندی تحت تأثیر تغذیه از غذای مصنوعی حاوی غلظت‌های مختلف عصاره گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران ۶۱
- شکل ۴-۱۲- میانگین وزن شفیره شبپره هندی تحت تأثیر تغذیه از غذای مصنوعی حاوی غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران ۶۲
- شکل ۴-۱۳- میانگین طول عمر حشرات کامل شبپره هندی تحت تأثیر تغذیه از غذای مصنوعی حاوی غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران ۶۳

فصل اول

مقدمه و کلیات

۱-۱ مقدمه

آفات انباری اغلب به طیف وسیعی از محصولات ذخیره شده در انبارها حمله می‌کنند و هرساله خسارت‌های جبران ناپذیری به انبارها و سیلوها وارد می‌کنند (Haque et al, 2000; Koul et al, 2008). این حشرات علاوه بر تأثیرات منفی بر روی کمیت و کیفیت محصولات غذایی ذخیره شده، بر ارزش غذایی و بازاریابی آن‌ها تأثیر می‌گذارند (Rajendran and Sriranjini, 2008). شب‌پره هندی *Plodia interpunctella* (Hubner) متعلق به خانواده Pyralidae، یک آفت جهانی است که از محصولات ذخیره شده و کالاهای غذایی فرآوری شده تغذیه می‌کند. این حشره می‌تواند انواع مواد غذایی خشک را آلوده کند و می‌توان گفت یکی از مهم‌ترین حشرات آفت مواد غذایی فرآوری شده است (Mohandass et al, 2007; Sauer et al, 2002; Shojaaddini et al, 2005) و به انواع فرآورده‌های آردی مانند بیسکویت، ماکارونی و نیز انواع شکلات و سبزیجات و مواد سلولزی خسارت وارد می‌کند. با توجه به اینکه محصولات انباری از نظر اقتصادی دارای جایگاه ویژه‌ای هستند. می‌توان جایگزین‌های ایمن مانند عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی را به‌جای سموم شیمیایی در کنترل آفات استفاده نمود چرا که عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی دارای متابولیت‌های مؤثر بر ویژگی‌های زیستی و تغذیه‌ای حشرات مختلف می‌باشند (Gaire et al, 2020). از طرف دیگر، این ترکیبات دارای کمترین خطر بر محیط‌زیست و انسان بوده و به نوعی برای طبیعت و زنجیره‌های آب و خاک سمیت چندانی ندارند (Gaire et al, 2017; Zha et al, 2018).

موفقیت بیولوژیکی حشرات به دلیل سیستم ایمنی قوی آن‌هاست و اولین مانع دفاعی در برابر عوامل برون‌زا مربوط به کوتیکول حشره، غشای پریتروفتیک، پرده اطراف غذا، اپیتلیوم روده میانی و تراشه است (Hillyer, 2016; Stanley and Miller, 2006). ایمنی سلولی آخرین و مهم‌ترین سد دفاع حشره در برابر انواع تنش‌ها و عوامل بیگانه است و اغلب نقش تعیین‌کننده‌ای در بقای حشره دارد. در این بخش

نقش مشارکت سلول‌های خونی و فعالیت سیستم فنل اکسیداز قابل توجه است. (Bulet *et al*, 2005)

سلول‌های خونی حشرات که در منابع گزارش شده‌اند شامل پروهموسیت‌ها به‌عنوان سلول‌های پایه، پلاسموتوسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها، اسفرولوسیت‌ها و اونوسیتوئیدها هستند (Strand and Pech, 1995, Gupta, 1991).

Gupta, 1991) شناخت فعالیت سلول‌های خونی و ارزیابی وضعیت ایمنی سلولی در حشرات، می‌تواند تا حدود زیادی روشن کننده مقاومت یا حساسیت به عوامل بیگانه مانند عصاره‌های گیاهی اسپور قارچ‌ها یا باکتری‌ها و سموم و آلاینده‌های محیطی باشد. این تیمارها تقریباً در همان ساعات اولیه پس از جذب به سیستم گردش خون افزایش چشمگیر تعداد کل سلول‌ها و گرانولوسیت‌ها را سبب می‌شوند. به‌طور کلی سیستم ایمنی حشرات از نوع ذاتی بوده که در مقابل ورود عوامل بیگانه یا آلوده و هر نوع تنش مانند گرسنگی، تغییرات دمایی و اسیدیته، دیابوز و... فعال می‌شود. پس از شناسایی عوامل بیگانه وارد شده در هموسل، اولین واکنش ایمنی بندپایان با تغییرات تعداد و شکل سلول‌های خونی همراه است (Li *et al*, 2019; Duarte *et al*, 2019) بنابراین پروفایل گرانولوسیت‌ها و پلاسموتوسیت‌ها در فرایند ایمنی حشرات به شدت تغییر می‌کند. (Nakahara *et al*, 2003) به طوری که این تغییرات به شکل افزایش یا کاهش تعداد سلول‌های خونی بروز می‌کند که بسته به گونه حشره، مرحله رشدی و نوع آلودگی، متفاوت است (Gupta, 1979).

ثابت شده که حشرات مقاوم‌تر می‌توانند از پیشرفت آلودگی جلوگیری کنند (Borges *et al*, 2008) به عبارت دیگر برهم‌کنش بین عامل بیگانه و سیستم ایمنی حشرات متنوع بوده و بستگی به نوع حشره و فعالیت اجزای ایمنی آن در مقابل عامل بیگانه دارد (Ajamhassani, 2014).

همچنین ترکیبات موجود در عصاره‌ها و یا حشره‌کش‌های گیاهی چنانچه در رژیم غذایی به مصرف حشره برسند، می‌توانند سامانه ایمنی را تحریک کنند (Manjula *et al*, 2020) در واقع غذای مسموم می‌تواند رشد و نمو حشره را دچار اختلال کرده و تا حدود زیادی بر میزان خسارت آن تأثیر بازدارندگی داشته باشد (توکلی و عجم حسنی، ۱۳۹۶). به طور کل شاخص تغذیه از طریق بررسی نرخ رشد نسبی (RGR)، نرخ مصرف نسبی (RCR)، کارایی تبدیل غذای خورده شده (ECI) و شاخص بازدارندگی تغذیه

(FDI)، میزان تأثیر مثبت و منفی غذا را بر روی حشرات بررسی می‌کند و مشخص شده که کیفیت غذا بر رشد و نمو و پاسخ دفاعی حشره در مقابل پاتوژن‌ها مؤثر است. به‌طوری‌که حشراتی که از رژیم غذایی غنی‌تر بهره‌مند هستند، حساسیت کمتری به آلودگی‌های ناشی از پاتوژن‌ها و پارازیت‌ها نشان می‌دهند (Vogelweith *et al*, 2015). ترکیبات موجود در عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهان، مخلوطی از مونوترپنوئیدها با گروه‌های مختلف مانند: فنل، کتون، هیدروکربن، اسید و... هستند و ثابت شده که این ترکیبات معمولاً روی رشد و تولید مثل و بقای حشرات تأثیر داشته و اغلب به طور بالقوه ظرفیت حشره‌کشی دارند و می‌توانند علیه آفات کشاورزی به کار گرفته شوند. (Gaire *et al*, 2020) یکی از روش‌های متداول امروز برای کنترل آفات مانند آفات انباری استفاده از عصاره‌های گیاهی یا اسانس‌های گیاهی است (Darnahal *et al*, 2020).

با توجه به اینکه تاکنون مطالعات تأثیرات گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بر ساختار ایمنی و شاخص تغذیه شب‌پره هندی به شکل گسترده و جامع ثبت نشده است. لذا در این تحقیق اهداف نامبرده ذیل مدنظر قرار داده شدند:

- تعیین غلظت‌های کشنده و زیرکشنده عصاره اتانولی گیاهان نعنای فلفلی و مریم‌گلی بر زنده‌مانی لارو سن چهارم شب‌پره هندی
- تعیین تأثیر غلظت زیرکشنده عصاره‌های گیاهی بر تعداد کل پلاسموتوسیت‌ها و گرانولوسیت‌ها
- تعیین شاخص‌های تغذیه حشره تحت تأثیر غلظت زیرکشنده عصاره‌های گیاهی
- تعیین فعالیت آنزیم فنل اکسیداز تحت تأثیر غلظت زیرکشنده عصاره‌های گیاهی

فصل دوم

بررسی منابع

۱-۲- آفات انباری

در بین عوامل خسارت‌زا، بندپایان به دلیل داشتن تنوع و فراوانی بالا به‌عنوان یکی از مشکلات جدی محصولات انباری به شمار می‌روند (Hagstrum *et al*, 2012). برطبق گزارش‌ها بیش از ۷۰۰ گونه از سخت بال‌پوشان، ۷۰ گونه از بال پولک‌داران و ۳۳۵ گونه کنه آفت مرتبط با محصولات کشاورزی انبار شده وجود دارد (Rajendran, 2005). این تعداد گونه آفت همراه با مهیا بودن شرایط محیطی انبارها برای فعالیت، محققین مرتبط با صنعت انبارداری و حفاظت از محصولات کشاورزی را برای تأمین امنیت غذایی به‌واسطه اتخاذ راهکارهای مناسب در برابر هجوم تکثیر آفات به چالش جدی می‌کشد (Bagheri Zenouz, 2013). خسارت ناشی از بندپایان عمدتاً به‌صورت کمی (از دست رفتن بخش از محصول)، کیفی (کاهش مرغوبیت ناشی از تغییر رنگ، ترکیب شیمیایی، بو و مزه) و بهداشتی (ایجاد بیماری در اثر مصرف) می‌باشد (Kumar, 2017).

۲-۲- خسارت آفات انباری

خسارت آفات انباری به‌صورت مستقیم شامل از دست رفتن وزن دانه، کاهش بازارپسندی، آلودگی بهداشتی و غیرمستقیم شامل افزایش مقاومت به آفت‌کش‌ها، ایجاد پدیده خود گرمایی در انبارها و تسهیل ورود عوامل خسارت‌زای ثانویه مثل باکتری‌ها و آفات توکسین است (Rajapakse, 2006). خسارت سالیانه آفات انباری غلات در آمریکا حدود ۵۰۰ میلیون دلار و در کشورهای توسعه نیافته آفریقایی حدود ۴ میلیارد دلار گزارش شده است (FAO, 2013). برای مثال سوسک پوست و چرم *Dermestes maculatus* گونه‌ای پلی‌فاژ (همه‌چیزخوار) می‌باشد، که علاوه بر تغذیه از حبوبات، از آفات جدی چرم و لبنیات است و علاوه بر خسارت کمی و کیفی، به دلیل وجود باکتری عامل بیماری سیاه‌زخم *Bacillus anthracis* در مدفوع این حشره با ایجاد بیماری سیاه‌زخم، خسارت بهداشتی نیز وارد کند (Venter *et al*, 2017). از دیگر خسارات بهداشتی آفات انباری می‌توان به ابتلا به بیماری‌های مجاری

تنفسی ناشی از تنفس هوای آلوده (آسم و رینیتیت) و آلرژی‌های پوستی (درماتیت و اگزما) ناشی از در معرض قرار گرفتن فیزیکی با پوسته‌ها و مدفوع آفات در افرادی اشاره کرد که در انبارهای غلات آلوده به کنه‌ها و حشرات مشغول به کار هستند (Arlan and Platts-Mills, 2001; Hagstrum and Flinn, 2014). (2014 انواع خسارت آفات انباری به شرایط اقلیمی، منطقه زیستی، مقدار توسعه کشورها و شرایط نگهداری محصول بستگی دارد به‌طوری‌که به دلیل مستعد بودن شرایط برای فعالیت دائمی حشرات زیان‌آور در مناطق گرمسیری، خسارت آفات انباری در این مناطق بیشتر است (Khoobdel et al, 2011, Younesi, 2012).

۲-۳- استراتژی‌های کنترل آفات انباری

مدیریت آفات انباری بر مبنای ایجاد تعادل در هزینه‌های کنترل، حفظ بهداشت عمومی و کاهش خطرات حاصل از مصرف سموم شیمیایی برای محیط‌زیست صورت می‌پذیرد (Hagstrum and Flinn, 2014). برای کنترل بهتر آفات انباری شناخت دقیق تاکسونومی، بیولوژی و رفتارشناسی آفت ضروری می‌باشد. مهم‌ترین اجزای کنترل تلفیقی آفات انبارهای غلات و حبوبات شامل روش‌های پیشگیری و بهداشت (نمونه برداری و کنترل آفات قرنطینه‌ای، مهندسی ساختمان انبار، بهداشت انبار و بذری)، کنترل فیزیکی (هوادهی یا کنترل حرارتی، نور و صدا، پودرهای خنثی و کاربرد امواج الکترومغناطیسی)، کاربرد آفت‌کش‌ها (حشره‌کش‌های عمومی، آئروسول‌ها، ترکیبات تدخینی یا گازی و حشره‌کش‌های بایورشنال آفت‌کش‌های گیاهی، ترکیبات ضد تغذیه‌ای، فرمون‌های جنسی، ترکیبات دورکننده و تنظیم‌کننده رشد حشرات) و کنترل بیولوژیک می‌باشند (Shankar and Abrol, 2012).

۲-۳-۱- مهندسی در احداث انبار، بهداشت در ذخیره‌سازی:

احداث انبارهای استاندارد، دینامیک و مهندسی شده مطابق با نوع محصول، می‌تواند به حفظ سلامت محصولات مختلف طی انبارداری کمک فراوانی نماید (Hernandez, 2015). معمولاً انبارهایی که برای

نگهداری چند ماه غلات و حبوبات به کار می‌روند، به سه صورت روباز (انبارهای شیروانی، چادری و خانگی)، نفوذناپذیر و مکانیزه (انبارهای استوانه‌های فلزی و بتنی) هستند. سیلوهای مکانیزه از نظر مصالح کاربردی به سه نوع بتنی (مخازن استوانه‌ای یک شکل به نام کندو) و فلزی (ساخته شده با ورقه های فولادی گالوانیزه) و سوله با ورق‌های پلی کربناته تقسیم می‌شوند. (Hernandez, 2015)

۲-۳-۲- هوادهی و کنترل حرارتی:

کاربرد جریان هوا در انبارهای مواد غذایی می‌تواند شرایط زیستی آفات را طوری تغییر دهد که منجر به کنترل بیوفیزیک جمعیت آن‌ها شود لذا یک ابزار کاربردی در انبار غلات می‌باشد (Arthur et al, 2000) گرمادهی و یا سرمادهی بر پایه پاسخ رشدی حشرات آفت به دما انتخاب می‌شود. حشرات به‌ترین رشد را در دامنه ۲۵ تا ۳۲ درجه سلسیوس دارند به همین علت فعالیت رشدی و تکثیر اکثر حشرات زیان‌آور انباری در دماهای بالا (۳۳-۳۵ درجه سلسیوس) یا پایین (۱۰-۲۴ درجه سلسیوس) کند می‌شود (Rees, 1996). با افزایش دما به بالاتر از ۳۵ درجه سلسیوس و کاهش آن به پایین‌تر از ۱۳ درجه سلسیوس مرگ‌ومیر آغاز می‌شود و در دامنه‌های بالا (۶۲-۵۰ درجه سلسیوس) و خیلی پایین (۲۳- تا ۱۵- درجه سلسیوس) همه مراحل زیستی در مدت کمتر از یک ساعت از بین می‌روند (Hagstrum, 2012). عدم به جا گذاشتن باقیمانده و عدم بروز مقاومت از مزایای این روش و گران بودن تجهیزات و احتمال آسیب به برخی محصولات از معایب آن می‌باشد (Hagstrum, 2012). کاربرد تلفیقی سرمادهی با حشره کش‌های نسل جدید مثل اسپینوساد برای کنترل آفات انباری اقتصادی غلات بسیار موثر گزارش شده است (Flinn, 2004). همچنین غلات سرمادهی شده در رطوبت بالاتر بهتر حفظ می‌شوند (Hagstrum, 2012).

۲-۳-۳- پودرهای خنثی و حفاظت کننده‌های بذری:

پودرهای همانند پودر کائولینت (خاک چینی) و خاک دیاتومه به دلیل ارزان و سالم بودن و دوره

حفاظتی بلند مدت برای حفاظت غلات، بقولات و دانه‌های روغنی در بسیاری از کشورها به‌تنهایی یا به‌صورت تلفیقی با مواد شیمیایی و بیولوژیک مورد استفاده قرار می‌گیرند (Korunić, 2013). مواد تولیدی توسط گیاهان و خاک‌های دیاتومه یکی از منابع بالقوه برای تولید آفت‌کش‌های جدید می‌باشند. این ترکیبات که برای موجودات زنده و محیط‌زیست سمیت کمتری دارند، می‌توانند به عنوان جایگزین-های برخی سموم بشمار آیند (Rajapakse, 2006).

برخی از مهم‌ترین فرمولاسیون‌های استاندارد خاک دیاتومه (Dri-Die®, Protect-It®, Dryacide®, Silicosec®, Insecto®, Celatome® DE) هستند که با غلظت یک میلی‌گرم خاک دیاتومه در یک کیلوگرم بذر برای کنترل آفات انباری غلات و حبوبات استفاده می‌شوند و اثر حفاظتی آن‌ها در برابر آفات ۶ تا ۱۲ ماه می‌باشد (Korunić, 2013).

۴-۳-۲- کاربرد امواج الکترومغناطیسی:

در بسیاری از کشورها سالانه به طور متوسط ۱۸۵۰۰۰ تن مواد غذایی به‌منظور آلودگی‌زدایی و ممانعت از شیوع بیماری‌های غذازاد و نیز آلودگی کالاها به آفات مضر و قرنطینه‌ای با استفاده از اشعه‌های یونیزه و غیر یونیزه پرتودهی می‌شوند (Hallman, 2013). در پرتودهی از اشعه‌های یونیزه ایکس و گاما با طول موج کوتاه و انرژی زیاد استفاده می‌کنند (Hallman, 2013). از جمله مزایای کاربرد اشعه ایکس می‌توان به سرعت تأثیر، روی غلات، مؤثر بودن روی آفات مقاوم به فسفین، عدم تأثیر سوء روی لایه ازون، عدم وابستگی به دمای محیط، نداشتن تأثیر روی گرمایش زمین و به‌جا نگذاشتن باقیمانده روی محصولات انباری اعم از غلات، حبوبات و سایر مواد غذایی اشاره کرد (Nagaraju, 2017). به دلیل در دسترس بودن لامپ‌های تولید فرابنفش، سهولت نصب و دامنه کاربرد این روش برای کنترل آفات در انبارها توصیه می‌شود.

۵-۳-۲- پیام‌رسان‌های شیمیایی:

پیام‌رسان‌های شیمیایی (سمیوکیکال‌ها) بر اساس ایجاد اختلال در رفتارهای عادی حشرات هدف عمل می‌نمایند و امروزه به‌عنوان یکی از تاکتیک‌های مهم مدیریت تلفیقی در کنترل انواع آفات کشاورزی، آفات انباری و قرنطینه‌ای دارای کاربردند (Cox, 2004; Saha et al, 2017). به‌طور کلی از این ترکیبات برای ردیابی حشرات، گزارش مقاومت به حشره‌کش‌ها، کنترل مستقیم آفات استفاده می‌شود (Saha et al, 2017; Cox, 2004). برای صید انبوه از تله‌های فرمونی جنسی سنتزی و تجاری شده (نر یا ماده) استفاده می‌شود. شرکت سازنده ممکن است برای افزایش کارایی جذب، این تله‌ها را به‌طور هم‌زمان به سایر مواد جلب‌کننده یا کشنده حشرات هدف (بوهای غذایی، طعمه مسموم) مجهز کند. هدف صید انبوه، جلوگیری از خسارت حشرات قبل از تغذیه و تخم‌ریزی می‌باشد (Saha et al, 2017). استفاده از این تکنیک در مناطق ایزوله و بسته مثل انبارها حداکثر کارایی را دارد در انبارهای غلات و حبوبات از این تکنیک برای جلب و کشتن بال پولک‌دارانی از قبیل بیدهای آرد *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera; Pyralidae) (هر دو با کاربرد فرمون جنسی ماده)، شب‌پره هندی و سخت‌بال‌پوشان فعال روی انواع غلات مانند سوسک توتون *Lasioderma serricorne* (Coleoptera; Anobiidae), F. شیشه آرد *Tribolium confusum* Duval (Coleoptera; Tenebrionidae), سرخرطومی *Sitophilus oryzae* (Coleoptera; Curculionidae) و شیشه دندانه‌دار غلات *Oryzaephilus surinamensis* L (Coleoptera; Cucujidae) استفاده شده است (Cox, 2004; Saha et al, 2017). دوام فرمون‌های جنسی بسته به گونه حشره طی ۶ تا ۲۶ هفته می‌باشد (El_Aziz, 2011). از جمله مزایای این (فرمون‌های جنسی برای جذب جنس مخالف هرگونه به‌صورت اختصاصی آن‌گونه طراحی می‌شوند)، نداشتن مشکلات سموم شیمیایی و مقرون‌به‌صرفه بودن اشاره کرد (Saha et al, 2017).

۶-۳-۲- کنترل شیمیایی:

حشره‌کش‌های شیمیایی اعم از ترکیبات پایریتروئید (پیرترین، دلتامترین+پایپرونیل بوتاکساید)، ارگانوفسفره‌ها (پیریمیفس متیل، دیکلرووس، فنیتروتیون و مالاتیون) به دلیل کنترل طیف وسیع آفات، ارزان بودن، دوام بالا، ایجاد مرگ‌ومیر بالا روی آفات، در انبار موردتوجه هستند (Agrafiotti and Athanassiou, 2018; Rumbos et al, 2018). گاز ازن (آلوتروپ اکسیژن) به دلایل نیمه‌عمر کوتاه، طبقه‌بندی به‌عنوان ترکیب سالم، غیرسمی بودن، عدم ترکیب‌شدن با سایر ترکیبات شیمیایی، نداشتن باقی‌ماندگی روی محصول و عدم نیاز به هوادهی بعد از کاربرد (Işıkbek et al, 2015)، باعث برتری آن نسبت به حشره‌کش‌های رایج شده است (El_Aziz, 2011) و ضمن نابودی آفات غلات روی تغییر حجم غله، اسیدهای آمینه و اسیدهای چرب گندم هم تأثیری ندارد (Xinyi et al, 2017).

۷-۳-۲- کنترل بیولوژیک:

کنترل بیولوژیک کاربرد ارگانسیم‌های زنده یا همان دشمنان طبیعی حشرات مثل پارازیتوئیدها، شکارگرها و انتوموپاتوژن‌ها یا بیمارگرهای حشرات علیه آفات برای کنترل جمعیت آن‌ها می‌باشد (van Lenteren et al, 2018) عوامل کنترل بیولوژیک به راحتی در انبار گسترش می‌یابند و به طور فعال به آفات انباری در توده غله حمله می‌کنند، از طرفی به آسانی با روش‌های معمول تمیز کردن غلات (مثل بوجاری) حذف می‌شوند (Hagstrum, 2012). این عوامل دارای مزایایی از قبیل سازگاری با محیط زیست، داشتن تخصص میزبانی، عدم تأثیر روی سایر گونه‌های غیر هدف از جمله انسان هستند که آن‌ها را تبدیل به عواملی بی‌خطر برای کاربرد در محصولات غذایی نموده است (Batta and Kavallieratos, 2018) از عوامل میکروبی می‌توان به باکتری گرم مثبت و خاکزی *Bacillus thuringiensis* یا Bt اشاره کرد که در بین آفتکش‌های زیستی بیشترین موفقیت را از نظر تجاری‌سازی

کسب کرده‌اند (Jurat-Fuentes, 2012) فرمولاسیون‌های تجاری ثبت شده قارچ‌های بیمارگر حشرات مثل *Green Guard* و *Green Muscle* حاوی ماده مؤثره *M. anisopliae* و *Naturalis L* ماده مؤثره *B. bassiana* به دلیل تخصص میزبانی هیچ‌گونه عوارض سویی روی گونه‌های غیر هدف نداشته و بنابراین از نظر کاربرد در محصولات غذایی انباری ایمن می‌باشند (Zimmermann, 2007).

۸-۳-۲- آفت‌کش‌های بایروشنال:

بایروشنال‌ها شامل مجموعه ترکیباتی جدید، مقرون به صرفه، سازگار با محیط زیست، غیرسمی برای پستانداران و با منشأ گیاهی یا میکروبی می‌باشند (Horowitz, 2009). بایروشنال‌ها شامل سه گروه حشره‌کش‌های بیوشیمیایی (ترکیبات گیاهی، تنظیم‌کننده‌های رشد حشرات، ترکیبات جلب‌کننده، ترکیبات دورکننده و ترکیبات ضد تغذیه‌ای یا مقاومت آنتی‌بیوزی)، گازهای اتمسفری (نیتروژن و دی اکسید کربن) و حشره‌کش‌های زیستی براساس ویروس‌ها، قارچ‌ها و باکتری‌های بیمارگر حشرات نظیر ترکیب تجاری دایپل، اسپینوساد و آورمکتین می‌باشند (Hagstrum, 2012). از جمله ترکیبات گیاهی که باعث کنترل مؤثر طیف وسیعی از آفات انباری می‌شوند و حتی نقش دورکنندگی آن‌ها نیز به اثبات رسیده است (Hagstrum, 2012) می‌توان به پیرترین، آزادیراختین (درخت چریش *Azadirachta indica*) و عصاره‌های گیاهی مختلف مانند اکالیپتوس *Eucalyptus camaldulensis* (Dehn) (Myrtales; Myrtaceae)، سیر *Allium sativum* (Asparagales; Alliaceae) دارچین *Salvia* (Laurales; Lauraceae) و روغن‌های گیاهی مثل روغن نیم و رزماری *Rosmarinus* (Lamiales; Lamiaceae) اشاره کرد که معمولاً سمیت کمی برای پستانداران داشته ولی به دلیل اینکه در برابر نور و هوا سریع شکسته می‌شوند، نیمه عمر کوتاهی دارند و این دوام کوتاه از اثر بخشی آن‌ها می‌کاهد (Khater, 2015; Khoobdel et al, 2017). امروزه توسعه و کاربرد فرمولاسیون‌های نانوکپسول بهینه شده از عصاره‌های گیاهی مثل رزماری برای مدیریت آفات انباری گندم نیز مورد توجه قرار گرفته است (Khoobdel et al, 2017). کاربرد ارقام مقاوم گیاهی به حشرات

گیاه‌خوار به ویژه آفات انباری، براساس مکانیسم مقاومت آنتی‌بیوزی (ضد زیستی) یکی از روش‌های بایروشنال می‌باشد که در اینجا متابولیت‌های ثانوی گیاهان باعث ایجاد اختلال در رشد و نمو آفات می‌شوند (Smith, 2005; Tabadkani, 2017) در این راستا امروزه برای کاهش مصرف سموم، کاربرد تلفیقی ارقام مقاوم و غلظت‌های زیرکشدگی آفتکش‌های شیمیایی و گیاهی مورد توجه واقع شده‌اند (Tabadkani, 2017). ترکیبات گیاهی تنظیم کننده‌های رشد حشرات (Insect growth regulators) کاملاً انتخابی عمل کرده و از طریق ایجاد اختلال در سیستم غدد درون ریز و روند رشد و نمو حشرات، باعث مرگ آن‌ها می‌شوند (Mondal and Parween, 2000). آفت‌کش متاپرن، یکی از این ترکیبات می‌باشد که با کنترل مؤثر سوسک‌ها و پروانه‌ها، کاربرد وسیعی در انبارهای غلات، حبوبات و مواد غذایی دارد (Scheff, 2018). گاهی اوقات به منظور کنترل انواع شپشه آرد و پروانه بیدآرد، در صنعت بسته‌بندی پلیمرهای پلاستیکی را به این ترکیب آغشته می‌کنند (Scheff, et al, 2018; Scheff, 2017). در مدیریت آفات انباری استفاده از غلظت‌های کشنده گازهای اتمسفری (نیتروژن و دی اکسیدکربن) به‌عنوان یک روش جایگزین برای فومیگانت‌های شیمیایی می‌باشند (Phillips, 2010; Sadeghi et al, 2014). از آفت‌کش‌های بایورشنال (مثل اسپینوساد، تیمتوکسام، ایمیداکلوپرید و ایندوکساکارب) می‌توان در مدیریت حشرات انباری ناقل قارچ *Aspergillus parasiticus* (عامل آفلاتوکسین‌های سرطان‌زا) استفاده کرد (Khan et al, 2016) هیچ‌گاه کاربرد یک ترکیب بایروشنال به تنهایی و برای طولانی مدت توصیه نمی‌شود چرا که تحت فشار سم‌پاشی احتمال بروز مقاومت افزایش می‌یابد. همان‌گونه که مقاومت به برخی تنظیم کننده‌های رشد حشرات گزارش شده است (Daglish et al, 2013). لذا بهتر است روش‌های کنترل به‌صورت تناوبی و تلفیقی با یکدیگر به کار گرفته شوند.

۴-۲- ترکیبات گیاهی:

استفاده از ترکیبات گیاهی برای کنترل آفات انباری در آسیا و آفریقا از زمان‌های قدیم متداول بوده است. مشتقات گیاهی در مقایسه با سموم شیمیایی مصنوعی در برابر نور آفتاب، رطوبت هوا و همچنین

آنزیم‌های تجزیه‌کننده زودتر از بین می‌روند و این به معنی کاهش پایداری و تقلیل خطر برای موجودات غیر هدف است (Guleria and Tiku, 2009)؛ بنابراین، عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی ضمن کم‌خطر بودن برای انسان، پستانداران و طبیعت، اغلب به‌عنوان جایگزین‌های مناسبی برای ترکیبات شیمیایی پیشنهاد می‌شوند (Gaire et al, 2017; Zha et al, 2018).

سال‌هاست که استفاده از عصاره‌های گیاهی و گیاه‌درمانی برای انسان شناخته شده است. اثرات اصلی گیاهان دارویی، ناشی از عصاره‌های موجود در آن‌ها است که عمده‌ترین آن‌ها، ترپن‌ها و فنیل پروپن‌ها می‌باشند. عصاره‌های گیاهی ترکیبات فراری هستند که بعد از تبخیر، عصاره‌گیری و به دنبال عرق‌گیری استخراج می‌گردند. بعد از جداسازی ترکیبات آروماتیکی گیاه، به مخلوط ترکیبات خوش‌بو و فرار باقی مانده، عصاره‌های گیاهی اطلاق می‌گردد که عمدتاً شامل روغن‌های فرار می‌باشد (Lee, Everst, 2004). Beynen گیاهان دارویی حاوی ترکیبات ثانویه وسیعی هستند که اغلب دارای فعالیت زیستی مهمی هستند و از آنجایی که عصاره‌های گیاهی به طور وسیعی در صنایع دارویی، غذایی و بهداشتی مورد استفاده قرار می‌گیرند و روش‌های سنتی مانند روش خیساندن که سال‌ها مورد استفاده قرار می‌گرفته است، بسیار زمان‌بر بوده و مقدار زیادی حلال مصرف می‌کند (Castro and Garcia Ayuso, 1998) در نتیجه اولین مرحله کلیدی در استخراج ترکیبات مؤثره از یک گیاه نحوه عصاره‌گیری از آن است. چرا که نوع ترکیب استخراج شده، کیفیت و کمیت آن به شدت تحت تأثیر اندام گیاهی و سیستم‌های حلالی انتخاب شده قرار دارد. در نتیجه باید گفت انتخاب روش مناسب عصاره‌گیری می‌تواند کارایی استخراج مواد مؤثره موجود در گیاه را به طور چشمگیری افزایش دهد (Saboora et al, 2014). نظریه استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی به‌عنوان بازدارنده‌های تغذیه به دهه‌های ۱۹۷۰ و ۱۹۸۰ برمی‌گردد. در این دوران عصاره بذر درخت نیم با عنوان آزادی راختین به مقدار وسیعی برای کنترل آفات مختلف بکار گرفته می‌شد (Immaraju, 1998) در حال حاضر، مواد گیاهی به‌ویژه روغن‌ها، اسانس‌ها و عصاره‌ها به‌عنوان ترکیبات جایگزین برای سموم دفع آفات مورد توجه ویژه قرار گرفته‌اند. توانایی روغن‌ها در کنترل آفات فرآورده‌های ذخیره شده، به دلیل کمبود سمیت برای پستانداران و

مشخصات محیطی سالم، توجه بسیاری را به خود جلب کرده است (Isman, 2000) به‌طور کلی متابولیت‌های گیاهی در گیاهان مختلف در طول متابولیسم و در پاسخ به تنش‌های محیطی تولید می‌شوند (Rice and Coats, 1994). ترکیبات موجود در عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهان، مخلوطی از مونوترپنوئیدها با گروه‌های مختلف مانند فنل، کتون، هیدروکربن، اسید و... هستند و آلوکمیkal‌ها به روش‌های مختلف حشرات را تحت تأثیر قرار می‌دهند. ترکیبات گیاهی یکی از آلترناتیوهای مناسب برای این امر خواهد بود. بیشتر این مواد مانند آکالوئیدها، پلی‌فنل‌ها، ترپن‌ها، ایزوپرنوئیدها و سیانوزنیک‌ها به‌عنوان متابولیت‌های ثانویه طبقه‌بندی می‌شوند (Regnault_Roger, 1997). ثابت شده که این ترکیبات معمولاً روی رشد و تولیدمثل و بقای حشرات تأثیر داشته و اغلب به طور بالقوه ظرفیت حشره‌کشی دارند و می‌توانند علیه آفات کشاورزی به کار گرفته شوند (Gaire et al, 2020). اثرات آفت‌کش‌های گیاهی بر روی آفات گسترده است و شامل طیفی از فرایندهای بیولوژیکی، مانند کاهش تغذیه، تأخیر در پوست‌اندازی، مرگ‌ومیر لاروها و شفیره‌ها و عقیم شدن حشرات کامل می‌باشد (Huang et al, 2010). برخی از آفت‌کش‌های گیاهی تخصصی عمل کرده و برای سایر موجودات زنده کم‌خطر یا بی‌خطرند (Rozman et al, 2007). مطالعات الکتروفیزیولوژی نیز نشان داده که ترکیبات گیاهی چنانچه به شکل تماسی و تدخینی استفاده شوند، روی سیستم عصبی حشرات تأثیر گذاشته و عملکرد این سیستم را مختل می‌کنند. به‌علاوه یکی از روش‌های مؤثر در کنترل آفات انباری، کاهش میزان تغذیه آن‌ها با مسموم ساختن رژیم غذایی آن‌ها است (Huang and Ho, 1998). در واقع غذای مسموم می‌تواند رشد و نمو حشره را دچار اختلال کرده و تا حدود زیادی بر میزان خسارت آن تأثیر بازدارندگی داشته باشد (توکلی و عجم حسنی، ۱۳۹۶). از طرف دیگر ثابت شده که متابولیت‌های گیاهی بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی حشرات مانند فعالیت آنزیم‌های گوارشی و سم‌زدا یا اجزای سامانه ایمنی آن‌ها به طور فاحشی تأثیرگذار است (Manjula et al, 2020).

گزارش‌های بسیاری از ترکیبات گیاهی به‌عنوان بازدارنده‌های تغذیه بسیار نتیجه‌بخش بوده و در پژوهش‌های متعدد مورد بررسی قرار گرفته است و گزارش‌های بسیاری از خاصیت حشره‌کشی،

دورکنندگی و اثرات ضد تغذیه‌ای و ضد تخم‌ریزی گیاهان متعلق به خانواده‌های مختلف گیاهی به ثبت رسیده است. تاکنون در تحقیقات مختلف، پتانسیل انواع اسانس‌های گیاهی روی تلفات حشرات کامل، (Ebnolelm *et al*, 2015; Ziaee *et al*, 2015; Bett *et al*, 2016, 2017; Khani *et al*, 2017) دارا بودن اثرات ضد تغذیه‌ای (Kovanic, 2016; Khani *et al*, 2017)، کاهش باروری (Kheirkhah *et al*, 2015; Kovanic, 2016) کاهش تفریح تخم‌ها (Pavela, 2012; Kheirkhah *et al*, 2015) دارا بودن اثرات دورکنندگی (Bett *et al*, 2016; Malacrino *et al*, 2016; Khani *et al*, 2017) و اثرات لاروکشی (Dhen *et al*, 2014; Khani *et al*, 2017) نشان داده شده‌اند.

در این زمینه، هانگ و همکاران (۱۹۹۷) اثرات سمی و ضد تغذیه‌ای اسانس جوز هندی علیه شیشه ذرت (*Sitophilus zeamais* Motsch (Coleoptera; Curculionidae) و شیشه قرمز آرد (*Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera; Tenebrionidae) مورد مطالعه قرار دادند. همچنین فعالیت زیستی و ضد تغذیه‌ای روغن هل (*Elletaria cardamomum* (L.) Maton (Zingiberales; Zingiberaceae) علیه این دو گونه، توسط این محقق و همکارانش (۲۰۰۰) بررسی شده است و نتایج آن‌ها نشان داد که مطالعات بازدارندگی تغذیه‌ای روغن هل، هیچ اثر مهاری رشد یا بازدارندگی تغذیه‌ای روی بزرگسالان یا لاروهای شیشه قرمز آرد نداشته است. درحالی‌که این تیمار، موجب کاهش جزئی (۲۷ درصدی) تمام شاخص‌های تغذیه‌ای بالغین شیشه ذرت شد. بررسی‌های انجام شده مرتبط با تأثیر اسانس گیاه اویارسلام (*Cyperus rotunds* (Poales; Cyperaceae) علیه تخم‌ها و لاروهای سن چهارم پشه ببری (*Aedes albopictus* Skuse (Diptera; Culicidae) نشان داد که اسانس این گیاه می‌تواند به‌عنوان یک عامل طبیعی برای کنترل پشه‌ها مدنظر قرار گیرد (Kempraj and Bhat, 2008).

همچنین فعالیت دورکنندگی اسانس اویارسلام علیه سوسری آلمانی (*Blattella germanica* Linnaeus (Blattodea; Blattellidae) نیز توسط (Liu *et al*, 2011) مورد مطالعه قرار گرفته است. در پژوهشی اثر ضد قارچی عصاره اتانولی گیاه فرفیون (*Euphorbia helioscopia* (Malpighiales; Euphorbiaceae) نیز به اثبات رسیده است (عبدالمالکی و همکاران، ۱۳۹۰). در

تحقیق (Silva et al, 2008) نیز نشان داد که عصاره کاکتوس افوربیا *Euphorbia cactus* (Malpighiales; Euphorbiaceae)، خاصیت حشره‌کشی مؤثری دارد. به‌طوری‌که باعث مرگ‌ومیر بیش از ۵۰ درصد جمعیت لارو حشرات و نرم‌تنان مزارع کشاورزی شده است.

از سوی دیگر، مطالعات نشان داده است که عصاره گیاه بومادران *Achillea millefolium* (Asterales; Asteraceae)، دارای خاصیت ضد تغذیه‌ای روی لارو سوسک کلرادوی سیب‌زمینی *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera; Chrysomelidae) می‌باشد (Alkan and Kara, 2015). به‌علاوه اثر سمیت تنفسی اسانس بومادران روی آفات انباری به‌ویژه شپشه آرد نیز در نتایج تحقیقات به اثبات رسیده است (رفیعی کرهرودی و همکاران، ۱۳۸۹). اثربخشی زیستی روغن‌های گیاهان نعنای فلفلی *Mentha piperita* (Lamiales; Lamiaceae) زنجبیل *Zingiber officinale* (Zingiberales; Zingiberaceae)، آمله *Phyllanthusemblica* (Malpighiales; Phyllanthaceae) دارچین، اکالیپتوس، علف لیمو *Cymbopogon citratus* (Poales; Poaceae)، نعنای هندی *Pogastemon cablin* (Lamiales; Lamiaceae)، علف وتیور *Vetiver zizanioides* (Poales; Poaceae) و زردچوبه *Curcuma longa* (Zingiberales; Zingiberaceae) و فعالیت لارو‌کشی آن‌ها در برابر کرم برگ‌خوار پنبه *Spodoptera alittoralis* (Lepidoptera; Noctuidae)، مگس‌خانگی *Musca domestica* (Diptera; Muscidae)، سوسک کلرادوی سیب‌زمینی و *Bovicola ocellatus* توسط (Isman, 2000; Rice and Coats, 1994; Sajervora et al, 2009; Pavela, 2006 and 2005; Kumar, 2011; Talbot and Val, 2012) نیز مورد بررسی قرار گرفته است. در آزمایش Karaborku (2012) نیز، اثر سمیت روغن‌های مرزنجوش *Origanum majorana* (Lamiales; Lamiaceae) و لیمو *Citrus limon* L. (Spainales; Rutaceae) بر پروانه آرد مدیترانه‌ای *Anagasta kuehniella* Zell (Lepidoptera; Pyralidae) مشخص شد. همچنین در آزمایش قاسمی و همکاران (۲۰۱۳) نیز سمیت روغن گیاه شیشه‌شور مجنون *Callistemon viminalis* (Sol.ex Gaertn.) G. Don (Myrtales; Myrtaceae) بر کشندگی آفت لمبه‌گندم *Trogoderma castaneum* (G. Don) (Myrtales; Myrtaceae) بررسی شد.

Ferula gummosa (Apiales;Apiaceae) و سمیت روغن گیاه باریجه (Coleoptera;Dermestidae)

بر کشندگی لاروهای پروانه بید آرد، به اثبات رسیده است.

اثر لارو کشی و دورکنندگی اسانس گیاه رزماری روی بید سیب زمینی *Phthorimaea operculella*

Artemisia adamsii (Lepidoptera;Gelechiidae)، دورکنندگی و کشندگی درمنه

Mentha spicata (Asterales;Asteraceae) روی شب پره بیدآرد، کشندگی عصاره نعناع

(Lamiales;Lamiaceae) و پونه *Mentha puleginm* (Lamiales;Lamiaceae) روی لمبه گندم، اثر

ضد تخم ریزی عصاره چوب ابریشمی *Chloroxylon swietenia* (Sapindales;Rutaceae) و اثر ضد

تغذیه ای اسانس مرکبات *Citrus aurantiifolia* (Sapindales;Rataceae) بر روی پروانه برگ خوار

Spodoptera litura (Lepidoptera;Noctuidae) نیز در تحقیقات مشخص شده است (Kiran et al,

2016, Samir et al, 2018; Rafiei et al, 2011; Heydarzadeh et al, 2019; Bouzeraa et al,

2019) بررسی تأثیر عصاره دو گیاه علف داسی *Falcaria vulgaris* Bernh (Apiales;Apiaceae) و

کرفس *Apium graveolens* L (Apiales;Apiaceae) از تیره چتریان، بر چند ویژگی زیستی بید

سیب زمینی، (Zeller, 1873) مورد بررسی قرار گرفت نتایج نشان داد که عصاره های هگزانی و اتیل

استاتی گیاه علف داسی اثر تخم کشی خوبی نسبت به سایر عصاره ها داشت. (Hatami et al, 2020)

تأثیر عصاره های اتانولی گیاه آویشن *Thymus vulgaris* L. (Lamiales;Lamiaceae)، رزماری،

کرچک *Ricinus communis* L. (Malpghiales;Euphorbiaceae) و تلخه بیان *Sophora*

Agonosцена روی سن پنجم پورگی پسیل معمولی پسته *alopecuriodes* (Fabales;Leguminasae)

pistaciae Burkhardt and Lauterer (Hemiptera: Aphalaridae) ارزیابی شد که نتایج نشان داد

عصاره گیاه تلخه بیان در مقایسه با سایر عصاره ها روی آفت مؤثرتر است و می تواند به عنوان گزینه

پیشنهادی از میان عصاره های بررسی شده برای کنترل این آفت بررسی شود (Samih et al, 2018).

عصاره چهار گیاه دارویی شامل: اکالیپتوس، بادرنجبویه *Melissa officinalis* L

(Lamiales;Lamiaceae)، چوبک برگدار *Acanthophyllum bracteatum* Boiss

(Caryophyllales;Caryophyllaceae) و گلپر (*Heracleum persicum* Desf (Apiales;Apiaceae) بر روی بید سیبزمینی مورد مطالعه قرار گرفت که نتایج حاصل از آن نشان داد هر چهار عصاره سبب کاهش میزان تخم‌ریزی گشتند و نیز در بررسی اثرات تدخینی عصاره‌های گیاهان مورد بررسی هیچ تفاوت معنی‌داری بین این عصاره‌ها و شاهد مشاهده نشد؛ لذا نتیجه‌گیری شد که هیچ‌کدام از عصاره‌های گیاهی مورد مطالعه روی بید سیبزمینی خاصیت تدخینی ندارند؛ بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که عصاره‌های اکالیپتوس و گلپر به دلیل اثرات کنترل‌کنندگی مناسبی که روی بید سیبزمینی دارند، می‌توانند در کنترل تلفیقی این آفت مورد استفاده قرار گیرند (Nouri Ganbalani et al, 2020). در بررسی دیگری اثر صمغ بنه (*Pistacia atlantica* (Sapindales;Anacardiaceae) بر بید سیبزمینی، صورت گرفت که نتایج حاصل از سمیت دورکنندگی نشان داد اثر دورکنندگی اسانس صمغ بنه در لارو سن اول بیشتر از سن پنجم بود، و اثر آن با افزایش زمان کاهش یافت. نتایج به‌دست‌آمده کارایی اسانس صمغ بنه را در روی مراحل زیستی آفات بسیار مهم بید سیبزمینی را به اثبات رساند و نوید بخش آینده روشنی برای کنترل این آفت در انبارها می‌باشد (Fathi et al, 2020).

۵-۲- مطالعات انجام شده در زمینه بررسی عصاره‌ها و اسانس‌های

گیاهی بر سامانه ایمنی و شاخص‌های تغذیه‌ای

تحقیقات نشان‌دهنده تأثیر بالای ترکیبات گیاهی بر واکنش ایمنی حشرات می‌باشد چنانچه در آزمایش کرم ساقه خوار ذرت (*Sesamia cretica* Ledever (Lepidoptera;Noctuidae) که با عصاره گیاه کما تیمار شده بود، پس از ۴۸ ساعت، افزایش معنی‌دار در گرانولو سیت‌ها و پلا سموتو سیت‌های همولنف لاروهای این آفت مشاهده شد (Sadeghi et al, 2017). افزایش معنی‌دار تعداد گرانولوسیت‌ها در لاروهای برگ‌خوار پنبه تیمار شده با عصاره گیاه دارویی اگیرترکی (*Acorus calmus* (Acorales;Acoraceae) نیز گزارش شده است (Sharma et al, 2008). در نتایج آزمایش Sharma و

همکاران (۲۰۰۳)، لاروهای برگ‌خوار پنبه ۲۴ ساعت پس از تیمار شدن با آزادیراختین، واکنش ایمنی را با افزایش معنی‌دار تعداد کل هموسیت‌ها نشان دادند. افزودن ترکیبات گیاهی مانیوک، *Manihot esculenta* (Malpighiales; Euphorbiaceae) به رژیم غذایی لارو برگ‌خوار پنبه سبب افزایش بارز گرانولوسیت‌ها و پلاسموتوسیت‌ها در ساعات اولیه ورود به همولنف شد (Manjula et al, 2020). در نتایج تحقیقات همین محقق افزودن ترکیبات گیاه کاساوا به رژیم غذایی لارو برگ‌خوار پنبه سبب افزایش بارز گرانولوسیت‌ها و پلاسموتوسیت‌ها در ساعات اولیه ورود به همولنف شد.

در مطالعه‌ای دیگر، زمانی که لاروهای پروانه ابریشم *Samia cynthia* (Lepidoptera; Saturniidae) از برگ‌های گیاه کاساوا تغذیه کردند، تعداد کل سلول‌های خونی آن‌ها در مقایسه با لاروهای تغذیه کرده از رژیم غذایی مصنوعی، افزایش یافت (Tungjitwitayakul and Tatun, 2017). تیمار لاروهای کرم ابریشم موگا *Antheraea assama* (Lepidoptera; Saturniidae) با عصاره گیاهان ریحان *Ocimum sanctum* (Lamiales; Lamiaceae) و گل ابری *Ageratum conyzoides* (Asterales; Asteraceae) سبب واکنش ایمنی بالای لاروها تا ۴۸ ساعت پس از تیماردهی شد (Khanikor and Bora, 2012). تأثیر تماسی و تنفسی عصاره گیاه باریجه بر ایمنی بید آرد، نتایج آن نشان داد که تعداد کل سلول‌ها باگذشت زمان ۴۸ ساعت، روند افزایشی پیدا کرد (قاسمی و همکاران، ۲۰۱۴). عجم حسنی (۲۰۲۱)، در پژوهشی اثر عصاره‌های گیاهان آنغوزه *Ferula assa-foetida* (Apiaceae; Apiales) و به‌لیمو *Aloysia citrodora* (Lamiales; Verbenaceae) را به شکل گوارشی روی لارو سن پنج بید آرد آزمایش کرد مشاهدات نشان داد که افزایش هوسیت‌ها در زمان‌های ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از تیماردهی معنی‌دار بود. در واقع روشن شد که روش تیمار عصاره‌های گیاهی (تماسی، تنفسی یا گوارشی) بر چگونگی پاسخ ایمنی حشره هدف، در ساعات مختلف تأثیرگذار بوده است.

تحقیقات Pandey و همکاران ۲۰۱۲ نشان داد که تیمار لارو پروانه لیمو *Papilio demoleus* (Lepidoptera; Papilionidae) با عصاره‌های برگ اکالیپتوس نیلی *Eucalyptus globulus*

Clove extract (Myrtales; Myrtaceae) Labill (Myrtales; Myrtaceae)، گل‌بری و عصاره میخک باعث کاهش قابل‌توجه ای در تعداد کل هموسیت‌ها (THC) شد. در مطالعه دیگری توسط قاسمی و همکاران ۲۰۱۴ ثابت شد که کاربرد موضعی کالیستمون و روغن باریجه منجر به کاهش شدید تعداد کل هموسیت لاروهای شب‌پره مدیترانه‌ای آرد شد.

در مقاله‌ای که توسط صادقی و همکاران ۲۰۱۷ منتشر شده است نشان داد که لارو کرم ساقه خوار ذرت توسط روغن اسانسی کما سبب کاهش کل هموسیت‌ها شد. اثر اسانس رزماری بر پروفایل آنزیمی پروانه برگ‌خوار توت *Glyphodes pyloalis* (Lepidoptera; Crambidae) و اثر گیاه کندواش *Eurygaster integriceps* بر سامانه ایمنی سن گندم *Artemisia annua* (Asterales; Asteraceae) E. (Hemiptera; Scutelleridae) نیز گزارش شده است (یزدانی و همکاران، ۲۰۱۳؛ زیبایی و همکاران، ۲۰۱۱).

یکی از بخش‌های مهم مطالعات مربوط به تغذیه آفات، ارزیابی شاخص‌های تغذیه‌ای آن‌ها است (Baghban et al, 2014) به‌طوری که در این زمینه، اثر اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی بر روی شاخص‌های تغذیه‌ای آفات نیز، توسط محققان مختلف مورد بررسی قرار گرفته است. کاهش معنی‌دار نرخ رشد نسبی و نرخ مصرف نسبی در حشرات مختلف بر اثر استفاده از اسانس‌های مختلف گیاهی در تعدادی از مطالعات، به اثبات رسیده است. (Sahaf and Moharramipour, 2008; Liu and Ho, 1999; Huang et al, 1997; Tripathi et al, 2002) کاهش نرخ رشد شیشه آرد توسط اسانس گیاه *Evodia rutaecarpa* Hook (Sapindales; Rutaceae) عموماً به علت امتناع حشره از تغذیه (بازدارندگی تغذیه) از غذای آغشته به اسانس این گیاه بوده و نیز به علت عدم تأثیر بر ECI، تغذیه عامل مؤثری در کاهش وزن این آفت نبوده است (Liu and Ho, 1999).

اثر عصاره اتانولی سه گیاه دارویی شاتره *Fumaria parviflora* Lamark (Papaverales; Fumariaceae)، شیرسگ *Euphorbia helioscopia* L (Malpighiales; Euphorbiaceae) و بومادران روی شاخص‌های تغذیه‌ای حشرات کامل شیشه آرد، بررسی شد. نتایج حاصل از آن نشان داد، عصاره

فرفیون مؤثرتر از سایر عصاره‌ها عمل کرده است. به طور یکه میانگین کل نرخ رشد نسبی، نرخ مصرف نسبی، کارایی تبدیل غذای خورده شده و شاخص بازدارندگی تغذیه این عصاره به ترتیب ۰/۲۶ میلی گرم/میلی گرم/روز، ۰/۵۶ میلی گرم/میلی گرم/روز، ۴۶/۴۰ درصد و ۴۳/۳۷ درصد می‌باشد. به نظر می‌رسد عصاره فرفیون در کنترل آفات انباری می‌تواند نقش قابل توجهی داشته باشد (Taghizadeh, 2018).

اسانس‌های سه گیاه دارویی مرزه *Satureja hortensis*، ترخون *Artemisia dracunculus*، آویشن باغی *Thymus vulgaris* و بر شاخص‌های تغذیه‌ای مراحل مختلف لاروی و حشرات کامل سوسک کلرادوی سیب‌زمینی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت اسانس هر سه گیاه مقادیر رشد نسبی، نرخ مصرف نسبی و کارایی غذای خورده شده کاهش می‌یابد که نمایانگر کاهش تمایل حشره برای تغذیه و به تبع آن کاهش رشد و نمو می‌باشد. همچنین با افزایش غلظت اسانس‌ها میزان بازدارندگی تغذیه‌ای افزایش یافت (نوری قنبلانی و همکاران، ۲۰۱۶). در تحقیقی اثر بازدارندگی تغذیه عصاره‌های دو گیاه دارویی خارشتر، *Alhagi maurorum* و زرشک، *Berberis thunbergii* روی حشرات کامل شپشه آرد مورد بررسی قرار گرفت (Taghizadeh et al, 2016) نتایج نشان داد که افزایش غلظت عصاره دو گیاه روی شاخص‌های تغذیه آفت به طور معنی‌دار مؤثر بوده است. عصاره خارشتر نرخ رشد نسبی، نرخ مصرف نسبی و کارایی تبدیل غذای خورده شده توسط شپشه آرد را به طور معنی‌دار بیش از عصاره زرشک کاهش داده است. محققین بیان می‌کنند که عصاره تاتوره *Datura stramonium* L. (Solanaceae) در غلظت‌های مختلف، اثر معنی‌داری روی شاخص‌های تغذیه‌ای و مرگ‌ومیر حشرات کامل شپشه آرد داشته است. این عصاره در غلظت‌های بالاتر به طور معنی‌داری موجب کاهش نرخ رشد و مصرف غذای حشرات کامل شپشه آرد شده است (Abbasipour et al, 2011).

۶-۲- انواع گیاهان مورد مطالعه در این تحقیق و تأثیر آن‌ها بر

حشرات

گیاهان مریم‌گلی و نعنای فلفلی از خانواده نعنائیان می‌باشند. از جمله ترکیبات مهم در گونه‌های این خانواده می‌توان به ترکیبات فنلی به‌ویژه فلاونوئیدها اشاره کرد (Kazemi et al, 2017). گیاه شیرین بیان از خانواده بقولات می‌باشد که ماده اصلی این گونه، ترکیب ساپونین تری ترپنوئیدی به نام اسید گلیسیریزیک یا گلیسیریزین با شیرینی ۳۰ تا ۵۰ برابر ساکارز است (خان احمدی و همکاران، ۱۳۹۲). گیاه زعفران از خانواده زنبقیان می‌باشد و دارای خاصیت آنتی اکسیدانی است و مهم‌ترین ترکیب این خانواده پلی فنولی است (احمدیان و همکاران، ۱۳۹۴).

۶-۲-۱- نعنای فلفلی:

نعنای فلفلی (*Metha piperita* L) با نام انگلیسی Peppermint گیاهی است علفی، چندساله، ریزوم‌دار و هیبرید ($2n=48$) متعلق به راسته Lamiales و خانواده Lamiaceae است (Doymaz, 2006). ترکیبات موجود در این گیاه دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی، قارچ‌کشی و حشره‌کشی می‌باشد (Yadegariani et al, 2006; Pavela, 2005; Iserin, 2001) نعنای فلفلی حاوی ترکیباتی چون منتول، منتون، استر، کاروتن، توکوفرول، بتائین، کولین و ترکیبات فلاونوئیدی می‌باشد (Murray, 1995). بر اساس نتایج به‌دست‌آمده از تحقیقات نوری قنبلانی و همکاران ۲۰۲۱، اسانس نعنای فلفلی در مقایسه با دو اسانس دیگر زیره سیاه *Bunium persicum* Boiss و دارچین، بیشترین بازدارندگی را روی تخم‌گذاری حشرات ماده بید غلات داشت که حاکی از قوی‌تر بودن اسانس این گیاه در دور کردن حشرات ماده بود. همین‌طور می‌توان به کار دیگر محققان از جمله بررسی اثرات زیستی اسانس ۱۴ گونه گیاهی روی شپشک آرد آلود پنبه (*Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hem.Pseudococcidae) در شرایط آزمایشگاهی اشاره کرد (Roozdar et al, 2019 and 2020). تأثیر بازدارندگی از تخم‌ریزی و

کشندگی اسانس‌های رزماری، نعنای فلفلی و اکالیپتوس و آویشن باغی، فرموله شده به صورت نانو و میکرومولسیون، روی سفید بالک پنبه (*Bemisia tabaci* Gennadius (Hemiptera; Alyrodidae) توسط (Bolandnazar et al, 2018) نشان داد که اسانس‌های فوق سبب بازدارندگی فعالیت تخم‌ریزی حشره می‌گردد.

از تحقیقات انجام شده در زمینه تأثیر عصاره نعنای فلفلی بر حشرات می‌توان به بررسی اثر حشره‌کشی سه اسانس آویشن دناپی (*Thymus daenensis* Celak (Lamiales; Lamiaceae)، نعنای فلفلی و پونه کوهی (*Origanum vulgare* (Lamiales; Lamiaceae) روی شته جالیز (*Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) که توسط Zamani et al., 2017 انجام شد اشاره کرد، نتایج نشان داد با افزایش غلظت، میزان مرگ‌ومیر افزایش پیدا می‌کند. در مطالعه (Saeidi and Mirfakhraie (2017)، غلظت‌های مختلف اسانس نعنای فلفلی در مدت ۱/۸۹ تا ۳/۲۹ ساعت در ۵۰٪ حشرات کامل سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات *Callosobruchus maculatus* F کشندگی ایجاد کردند.

تحقیقات (Saeidi and Hassanpor., 2014) درباره تأثیر عصاره‌های نعنای فلفلی و پونه کوهی بر شاخص تغذیه شب‌پره هندی نشان داد که نعنای فلفلی دارای تأثیر بازدارندگی بیشتری نسبت به پونه کوهی بود. در مطالعه Khani et al 2012 نیز اسانس نعنای فلفلی در مقایسه با اسانس فلفل سیاه *Piper nigrum* L سمیت بیشتری به حشرات کامل سرخرطومی برنج *Sitophilus oryzae* (Coleoptera; Curculionidae) و بید برنج *Corcyra cephalonica* St. نشان داد. Kumar et al., 2009 نیز گزارش کردند که اسانس نعنای فلفلی در سوسک چینی حبوبات، *Callosobruchus chinensis*، تأثیر بازدارندگی تخم‌گذاری داشت.

۲-۶-۲- مریم‌گلی:

مریم‌گلی (*Salvia officinalis*)، گیاهی است علفی، چندساله از خانواده نعنائیان است. جنس مریم‌گلی شامل حدود ۹۰۰ گونه بوده و جز بزرگ‌ترین جنس از خانواده نعنائیان (Lamiaceae) می‌باشد.

باشد. (Imanshahidi et al, 2006; Kuzma et al, 2006) مریم‌گلی دارای ترکیباتی چون اسیدهای چرب آلفا، کامفر، بورنئول، گلوبول، آلفا همولون، آلفا پینن، تانن، سالوین، ترکیبات فلاونوئیدی، گلیکوزیدها، رزین‌ها، رزمارینیک اسید و ترپن‌هایی چون کارنوزل، مانول می‌باشد. (Taarit et al, 2010) برخی از تحقیقات انجام شده در زمینه عصاره مریم‌گلی بر حشرات نشان از سمیت‌های تنفسی، دورکنندگی، ضد تغذیه‌ای و... است به طور مثال شاکرمی و همکاران، ۱۳۸۳ سمیت تنفسی و دورکنندگی مریم‌گلی را روی چهار گونه آفت انباری (شیشه گندم، شیشه آرد، شیشه برنج و سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات) مورد بررسی قرار دادند، نتایج نشان داد اسانس‌ها به طور معنی‌داری دارای خاصیت دورکنندگی بوده است. همچنین (Ganbalani et al., 2015) اجزای شیمیایی و سمیت دو اسانس گیاهی افسنطین *Artemisia Absinthium* L (Asterales; Asteraceae) و مریم‌گلی را علیه حشرات کامل سوسک قرمز آرد و *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera; Chrysomelidae) مورد بررسی قرار دادند، نتایج نشان داد اسانس‌ها دارای سمیت تماسی و تدخینی مناسبی بودند. اثرات اسانس گیاهان درمنه کوهی *Nepeta cataria* L. (Asteraceae) مریم‌گلی و نعناع گربه‌ای *Artemisia aucheri* Boiss (Lamiaceae) روی بازدارندگی تخم‌ریزی، تفریخ تخم و مرگ‌ومیر لاروهای سن اول سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات مورد بررسی قرار گرفت نتایج نشان داد، این اسانس‌ها به طور معنی‌داری موجب کاهش تخم‌ریزی آفت شدند (شاکرمی و همکاران، ۱۳۸۳).

بررسی‌های (Irfan et al., 2017) بر فعالیت حشره‌کشی برگ و گل مریم‌گلی در برابر حشره بالغ شپشک برنج *Sitophilus oryzae* L نشان داد که عصاره اتانولی و آبی برگ و گل مریم‌گلی تأثیر حشره‌کشی بالا داشته است.

۳-۶-۲- شیرین بیان:

شیرین بیان (*Glycyrrhiza glabra* L). از گیاهان دارویی تیره بقولات Fabaceae می‌باشد. اندام مورد مصرف آن ریشه و استولون است که دارای ترکیباتی مانند تری ترپن ساپونین‌ها، چالکون‌ها و ۳۰۰ نوع

فلاونوئید می‌باشد (جایمند و همکاران، ۱۳۸۱؛ حاجی مهدی‌پور و همکاران، ۱۳۸۷؛ نصیری اصل و همکاران، ۱۳۸۵). در برگ شیرین‌بیان نیز ترکیباتی از قبیل تانن کل، اسید تانیک، کاتچین و نیتروژن است (Chang et al., 2020) رفیعی دستجردی و همکاران ۲۰۱۳ عصاره ۵ درصد متانولی گیاهان شاه‌تره، شیرین‌بیان، اسطوخودوس و مرزنجوش را مورد آزمایش قرارداد. نتایج نشان داد که شیرین‌بیان دارای سمیت تنفسی بر لارو پروانه غده سیب‌زمینی *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae) بود.

بررسی‌های (Nazeefullah et al., 2017)، رقت‌های مختلف عصاره آب سرد گیاه افاقا *Acacia modesta* و شیرین‌بیان را در برابر سوسک قرمز آرد مورد آزمایش قرار دادند نتایج نشان داد رقت عصاره هر دو گیاه باعث مرگ‌ومیر سوسک قرمز آرد شد. همچنین نتایج بررسی‌های Mansoor-ul-Hasan et al., 2014 روی تأثیر عصاره‌های آزادیراختین هندی و شیرین‌بیان بر شپشک لوبیا *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae) نشان از تأثیر دورکنندگی این دو عصاره بر شپشک لوبیا بود. اثرات سم‌شناسی و بافت‌شناسی عصاره آبی ریشه شیرین‌بیان، در مگس میوه مدیترانه‌ای *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) تحت شرایط آزمایشگاهی نشان‌دهنده تأثیر حشره‌کشی علیه لاروهای کامل و شفیره مگس مدیترانه‌ای بود (NA Soliman and MAM El-Genaidy., 2021).

۴-۶-۲- زعفران

در ابتدا در مورد دلیل انتخاب این گیاه باید به زیاد بودن سطح زیر کشت این گیاه در استان اشاره کرد و همچنین گلبرگ‌های بنفش این گیاه دور ریخته می‌شود و به همین خاطر و همچنین عدم استفاده از این گیاه تاکنون در چنین مطالعاتی؛ تصمیم گرفته شده که این گیاه مورد استفاده قرار گیرد. زعفران گیاهی چندساله، متعلق به خانواده زنبقیان (Iridaceae) و راسته لیلیال‌ها (Liliales) است. (محمدیان و همکاران، ۱۳۹۵). گل زعفران اولین اندامی است که در اوایل پاییز ظاهر می‌شود و دارای

سه کلاله همراه با خامه است که پس از خشک کردن، زعفران تجاری را تشکیل می‌دهد (Khademi., 2011). از ترکیبات شیمیایی زعفران می‌توان: کربوهیدرات‌ها، مواد معدنی، موسیلاژها، ویتامین‌ها (به‌خصوص ریبوفلاوین)، رنگدانه‌ها (کروسین، آنتوسیانین، کاروتن، لیکوپن، زئازانتین)، اسانس ترپنی معطر (سافرانال) و مواد طعم دهنده (پیکروکروسین) را نام برد. زعفران به دلیل نیاز آبی کم، سهولت در کاشت، داشت و عملکرد مناسب از اهمیت اقتصادی بسزایی برخوردار است (Fernandez., 2004). عصاره کلاله و گلبرگ زعفران اثرات ضدالتهابی و ضد دردی در مدل‌های حیوانی از خود نشان داده‌اند (Hosseinzadeh and Younesi., 2002). با توجه به محدود بودن کشت زعفران به چند کشور دنیا در زمینه تعیین خواص آنتی‌اکسیدانی و شناسایی ترکیبات موجود در گلبرگ زعفران تاکنون تحقیقات زیادی صورت نگرفته است. نتایج مطالعات نشان می‌دهد که گلبرگ‌های جنس *Crocus* که زعفران نیز در آن گروه قرار دارد دارای ترکیبات فالونوئیدی، گلیکوزید و آنتوسیانین‌ها می‌باشند (Gil and Kaber., 2002; Omid et al., 2014).

فصل سوم

مواد و روش ها

آزمایش پیش رو در سال ۱۳۹۹-۱۴۰۰ و در آزمایشگاه گیاه پزشکی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود با هدف بررسی تأثیر عصاره گیاهان نعناع فلفلی، شیرین بیان، مریم گلی و زعفران بر پروفایل سلول‌های خونی و شاخص‌های تغذیه‌ای و مراحل مختلف زیستی شب پره هندی انجام شد.

۱-۳- پرورش حشرات

لارو شب پره هندی از کُشمش‌های بی‌دانه و پسته (که این دو محصول بیشترین میزان محصولات انبار شده در شهرستان را به خود اختصاص داده است) از شهرستان درگز جداسازی گردید. سپس بر روی غذای مصنوعی (پودر جوانه گندم ۴۰۰ گرم +عصاره مالت جو ۸۰ گرم +۵۰ میلی‌لیتر عسل +۵۰ میلی‌لیتر گلیسرول) (Ebrahimi and Ajamhassani., 2020) درون ظرفی با ابعاد (۱۰*۱۵*۲۵ سانتی‌متر) که درب آن دارای توری، جهت تبادل اکسیژن بود (شکل ۳-۱) قرار داده شدند. آنگاه در ژرمیناتور تنظیم شده با دمای 28 ± 1 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی $50 \pm 5\%$ و روشنایی و تاریکی ۱۶:۸ ساعت پرورش داده شدند. از لاروهای سن چهارم برای آزمایش‌های استفاده شد. برای مشخص نمودن سن لارو از طول بدن و عرض کپسول سر استفاده شد (Dayar.,1890).



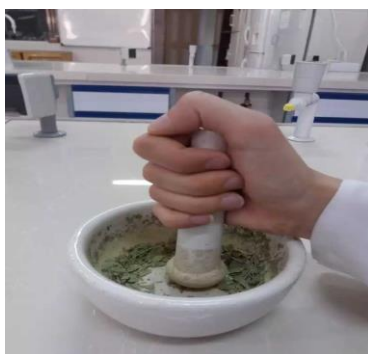
شکل ۳-۱- ظرف حاوی غذای مصنوعی (عکس اصلی)

۲-۳- مواد گیاهی

گیاهان مورد مطالعه نعناع فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران در این پژوهش، از زیستگاه‌های طبیعی آن‌ها در شهرستان درگز جمع‌آوری شدند. این گیاهان به طور طبیعی در دمای اتاق (۲۵-۲۳ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند، پس از یک هفته گیاهان خشک شده و از عصاره آن‌ها در آزمایشات استفاده شد. لازم به ذکر است که در سه گیاه مریم‌گلی، نعناع فلفلی و شیرین‌بیان از برگ استفاده شده و این در حالی بود که در مورد زعفران از گلبرگ‌های بنفش استفاده شد.

۳-۳- تهیه عصاره گیاهی

عصاره‌ها با استفاده از روش (Azimi, Delnavaz and Mansor., 2006) با کمی تغییر تهیه گردید. بدین صورت که مقدار ۲/۵ گرم از اندام هوایی آسیاب شده با ۵۰ میلی‌لیتر اتانول مخلوط گشته و درون بن ماری جوش (۹۵ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۴۰ دقیقه قرار داده شد (شکل ۳-۲). سپس با کاغذ صافی واتمن شماره یک صاف گردید و به‌منظور تبخیر آب (از اتانول خالص استفاده نگردید چرا که اتانول خالص خود دارای تأثیر بر سامانه ایمنی حشرات است.) و استحصال عصاره درون آون در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد و غلظت‌های موردنیاز تهیه و مورد آزمایش قرار گرفت.



شکل ۳-۲- آسیاب نمودن گیاهان

۳-۴- زیست‌سنجی

برای انجام زیست‌سنجی، غلظت‌های مختلف با آزمایش‌های ابتدایی از عصاره‌های گیاهان تهیه شدند. این غلظت‌ها جداگانه به غذای مصنوعی (پودر جوانه گندم ۴۰۰ گرم، پودر عصاره مالت جو ۸۰ گرم، گلیسرول ۵۰ میلی‌لیتر، عسل ۵۰ میلی‌لیتر) تیمار شدند. به این طریق که مقدار یک گرم از غذای مصنوعی در هر پتری قرار داده شد و سپس با استفاده از میکرو پیپت، مقدار ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره های گیاهان با غلظت‌های ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۵۰ و ۸۰ درصد به محتوی غذای مصنوعی هر پتری، اضافه گردید. با توجه به اینکه درون هر پتری یک عدد لارو سالم سن چهارم قرار داده شد، بنابراین برای هر غلظت از هر یک عصاره، تعداد ۴۰ پتری آماده شد که در واقع شامل ۴ گروه (تکرار) ۱۰ تایی بودند. همچنین تیمار شاهد نیز شامل پتری‌های غذای مصنوعی بود که به اتانول افزوده شد. سپس به لاروها اجازه داده شد که به مدت ۲۴ ساعت، از غذای آلوده تغذیه نمایند. سپس با محاسبه LC_{50} بررسی تلفات، دز زیرکشنده (غلظتی است که حدود ۲۵٪ سبب کشندگی در حشرات می‌گردد و بقیه حشرات باقی مانده دارای اثرات جانبی سم هستند) و دز کشندگی (غلظتی است که سبب مرگ و میر بالای ۵۰٪ حشرات می‌گردد) عصاره هر یک از گیاهان مورد مطالعه، تعیین گردید. برای انجام آزمایشات و ایمنی-شناسی نیز، از دز زیرکشنده استفاده شد. برای هر عصاره تعداد ۳ دز زیرکشنده انتخاب (۶، ۱۰ و ۲۰ درصد) و در آزمایشات ایمنی شناسی و شاخص تغذیه مورد استفاده قرار داده شد. محاسبه میزان سمیت عصاره‌ها نیز، با استفاده از نرم‌افزار POLOC-PC انجام شد.

۵-۳_ بررسی تأثیر عصاره‌های گیاهان مورد مطالعه بر تعداد کل،

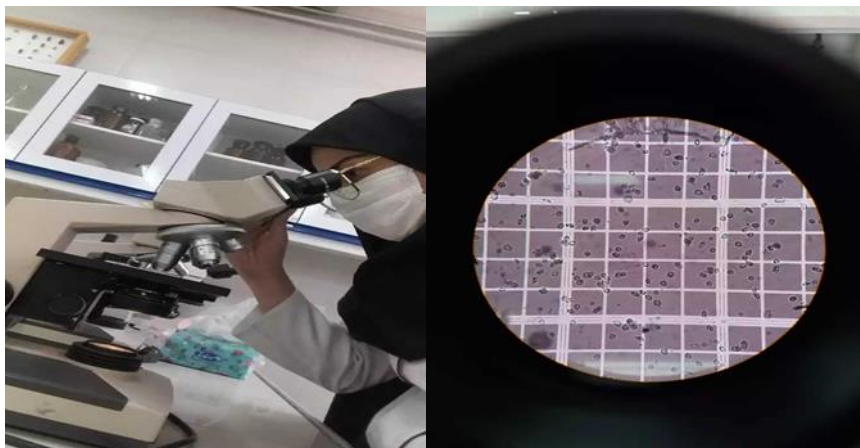
گرانولوسیت‌ها و پلاسموتوسیت‌ها در لاروهای سن چهارم شب-

پره هندی

جهت انجام این آزمایش پنج گرم غذای مصنوعی و هزار میکرولیتر عصاره (در غلظت‌های ۶، ۱۰ و ۲۰ درصد برای هر گیاه) به غذا درون پتری دیش اضافه گردید آنگاه تعداد ۵ لارو سن چهارم قرار داده شد که شامل چهار تکرار پنج‌تایی بود. به لاروها اجازه داده شد که مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت از غذای آلوده تغذیه کنند. پس از گذشت زمان مقرر تعداد کل هموسیت‌ها، تعداد گرانولوسیت‌ها، پلاسموتوسیت‌ها و اونوتوسیتوئیدهای هر تکرار شمارش و ثبت گردید. برای این امر ابتدا با اندازه‌گیری کپسول سر لارو سن چهارم با استفاده از کاغذ میلی‌متری شناسایی شد (محمود و یوسف، ۱۹۸۵). برای شمارش سلول‌های خونی، همولنف لاروهای سن چهارم جمع‌آوری شد. به جهت جمع‌آوری همولنف ابتدا یک پای کاذب به وسیله اسکالپل بریده شد. بر اساس ضرایب رقت محاسبه شده برای سن لاروی، همولنف لارو به وسیله میکرو پیپت جمع‌آوری گردید و با میزان معینی از بافر فیزیولوژیک رقیق شد. ماده ضد انعقاد به کاررفته در آزمایش محلول تایسون، (NaCl 72Mm, Na₂SO₄ 9Mm, Glycerol 43Mm, Methyl violet 0.03Mm, Distilled water) بود (Mahmood and Yosef, 1985). نسبت همولنف به میزان محلول تایسون (میکرولیتر) برای سن چهارم (۱:۲) بود. شمارش سلول‌های خونی با استفاده از لام نئوبار و بزرگ‌نمایی ۴۰ میکروسکوپ Olympus BH2 انجام شد (شکل ۳-۳). شمارش کل با محاسبه میانگین تعداد سلول‌های خونی موجود در ۵ خانه از لام نئوبار (هرکدام به ابعاد ۱ میلی‌متر مربع و عمق ۱۰) انجام شد (Jones, 1962):

$$\frac{\text{تعداد هموسیت ها} \times 1\text{mm}^2 \times \text{ضریب رقت} \times \text{عمق خانه های لام گلبول شمار}}{\text{تعداد خانه های شمارش شده از لام}}$$

آنگاه با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.4 تجزیه داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت و مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی در سطح یک درصد انجام شد.



شکل ۳-۳- شمارش سلول‌های خونی به وسیله میکروسکوپ نوری (عکس‌ها اصلی)

۳-۶_ بررسی عصاره‌های گیاهان نعناع فلفلی، مریم‌گلی،

شیرین‌بیان و زعفران بر شاخص تغذیه لارو سن چهارم شب‌پره

هندی:

برای انجام این آزمایش ابتدا به‌وسیله ترازوی حساس میزان دو گرم غذای مصنوعی برای هر پلیت وزن شد. پس از اتمام وزن نمودن غذاها، آنگاه برای هر غلظت ۴۰۰ میکرولیتر عصاره به پلیت‌های حاوی غذا اضافه گردید. دو عدد لارو سن چهارم که از قبل به‌وسیله ترازوی حساس، به طور جداگانه وزن شده بودند درون هر پتری قرار گرفت. در نمونه شاهد به پتری‌های حاوی دو گرم غذای مصنوعی به هر پتری میزان ۴۰۰ میکرولیتر اتانول اضافه شد آنگاه دو عدد لارو سن چهارم که قبلاً به وسیله ترازوی حساس وزن شده بودند به پتری‌ها اضافه شد. سپس پتری‌های حاوی غذا و لارو را در دستگاه ژرمیناتور با دما 28 ± 1 و رطوبت ۵۰٪ و دوره روشنایی و تاریکی ۱۶:۸ ساعته به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شد پس از گذشت زمان مدنظر دوباره لاروها و غذا به‌وسیله ترازو وزن گردید. محاسبات حاصله توسط روش

(Hunge et al, 2000) به صورت ذیل انجام گرفت:

نرخ رشد نسبی: $RGR = (A - B) / (B \times \text{Day})$;

A = وزن حشرات زنده در روز سوم بر حسب میلی گرم به ازای هر فرد.

B = وزن اولیه حشرات بر حسب میلی گرم به ازای هر فرد.

Day = مدت آزمایش (۲ روز)

نرخ مصرف نسبی:

$RCR = D / (B \times \text{Day})$

D = مقدار غذای خورده شده بر حسب میلی گرم به ازای هر فرد.

B = وزن اولیه حشرات بر حسب میلی گرم به ازای هر فرد.

کارایی تبدیل غذای خورده شده:

$ECI = (RGR / RCR) \times 100\%$

شاخص بازدارندگی تغذیه:

$FDI = [(C - T) / C] \times 100\%$

C = مقدار غذای خورده شده در هر شاهد (میلی گرم به ازای هر فرد).

T = مقدار غذای خورده شده در تیمار (میلی گرم به ازای هر فرد).

تجزیه داده توسط نرم افزار SAS 9.4 در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت و برای مقایسه میانگین

داده ها از آزمون دانکن استفاده شد.

۷-۳_ اندازه گیری فعالیت آنزیم فنل اکسیداز:

برای تعیین اثر عصاره های گیاهی بر روی فعالیت آنزیم فنل اکسیداز در لاروهای سن چهارم شب پره

هندی از روش هموسیت لایزیت استفاده گردید (Leonard, 1985). در این روش برای هر تیمار از ۳۰

عدد لارو سن چهارم، خون گیری انجام شد. خون گیری با کمک میکرو پیپت ۱۰ به میکروتیوب های ۱/۵

میلی لیتری منتقل شد. در طول انتقال همولنف به میکروتیوب‌ها، در رک میکروتیوب حاوی یخ قرار داده شدند تا از تجزیه آنزیم و هوازدگی همولنف جلوگیری به عمل آید. آنگاه میکروتیوب‌ها در دستگاه سانتریفوژ (Centrifuge 5810) در دمای چهار درجه سانتی‌گراد با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت پنج دقیقه سانتریفوژ شد. سپس ماده رو نشین حذف گردیده و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر بافر فسفات یک مولار (pH 7) به ماده ته‌نشین شده اضافه شد و همونیژه شدند. محلول به‌دست‌آمده دوباره در دستگاه سانتریفوژ در دمای چهار درجه سانتی‌گراد با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت پانزده دقیقه سانتریفوژ شدند و مایع رو نشین حاصل در برآوردهای آنزیمی مورد استفاده قرار گرفت. بدین منظور ۲ میکرولیتر از نمونه‌ها به ۵۰ میکرولیتر از محلول ۱۰ میلی‌مولار L-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) که سوبسترای اختصاصی آنزیم فنل اکسیداز می‌باشد و ۵۰ میکرولیتر بافر فسفات اضافه شد. سپس طول موج نمونه‌ها توسط دستگاه Elisa reader (ELx800) در طول موج ۴۹۰ نانومتر خوانده شد. این آزمایش در سه تکرار که هر تکرار شامل هموسیت ۳۰ عدد لارو سن چهار که با یکدیگر مخلوط شده بودند بود. تجزیه داده‌های مربوط به آزمایش تأثیر عصاره‌های گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بر فعالیت آنزیم فنل اکسیداز توسط نرم‌افزار SAS9.4 در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت و مقایسه میانگین نیز توسط آزمون دانکن انجام پذیرفت.

۸-۳_ بررسی غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بر خصوصیات زیستی شب‌پره هندی

برای این منظور در هر تیمار ۴۰ عدد لارو سن چهارم شب‌پره هندی مورد بررسی قرار گرفت. هر تیمار شامل ۴ تکرار و هر تکرار حاوی ۱۰ عدد لارو و یک گرم غذای مصنوعی و غلظت‌های ۶، ۱۰ و ۲۰ درصد عصاره‌های نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بود. پس از تیماردهی تأثیر غلظت‌های مختلف گیاهان مورد مطالعه بر طول دوره لاروی لارو سن چهارم، طول دوره شفیرگی، وزن شفیره‌ها و طول

عمر حشرات کامل مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی و با نرم افزار SAS9.4 و مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی و در سطح احتمال ۵٪ انجام گردید.

فصل چہارم

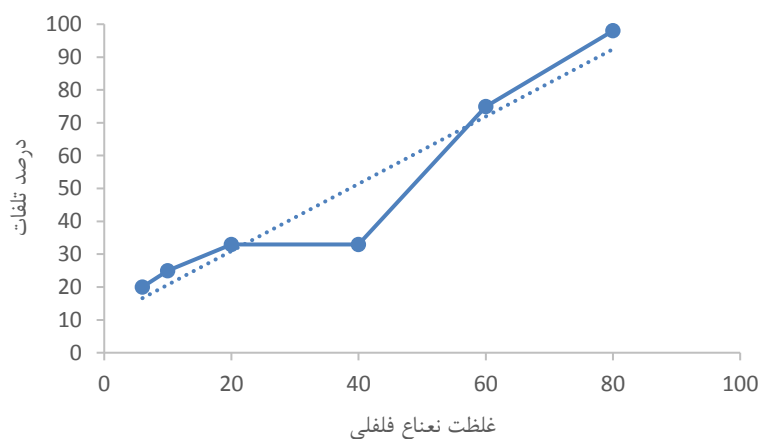
نتیجہ و بحث

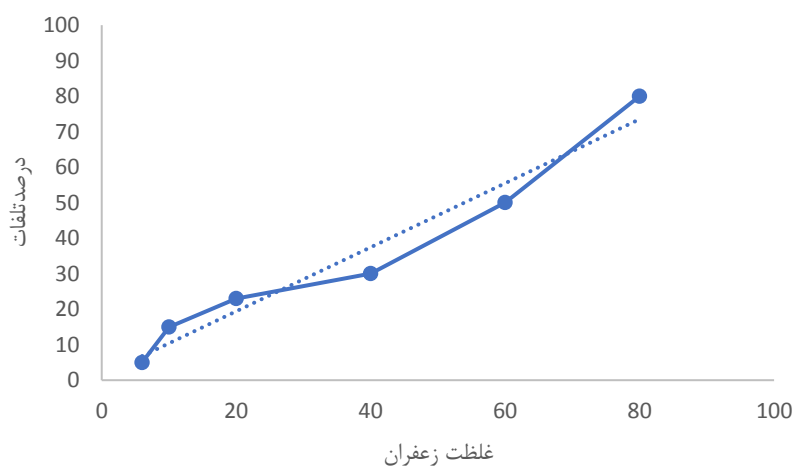
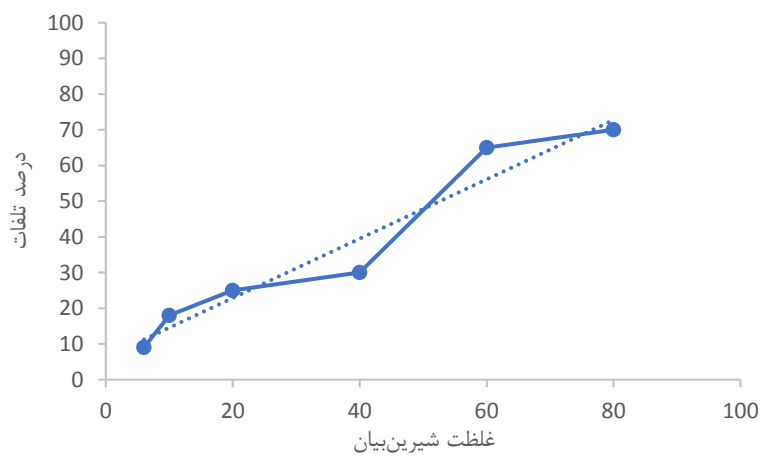
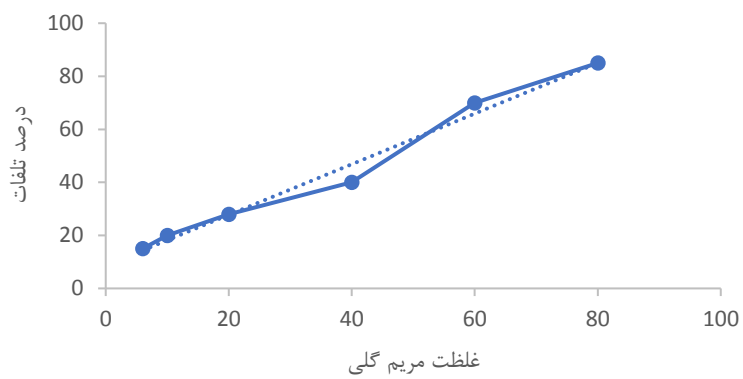
۴-۱- زیست‌سنجی

بر اساس نتایج تست زیست‌سنجی هر چهار عصاره گیاهی دارای تأثیر کشندگی بر لارو سن چهارم شب‌پره هندی بودند. LC₂₅ عصاره نعنای فلفلی کمتر از بقیه عصاره‌ها مشاهده شد که نشان‌دهنده سمیت بیشتر این ماده است (جدول ۴-۱). با افزایش غلظت عصاره‌ها، میزان تلفات لاروی در مدت ۲۴ ساعت افزایش داشت به طوری که غلظت ۸۰٪ عصاره هر چهار گیاه سبب مرگ و میر ۸۰-۹۸ درصدی لاروهای شب‌پره هندی شد (شکل ۴-۱). لازم به ذکر است که کاهش در غلظت ۴۰٪ احتمالاً به دلیل اثر دورکنندگی عصاره‌ها و عدم تغذیه حشره می‌باشد.

جدول ۴-۱ بررسی سمیت اتانولی عصاره‌های نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بر لارو سن چهارم شب‌پره هندی

نام گیاه	تعداد حشره	Chi- squar	Slope±Se	LC ₂₅
نعنای فلفلی	۲۴۰	۱/۲	۰/۰±۳۲/۰۵	۲۰-۳٪
مریم‌گلی	۲۴۰	۱/۴	۰/۰±۳۸/۰۴	۲۵-۶٪
شیرین‌بیان	۲۴۰	۰/۸	۰/۰±۴/۰۵	۳۰-۶٪
زعفران	۲۴۰	۰/۸	۰/۳۰۶/۰±	۲۸-۶٪





شکل ۴_۱- تأثیر غلظت‌های اتانولی عصاره‌های نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بر تلفات لارو سن چهارم شب‌پره هندی

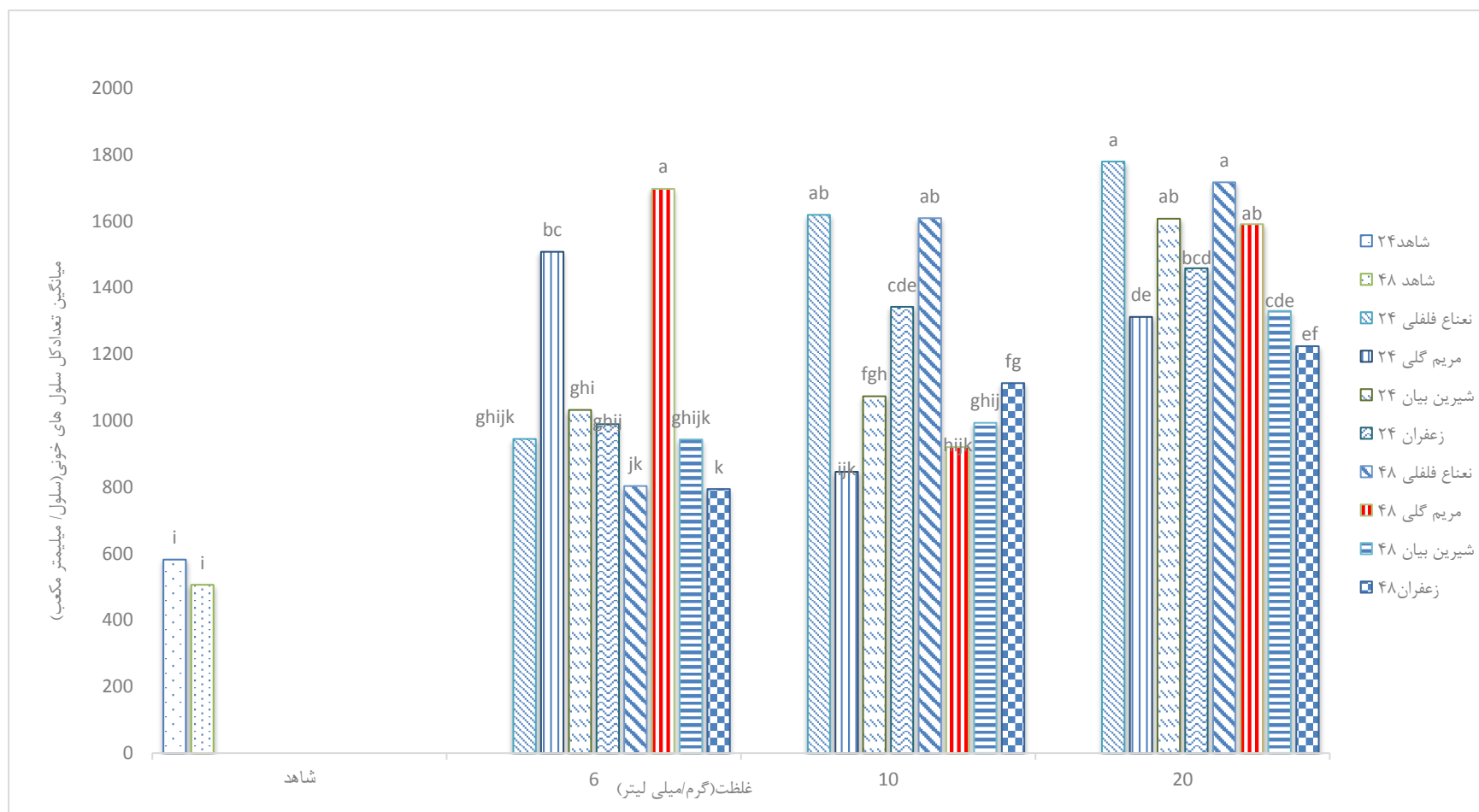
۴-۲- نتایج ایمنی‌شناسی

۴-۲-۱- تأثیر عصاره‌های گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و

زعفران بر تعداد کل سلول‌های خونی (Total Hemocyte Count)

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به آزمایش تأثیر عصاره‌های اتانولی گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بر کل سلول‌های خونی (THC) نشان داد ($F=23.60$; $d_{t,e} = 25,78$; $P < 0.0001$) تعداد کل سلول‌های خونی تیمارها با شاهد دارای تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ هستند (شکل ۴-۲).

براساس نتایج تیمار نعنای فلفلی با غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ درصد و شیرین‌بیان با غلظت ۲۰ درصد پس از ۲۴ ساعت سبب افزایش معنی‌دار تعداد کل سلول‌ها به ترتیب به مقدار $1619 \pm 51/02$ ، $1779 \pm 46/85$ و $1607 \pm 46/22$ عدد در میلی‌متر مکعب در خون حشره شدند و تیمار نعنای فلفلی با غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ درصد و مریم‌گلی با غلظت ۶ درصد پس از ۴۸ ساعت به ترتیب به مقدار $1609/4 \pm 54$ ، $1717/02$ و $1679 \pm 104/9$ عدد در میلی‌متر مکعب در خون حشره شدند و تیمار نعنای فلفلی با غلظت ۶ درصد و زعفران با غلظت ۶ درصد پس از ۴۸ ساعت کمترین افزایش تعداد کل سلول‌ها به ترتیب 794 ± 39 و $803 \pm 110/4$ عدد در میلی‌متر مکعب خون حشره شدند. به علاوه سایر تیمارها نیز همگی افزایش قابل توجهی در تعداد کل سلول‌ها نسبت به شاهد داشتند.



شکل ۴-۲- میانگین تعداد کل سلول‌های خونی لارو سن چهارم شب‌پره هندی تحت تأثیر تغذیه از غذای مصنوعی در غلظت‌های ۶، ۱۰، ۲۰ (گرم/میلی گرم) از گیاهان پس از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت

خاصیت حشره‌کشی اکثر اسانس‌های گیاهی مربوط به ترکیبات مونوترپنی آن‌ها می‌باشد. این ترکیبات به طور معمول، فرار و تا اندازه‌ای چربی‌دوست هستند. به همین دلیل، با سرعت به داخل بدن حشرات نفوذ کرده و با تأثیر بر سیستم عصبی، در فرایندهای فیزیولوژیکی و رفتاری آن‌ها مداخله می‌کنند (Saeidi and Mirfakhraie., 2017) در تحقیق صورت گرفته توسط (Sharma et al., 2003) نشان داد که لاروهای حشره *Sesamia litera* که با عصاره آزادیراختین تیمار شدند، پس از ۲۴ ساعت افزایش معنی‌دار تعداد کل هموسیت‌ها را نشان دادند. در مطالعه‌ای دیگر، زمانی که لاروهای پروانه برگ‌خوار (*Samia cynthia*) از برگ‌های کاساوا تغذیه کردند تعداد کل سلول‌های خونی آن‌ها در مقایسه با لاروهای تغذیه کرده از غذای مصنوعی افزایش یافت (Tungjitwitayakul and Tatun, 2017) نتایج حاصل از این تحقیق در ارتباط با عصاره‌های نعنای فلفلی، شیرین بیان و زعفران به لحاظ افزایش تعداد کل سلول‌های خونی در لاروهای تحت تیمار با نتایج فوق تطابق دارد. در تحقیقی تأثیر تماسی و تنفسی عصاره باریجه (*Ferula gummosa*) بر ایمنی بید آرد مورد بررسی قرار گرفت که نتایج نشان داد تعداد کل سلول‌ها باگذشت ۴۸ ساعت روند افزایشی پیدا کرد. (Ghasemi et al. 2014) به نظر می‌رسد که روش تیمار عصاره‌های گیاهی (تماسی، تدخینی و یا گوارشی) بر چگونگی پاسخ ایمنی حشره هدف در ساعات مختلف تأثیر می‌گذارد (Ajamhassani, 2021). از سوی دیگر نتایج برخی محققان نشان می‌دهد که در تنش‌ها تعداد سلول‌های خونی همیشه افزایش پیدا نمی‌کند و گاهی به خاطر منتقل شدن سلول‌ها و نیز تحلیل آن‌ها تعداد سلول‌های خونی کاهش می‌یابد (Pipe and Coles, 1995).

بر همین اساس می‌توان دلیل کاهش سلول‌های خونی را در غلظت ۱۰٪ و نیز ۲۰٪ مریم‌گلی نسبت به غلظت ۶٪ عصاره همین گیاه را توجیه نمود از سوی دیگر می‌توان سمیت ترکیبات گیاهان دارویی را بر کاهش ایمونوسیت‌ها مؤثر دانست چرا که سموم تولید شده از متابولیسم این گیاهان در سیستم گردش خون حشره هدف می‌تواند بر فعالیت و تقسیمات میتوزی هموسیت‌ها تأثیرگذار باشد و یا گاه با بلوکه کردن هموسیت، مانع فعالیت مثبت بیگانه‌خواری یا گره زایی آن در مقابل عامل بیگانه شود و به این ترتیب تعداد سلول‌ها و یا شکل ساختاری آن‌ها را تحت تأثیر خود قرار دهد (KhaniKor and

(Bora, 2012; Rahimi et al., 2019). بخش اعظم اسانس مریم‌گلی را ترکیب‌های سزکوئی ترپنی تشکیل می‌دهد (Izadi et al., 2010) و در گزارش Moghaddam et al., 2013 ترکیبات Menthone (۳۰/۶۳ درصد) و Menthol (۲۵/۱۶ درصد) اجزای اصلی اسانس نعنای فلفلی را تشکیل می‌دهد، گلبرگ‌های زعفران هم دارای ترکیبات فلاونوئید، گلیکوزید و آنتوسیانین‌ها می‌باشد (Omid et al., 2014; Giland Kaber, 2002) و ترکیبات اصلی در برگ شیرین‌بیان تانن و نیتروژن نیز می‌باشد (Chang et al., 2020). به نظر می‌رسد ترکیبات اصلی موجود در هر عصاره می‌تواند در نوسانات تعداد کل سلول‌ها، گرانولوسیت‌ها و پلاسموتوسیت‌های حشره تیمار شده مؤثر باشد. بر اساس مشاهدات این تحقیق لاروهای تیمار شده با عصاره‌های نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران نسبت به شاهد با افزایش و یا کاهش تعداد کل سلول‌ها در ساعات اولیه ورود به هموسل حشره روبه‌رو شده است. و در واقع نشان دهنده واکنش مثبت سامانه ایمنی حشره نسبت به عامل خارجی است. در همین راستا مطالعه تأثیر عصاره‌های آنگوزه و به‌لیمو بر سامانه ایمنی بید آرد نشان داد در همان ساعات اولیه پس از ورود عصاره‌ها به سیستم گردش خون حشره میزان کل سلول‌های خونی به طور چشمگیری افزایش پیدا می‌کند (Ajamhassani, 2021) که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. همچنین اثر اسانس ریحان مقدس، ریحان میخکی و گل ابری بر کرم ابریشم سبب افزایش تعداد کل سلول‌های خونی در ساعات اولیه شد (Khanikor and Bora, 2012). تیمار عصاره *A. annua* بر تعداد کل تأثیر گذاشت هموسیت‌های در حال گردش در همولنف، نشان می‌دهد که پاسخ می‌تواند به دلیل اثر سمی بر *E. integriceps* باشد (Zibae and Bandani., 2010).

۲-۲-۴- تأثیر عصاره‌های گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بر

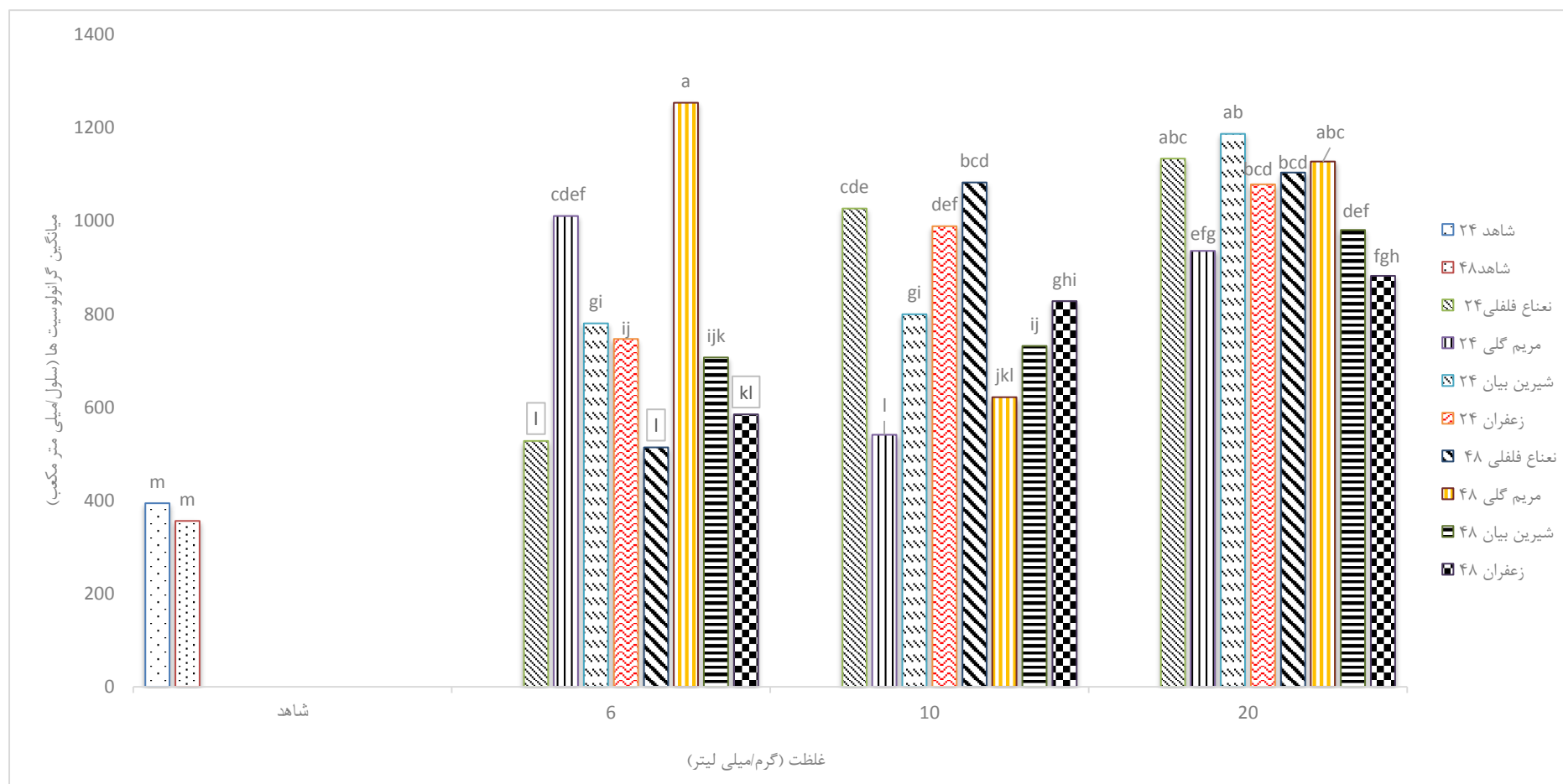
تعداد گرانولوسیت‌ها

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به آزمایش تأثیر عصاره‌های گیاهی نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بر تعداد گرانولوسیت‌ها در تمامی غلظت‌های تیمارها و شاهد ($F=36.75$; $d_{t,e} = 25,78$; $P =$ شاهد)

(0.0001 دارای تفاوت معنی دار در سطح ۵٪ بود (شکل ۴-۲).

بر اساس ارزیابی‌های صورت گرفته تمامی عصاره‌ها در تمامی غلظت‌ها نسبت به شاهد تا ۲۰٪ سبب افزایش گرانولوسیت‌ها در لاروهای تحت تیمار شدند. تیمار مریم‌گلی با غلظت ۶٪ پس از ۴۸ ساعت و شیرین‌بیان با غلظت ۲۰٪ پس از ۲۴ ساعت سبب افزایش معنی‌دار گرانولوسیت‌ها به ترتیب به مقدار $1254 \pm 94/56$ و $1187 \pm 17/07$ عدد در میلی‌متر مکعب خون حشره شدند. تیمار نعنای فلفلی با غلظت ۶٪ و مریم‌گلی با غلظت ۱۰٪ پس از ۲۴ ساعت و تیمار نعنای فلفلی با غلظت ۶٪ پس از ۴۸ ساعت کمترین افزایش معنی‌دار گرانولوسیت‌ها به ترتیب به مقدار $528 \pm 71/01$ و $541 \pm 46/68$ و $514 \pm 71/13$ عدد در میلی‌متر مکعب خون حشره نسبت به شاهد‌های ۲۴ و ۴۸ شدند.

گرانولوسیت‌ها و پلاسموتوسیت‌ها سلول‌های مؤثر در ایمنی سلولی هستند که پروفایل آن‌ها در فرایند ایمنی حشرات به شدت تغییر می‌کند (Nakahara et al. 2003). فراوانی گرانولوسیت‌ها در همه‌ی راسته‌های حشرات به‌ویژه سنین بالای لاروهای بال پولک‌داران بالا می‌باشد. ثابت شده این سلول‌ها قادر به تقسیم به اسفروولوسیت‌ها هستند. در نتیجه می‌تواند در ذخیره و انتقال هم مؤثر باشد (Yamashita and Iwabuchi., 2001). افزایش معنی‌دار تعداد گرانولوسیت‌ها در لاروهای *Spodoptera litura* تیمار شده با عصاره سوسن صغیر (*Acorus calamus*) گزارش شده است. (Sharma et al., 2008) افزودن ترکیبات گیاهی کاساوا به رژیم غذایی *S. litura* سبب افزایش بارز گرانولوسیت‌ها و پلاسموتوسیت‌ها در ساعات اولیه ورود به همولنف شد (Manjula et al., 2020) همچنین افزایش تعداد گرانولوسیت‌ها در ساعات اولیه جذب عصاره‌های اتانولی آنغوزه و به‌لیمو در لارو بید آرد توسط (Ajamhassani, 2021) گزارش شد که نتایج تحقیق حاضر با این تحقیقات مطابقت دارد. همولنف لاروهای کرم ساقه خوار ذرت *Sesamia cretica* که با عصاره نوعی آنغوزه (*Ferula ovina*) تیمار شدند، پس از ۴۸ ساعت افزایش معنی‌دار گرانولوسیت‌ها و پلاسموتوسیت‌ها را به همراه داشتند (Sadeghi et al., 2017).



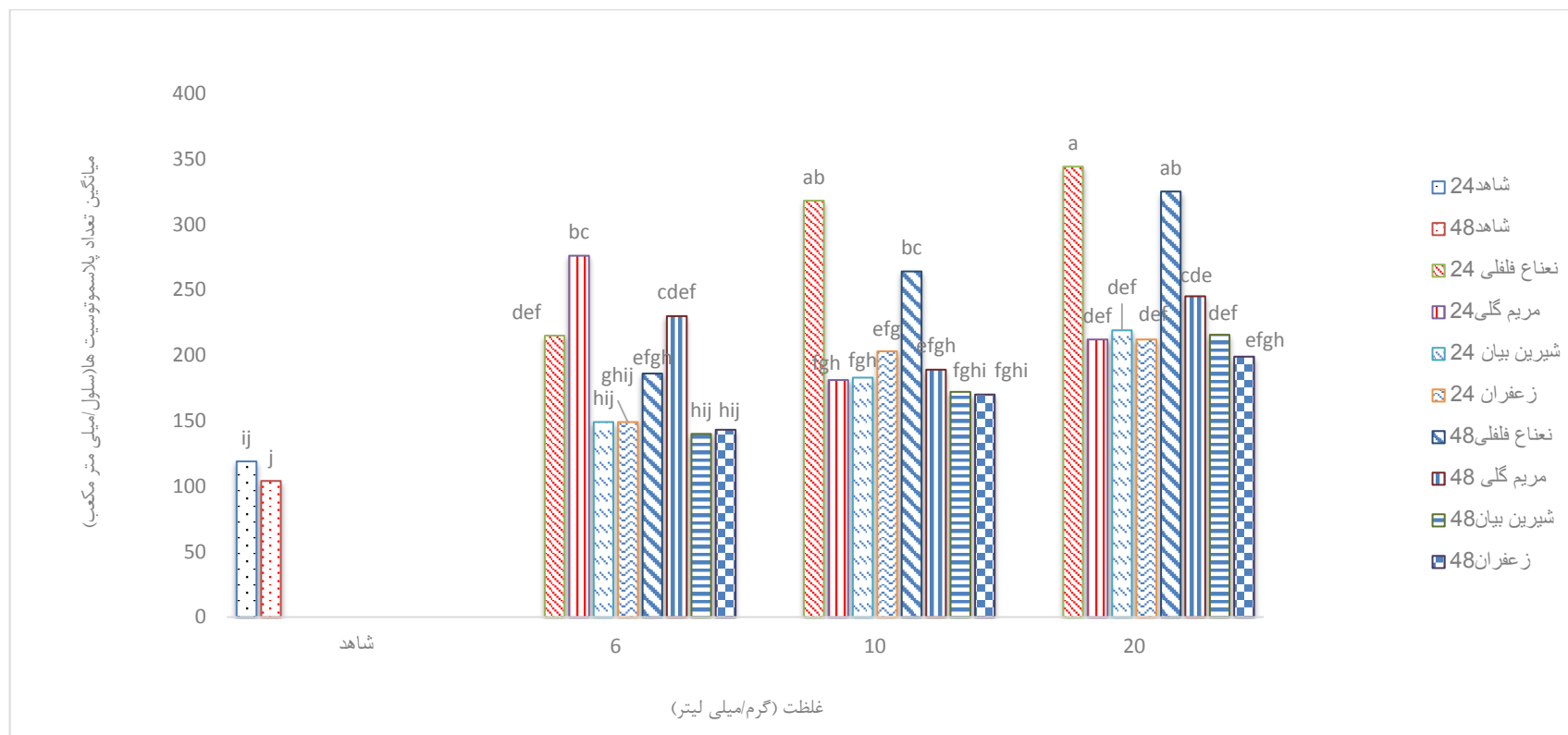
شکل ۳-۴- میانگین گرانیوسیت‌های لارو سن چهارم شب‌پره هندی تحت تأثیر تغذیه از غذای مصنوعی در غلظت‌های ۶، ۱۰ و ۲۰ درصد از گیاهان پس از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت

به علاوه می توان دلیل افزایش گرانولوسیت ها در غلظت ۶٪ مریم گلی پس از ۴۸ ساعت و غلظت ۲۰٪ شیرین بیان پس از ۲۴ ساعته را این گونه توجیه کرد که سلول ها در ساعات اولیه در گیر تشکیل گره بوده و لایه های زیاد گره حاکی از مشارکت گرانولوسیت ها می باشد (Sadeghi et al., 2017). نتایج مشاهده این تحقیق دلیل دیگر وجود تانن در شیرین بیان و ترکیبات سزکوئی ترپن در مریم گلی است. به طوری که سم این ترکیبات، سلول های ایمنوسیت را تحریک کرده و تعداد آن ها و تقسیمات آن ها را افزایش داده است.

۳-۲-۴- تأثیر عصاره های گیاهان نعنای فلفلی، مریم گلی، شیرین بیان و

زعفران بر تعداد پلاسموتوسیت ها

تجزیه واریانس داده های حاصل از آزمایش تأثیر عصاره های اتانولی گیاهان نعنای فلفلی، مریم گلی، شیرین بیان و زعفران نشان داد که در تمامی غلظت های تیمارها و شاهد دارای تفاوت معنی دار در تعداد پلاسموتوسیت ها در سطح ۵٪ بودند ($F=11.88; d_{t,e} = 25,78; P = 0.0001$) (شکل ۴-۴). بر اساس ارزیابی های صورت گرفته تیمارهای نعنای فلفلی در غلظت های ۱۰ و ۲۰ درصد پس از ۲۴ ساعت و تیمار نعنای فلفلی در غلظت ۲۰ درصد پس از گذشت ۴۸ ساعت سبب افزایش معنی دار تعداد پلاسموتوسیت ها به ترتیب به مقدار $318 \pm 28/4$ ، $344 \pm 21/9$ و 325 ± 8 عدد در میلی متر مکعب خون حشره شدند.



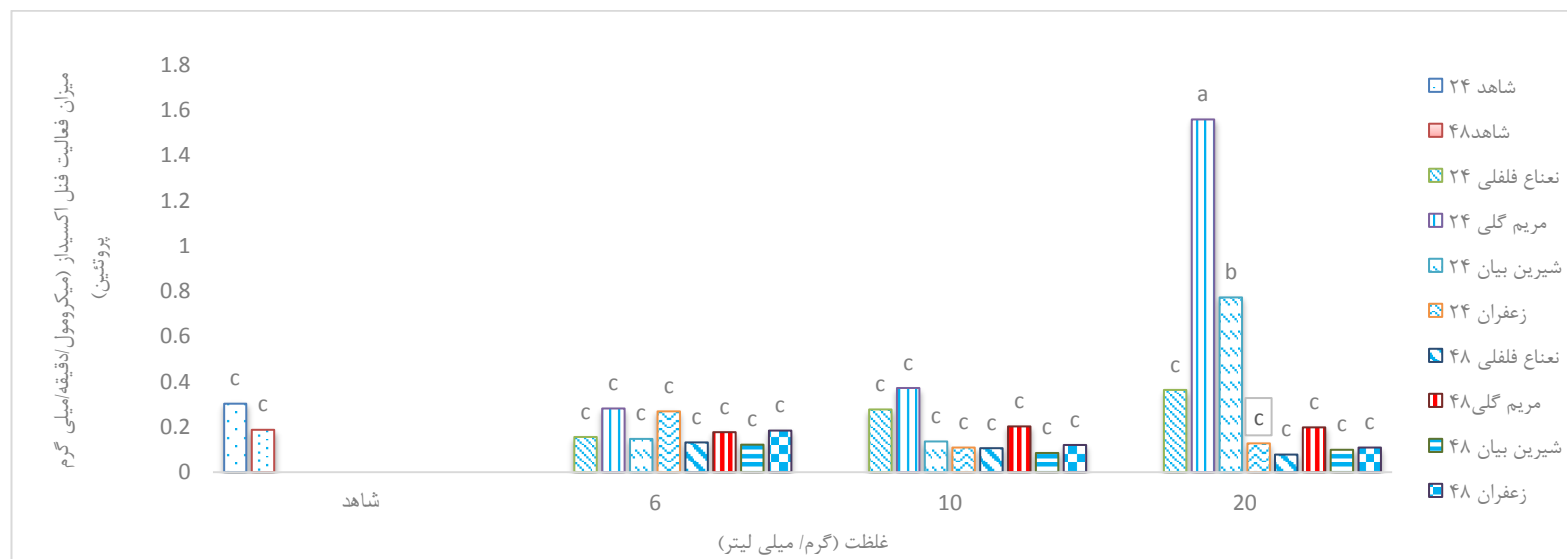
شکل ۴-۴- میانگین تعداد پلاسموتوسیت‌های لارو سن چهارم شب‌پره هندی تحت تأثیر تغذیه از غذای مصنوعی در غلظت‌های ۶، ۱۰، ۲۰ درصد از گیاهان پس از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت

تیمار شیرین بیان با غلظت ۶٪ و زعفران با غلظت ۶٪ پس از ۲۴ ساعت و تیمار شیرین بیان با غلظت ۶٪ و زعفران با غلظت ۶٪ پس از ۴۸ ساعت کمترین افزایش را در تعداد پلاسموتوسیت‌ها به ترتیب به مقدار $149 \pm 10/37$ ، 149 ± 8 ، $140/38 \pm 9$ و $143 \pm 10/2$ عدد در میلی‌متر مکعب خون حشره شدند (شکل ۴-۴).

پلاسموتوسیت‌ها مهم‌ترین سلول‌ها در کپسوله کردن عامل بیگانه‌اند (Nardi et al., 2003; Strand, 2008). تغییرات به شکل افزایش یا کاهش تعداد سلول‌های خونی بروز می‌کند که بسته به گونه حشره، مرحله رشدی و نوع آلودگی متفاوت است (Gupta, 1979). نتایج مشابهی در تحقیقات سایر محققین مشاهده شد به عنوان مثال: افزایش تعداد پلاسموتوسیت‌ها در ساعات اولیه جذب عصاره‌های اتانولی آنغوزه و به‌لیمو در لارو بید آرد توسط (Ajamhassani, 2021) گزارش شد. در همولف لاروهای کرم ساقه خوار ذرت *S. cretica* که با عصاره نوعی آنغوزه تیمار شدند پس از ۴۸ ساعت افزایش معنی‌دار گرانولوسیت‌ها و پلاسموتوسیت‌ها در خون مشاهده شد (Sadeghi et al., 2017). افزودن ترکیبات گیاهی کاساوا به رژیم غذایی *S. litura* سبب افزایش بارز گرانولوسیت‌ها و پلاسموتوسیت‌ها در ساعات اولیه ورود به همولف شد (Manjula et al., 2020) و دلیل متفاوت بودن میزان تعداد پلاسموتوسیت‌های مریم‌گلی در ۴۸ ساعت نسبت به ۲۴ ساعت و سایر عصاره‌ها را این‌گونه می‌توان توجیه نمود که نوع و میزان آلودگی در خسارت وارد شده به سلول‌ها مؤثر بوده و سلول‌ها، برای یافتن پاسخ ایمنی متناسب به غشاء پایه منتقل شده‌اند که نتایج حاصل با نتایج (Baghban et al., 2018) دارای تطابق می‌باشد.

۴-۲-۴- تأثیر عصاره‌های اتانولی نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بر فعالیت آنزیم فنل اکسیداز

(Phenol Oxidase)



شکل ۴-۵- میانگین میزان فعالیت آنزیم فنل اکسیداز لارو سن چهارم شب‌پره هندی تحت تأثیر تغذیه از غذای مصنوعی در غلظت‌های ۲۰، ۱۰، ۶ درصد از گیاهان پس از گذشت ۲۴ و ۴۸ ساعت

تجزیه واریانس داده‌های مربوط به آزمایش تأثیر عصاره‌های گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بر میزان فعالیت آنزیم فنل اکسیداز در تمامی تیمارها نسبت به شاهد (F=11.39; $d_{t,e} = 25,52$; $P < .0001$) اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ نشان داد (شکل ۴-۴)

نتایج نشان داد غلظت ۲۰٪ مریم‌گلی پس از گذشت ۲۴ ساعت بیشترین افزایش را در میزان فعالیت آنزیم فنل اکسیداز نسبت به شاهد ۲۴ و ۴۸ ساعته ($1/56 \pm 0/006$) میکرومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین) داشته است. در حالی که سایر عصاره‌ها و غلظت‌ها نسبت به شاهد ۲۴ و ۴۸ ساعت دارای تفاوت معنی‌داری نبودند.

آنزیم فنل اکسیداز جزء آنزیم‌های رده Oxydoreductases است که با انتقال الکترون از مولکول سوبسترا به سایر مولکول‌ها باعث اکسیداسیون سوبسترا می‌گردد (Boyce and Tipton, 2001). این آنزیم یکی از مهم‌ترین آنزیم‌هایی موجود در سیستم ایمنی ذاتی بی‌مهرگان می‌باشد (Cerenius and Soderhall, 2004). L-DOPA (Ling et al., 2004) را به‌عنوان زیرنهیشت آنزیم فنل اکسیداز با محلول اتانول حاوی سلول‌های خونی کرم ابریشم انکوبه کرده و گزارش نمودند که سلول‌های خونی گرانولوسیت، پلاسموتوسیت، پروهموسیت و اونوتوسیت دارای آنزیم فنل اکسیداز هستند. افزایش شمار انوسیتوئیدها در بازه زمانی بالاتر پس از تزریق، می‌تواند در ارتباط با نقش مهم این یاخته‌های خونی به‌عنوان منبع فنل اکسیداز باشد که به دنبال افزایش شمار آن‌ها، به احتمال منجر به تولید بیشتر فنل اکسیداز از مسیر یاخته‌ای می‌شود (Yu and Ling, 2005; Ribeiro Brehelin 2006) سیستم فنل اکسیداز به عنوان جزء کلیدی در سیستم ایمنی بدن حشره و پلی در فاصله بین ایمنی سلولی و ایمنی هیومرال حشرات در نظر گرفته می‌شود و عمل آن در آخرین مرحله دفاع سلولی به‌منظور تشکیل ملانیزاسیون ضروری است. این آنزیم به همراه فعالیت سلول‌های خونی، عامل بیگانه را بلوکه کرده و با تولید کوئینون سبب سمی شدن عامل بیگانه می‌شود. نهایتاً عامل بیگانه توسط انتقال دهنده خون به لوله‌های مالپیگی منتقل شده تا از بدن دفع شوند. مهار فنل اکسیداز برای لاروهای کرم برگ‌خوار توت تحت تأثیر اسانس درمنه ثبت شده است. (Oftadeh et al., 2021) مهار فنل اکسیداز احتمالاً به حساسیت حشرات نسبت به سموم در صورت عدم دریافت غلظت سمی کمک می‌کند (Zibae and Bandani, 2010; Ghoneim, 2008; Cerenius et al., 2018) در مطالعه‌ای دیگر کمترین دوز اسانس گیاهان ریحان مقدس، ریحان میخکی و گل ابری نمی‌تواند باعث تغییر فعالیت فنل اکسیداز در لارو *Antheraea assama* شود در حالی

که افزایش دوزها به طور قابل توجهی فعالیت آنزیمی را در لاروها افزایش می دهد (KhanikorandBora,2012) نتایج حاصل از این تحقیق با تحقیق فوق مطابقت دارد. همین طور می توان دلیل کاهش میزان فعالیت فنل اکسیداز را در تمامی غلظت های عصاره ها (به جز مریم گلی با غلظت ۲۰٪، ۲۴ ساعته و شیرین بیان با غلظت ۲۰٪، ۲۴ ساعته) را این گونه توجیه نمود که ممکن است به غشاء پایه معده میانی خسارت وارد شده که سبب آزاد شدن بعضی از میانجی های ایمنی به داخل هموسل گردیده است (Dobovskly et al.,2011) و نیز از آنجا که سلول های اونوسیتوئید در میزان فعالیت آنزیم فنل اکسیداز بسیار مؤثر است ممکن است کاهش جزئی این سلول در این غلظت سبب کاهش فعالیت این آنزیم شده باشد و از سوی دیگر وجود ترکیبات منوترپنی و فنلی موجود در عصاره های گیاهان مورد مطالعه در این تحقیق می تواند مؤثر در میزان فعالیت فنل اکسیداز باشد. Enger (2017) با مطالعه روی آنزیم فنل اکسیداز بال پولک داران و فعالیت آن را روی کرم ابریشم *Bombyx mori* L. نشان دادند که این آنزیم در سلول های خونی هموسیت سنتز و به وسیله اپیدرم به کوتیکول منتقل می گردد.

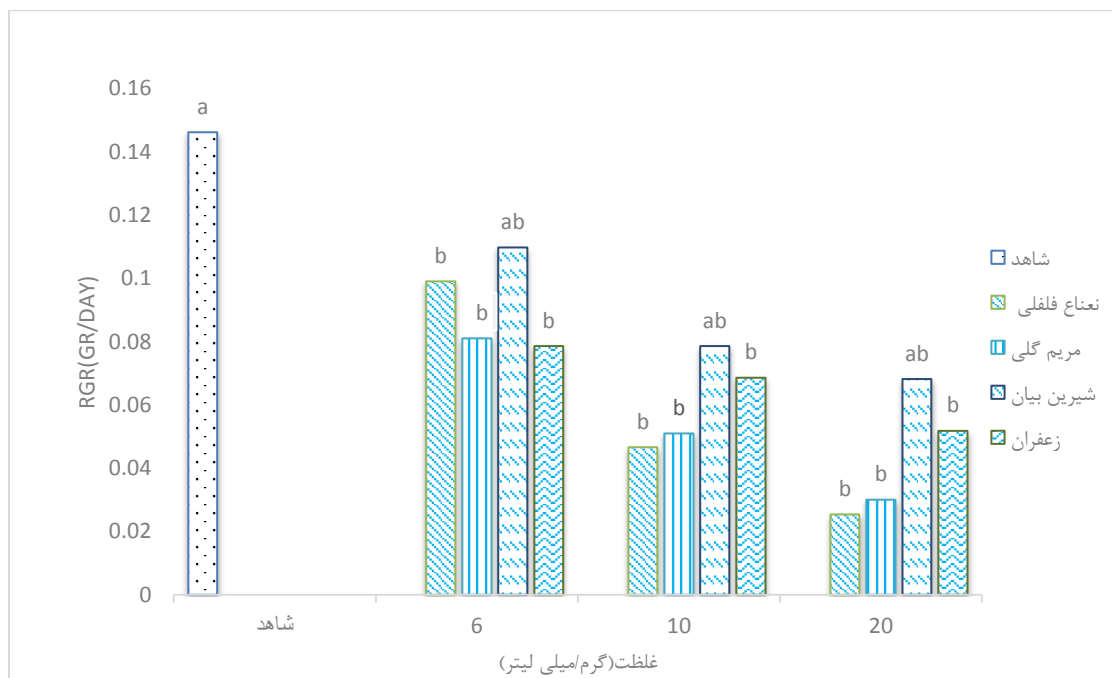
۳-۴- ارزیابی شاخص های تغذیه

۱-۳-۴- تأثیر عصاره های گیاهان نعناع فلفلی، مریم گلی، شیرین بیان و

زعفران بر رشد نسبی (Relative Growth Rate)

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمایش تأثیر عصاره‌های اتانولی نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین بیان و زعفران بر نرخ رشد نسبی (RGR)، تفاوت معنی‌داری را در غلظت‌های مختلف

($F = 7,94, d_{e,t} = 4,10, P = 0.0038$) نسبت به شاهد بین تیمارها نشان داد (شکل ۴-۶)



شکل ۴-۶- نرخ رشد نسبی (RGR) لارو سن چهارم شب‌پره هندی

ارزیابی‌ها نشان داد که ۴۸ ساعت پس از تیمار نعنای فلفلی با غلظت‌های ۱۰،۶ و ۲۰ درصد به ترتیب با میانگین 0.099 ± 0.04 ، 0.0466 ± 0.01 و 0.0254 ± 0.02 ، مریم‌گلی با غلظت‌های ۱۰،۶ و ۲۰ درصد به ترتیب با میانگین 0.081 ± 0.01 ، 0.0512 ± 0.01 و 0.03 ± 0.02 و زعفران با غلظت‌های ۱۰،۶ و ۲۰ درصد به ترتیب با میانگین 0.0786 ± 0.01 ، 0.0686 ± 0.01 و 0.0518 ± 0.01 بیشترین کاهش نرخ رشد نسبی را نسبت به شاهد نشان دادند و تیمار شیرین‌بیان در همه غلظت‌ها دارای تفاوت معنی‌داری با شاهد نبودند (شکل ۴-۶).

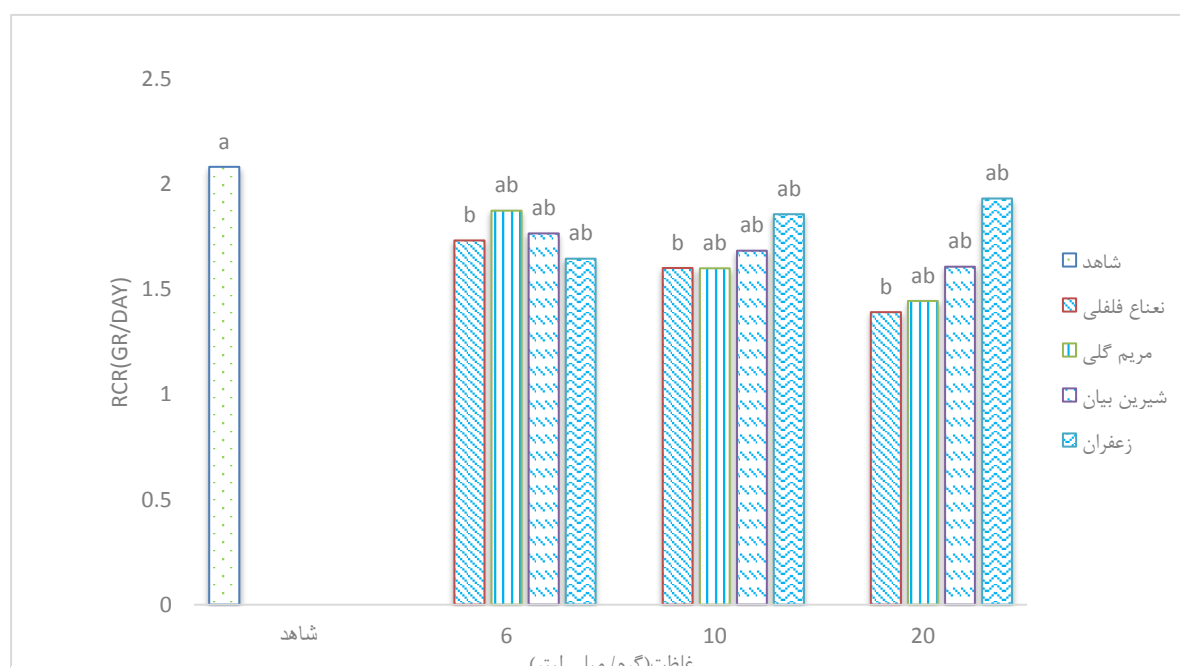
شاخص RGR تحت تأثیر وزن بدن لارو می‌باشد که توسط (Srinivasan and Uthamasamy, 2005) معرفی شده است. رفیعی کرهرودی و همکاران ۱۳۸۸ اثر اسانس هجده گیاه دارویی را بر شاخص تغذیه‌ای لارو شب‌پره هندی مورد بررسی قرار دادند و نتایج حاصل حاکی از آن بود که اسانس‌ها بر

شاخص‌های رشد نسبی نسبت به شاهد اثر معنی‌داری نداشتند. کارایی اسانس نعنای فلفلی و پونه روی شاخص‌های تغذیه‌ای شب‌پره هندی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که اسانس گونه نعنای فلفلی بسیار مؤثرتر از اسانس پونه بوده و به طور معنی‌داری باعث کاهش RGR شده است (Saeidi and Hassanpour, 2014). از سوی دیگر تحقیقات تقی‌زاده و محمدخانی ۲۰۱۸ نیز نشان داد که تأثیر عصاره‌های گیاهان شاه تره، بومادران و فرفیون بر حشرات کامل شپشه آرد با افزایش غلظت عصاره‌ها سبب کاهش RGR گردید که نتایج تحقیق حاصل با نتایج تحقیقات فوق تطابق دارد.

۲-۳-۴- تأثیر عصاره‌های گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و

زعفران بر نرخ مصرف نسبی (Relative Consumption Rate)

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمایش تأثیر عصاره‌های اتانولی گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بر نرخ مصرف نسبی غذا (RCR) دارای تفاوت معنی‌داری در غلظت‌های مختلف بود (F=4.00, $d_{t,e} = 4,10$, $P = 0.0343$) بود (شکل ۴-۷).



شکل ۴-۷- نرخ مصرف نسبی (RCR) لارو سن چهار شب‌پره هندی

بر اساس ارزیابی‌های صورت گرفته تیمار نعنای فلفلی با غلظت‌های ۱۰، ۶ و ۲۰ درصد به ترتیب با میانگین $1/73 \pm 0/15$ ، $1/60 \pm 0/13$ و $1/39 \pm 0/13$ بیشترین کاهش را نسبت به شاهد نشان دادند و بقیه تیمارها نسبت به شاهد دارای تفاوت معنی‌داری نبودند.

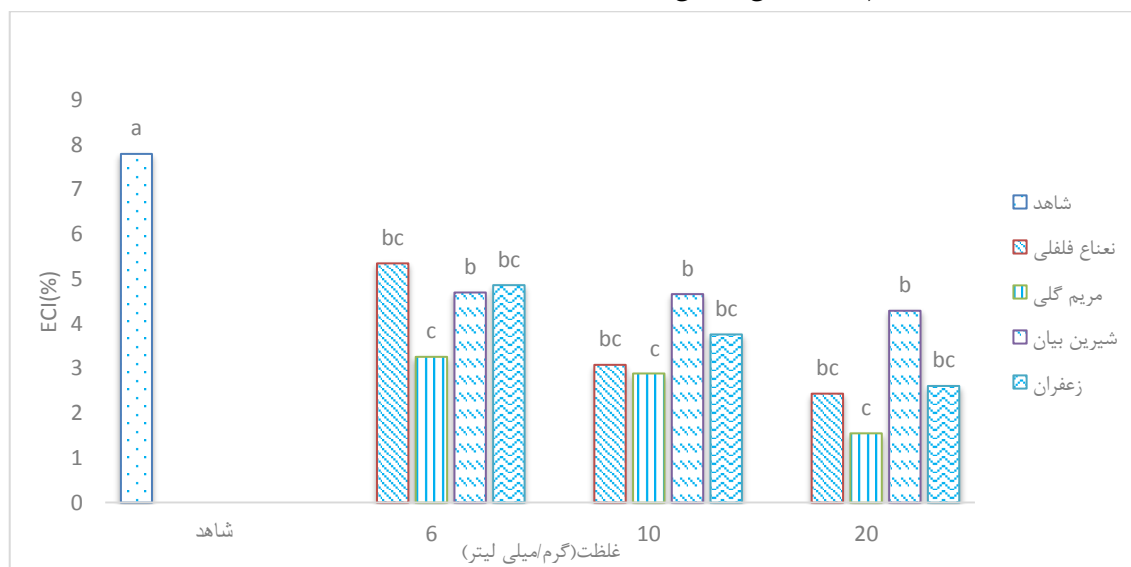
نتایج حاصل از این تحقیق مطابقت دارد با نتایج حاصل از تقی‌زاده و محمدخانی ۲۰۱۸ که گزارش کردند تأثیر عصاره‌های گیاهان شاه تره، بومادران و فرفیون بر حشرات کامل شپشه آرد با افزایش غلظت عصاره‌ها سبب کاهش RCR می‌شود، نوری قنبلانی و همکاران ۲۰۲۰ گزارش کردند که اسانس‌های زیره سیاه، دارچین و نعنای فلفلی بر روی بید غلات با افزایش غلظت عصاره‌ها سبب کاهش RCR می‌گردد. در آزمایش مربوط به تأثیر اسانس گیاهی چویل *Ferulago angulata* (Schlecht.) Boiss و گندمای کوهی *Ballota aucheri* Boiss بر نرخ مصرف نسبی غذا در حشرات کامل شپشه آرد مشاهده شد که با افزایش غلظت‌های زیر کشنده، میزان RCR کاهش می‌یابد. به بیان دیگر این نتایج حکایت از آن دارد که با افزایش غلظت اسانس، میزان اشتهای حشره کاهش می‌یابد (Atashi et al., 2015)، کارایی اسانس نعنای فلفلی و پونه روی شاخص‌های تغذیه‌ای شب‌پره هندی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که اسانس گونه نعنای فلفلی بسیار مؤثرتر از اسانس پونه بوده و به طور معنی‌داری باعث کاهش RCR شده است (Saeidi and Hassanpour, 2014). در تحقیقی اثر بازدارندگی تغذیه عصاره‌های دو گیاه دارویی خارشتر، *Alhagi maurorum* و زرشک، *Berberis thunbergii* روی حشرات کامل شپشه آرد مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزایش غلظت عصاره دو گیاه روی شاخص‌های تغذیه آفت به طور معنی‌دار مؤثر بوده است. عصاره خارشتر نرخ رشد نسبی، نرخ مصرف نسبی و کارایی تبدیل غذای خورده شده توسط شپشه آرد را به طور معنی‌دار بیش از عصاره زرشک کاهش داده است (Taghizadeh and Mohammadkhani., 2016) با توجه به ترکیبات ثانویه موجود در گیاهان بخصوص حضور ترکیبات مونوترپنی در گیاهان دلیل کاهش نرخ مصرف نسبی در این آزمایش را می‌توان توجیه نمود.

۳-۳-۴- تأثیر عصاره گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین بیان و

زعفران بر شاخص بازدهی غذای خورده شده (Efficacy of conversion of

Ingested Food)

نتایج حاصل از تجزیه واریانس عصاره‌های اتانولی گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین بیان و زعفران بر بازدهی غذای خورده شده نسبت به شاهد دارای تفاوت معنی‌داری در سطح ۵٪ بود. ($F=13.33$, $dF_{t,e} = 4,10$, $P = 0.0005$) (شکل ۴).



شکل ۴-۸- شاخص بازدهی غذای خورده شده (ECI) لارو سن چهارم شب‌پره هندی

با توجه به ارزیابی‌های صورت‌گرفته تمامی تیمارها و غلظت‌های آن‌ها در بازدهی غذای خورده شده نسبت به شاهد دچار کاهش شدند. در بررسی تاثیر اسانس گیاهی چویل و گندنای کوهی بر شاخص بازدارندگی تبدیل غذای بلعیده شده حشرات کامل شپشه آرد، دیده شد که مقدار ECI در غلظت‌های بالای اسانس کاهش می‌یابد (Atashi et al., 2015). در بررسی‌های که توسط Negahban et al., 2013 روی کارایی اسانس نانو کپسوله شده گیاه درمنه بر شاخص‌های تغذیه شب‌پره پشت‌الماسی *L. Plutella xylostella* انجام شد، نشان داده شد که با افزایش غلظت اسانس نانو کپسوله و اسانس معمولی کارایی تبدیل غذای خورده شده در لارو شب‌پره پشت‌الماسی به طور معنی‌داری کاهش یافت که این

نتیجه نشان می‌دهد برخی اسانس‌ها به میزان قابل توجهی بر روی کارایی غذای خورده شده تأثیر می‌گذارد.

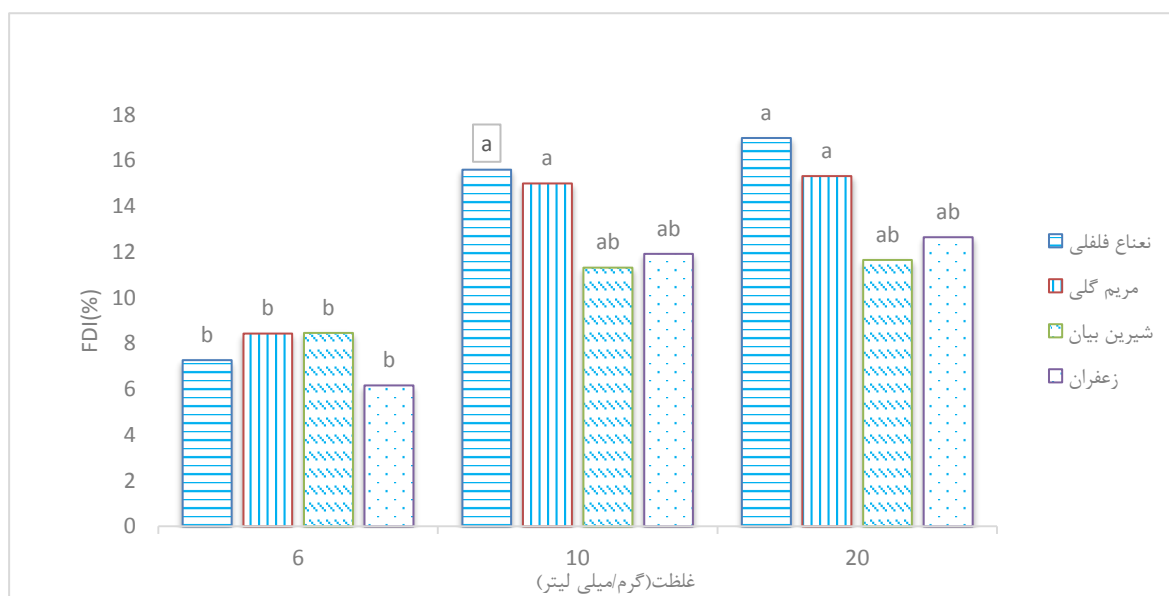
۴-۳-۴- تأثیر عصاره‌های گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین بیان و

زعفران بر شاخص بازدارندگی تغذیه (Feeding Deterrent Index)

تجزیه واریانس حاصل از داده‌های عصاره‌های اتانولی نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین بیان و زعفران بر

شاخص بازدارندگی تغذیه در سطح ۵٪ معنی‌دار بود ($F=5.14, df_{t,e} = 4,10, P = 0.004$)

با توجه به بررسی‌های انجام شده میزان شاخص بازدارندگی تغذیه با افزایش غلظت افزایش یافت.



شکل ۴-۹- شاخص بازدارندگی تغذیه (FDI) لارو سن چهارم شب‌پره هندی

بیشترین بازدارندگی تغذیه متعلق به تیمارهای نعنای فلفلی با غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ درصد به ترتیب

با میانگین 15.59 ± 4.9 ، 16.98 ± 4.9 ، مریم‌گلی با غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ درصد به ترتیب با میانگین

15.99 ± 4.11 ، 15.32 ± 4.11 ، شیرین بیان با غلظت ۱۰ و ۲۰ به ترتیب با میانگین 11.31 ± 1.88 ،

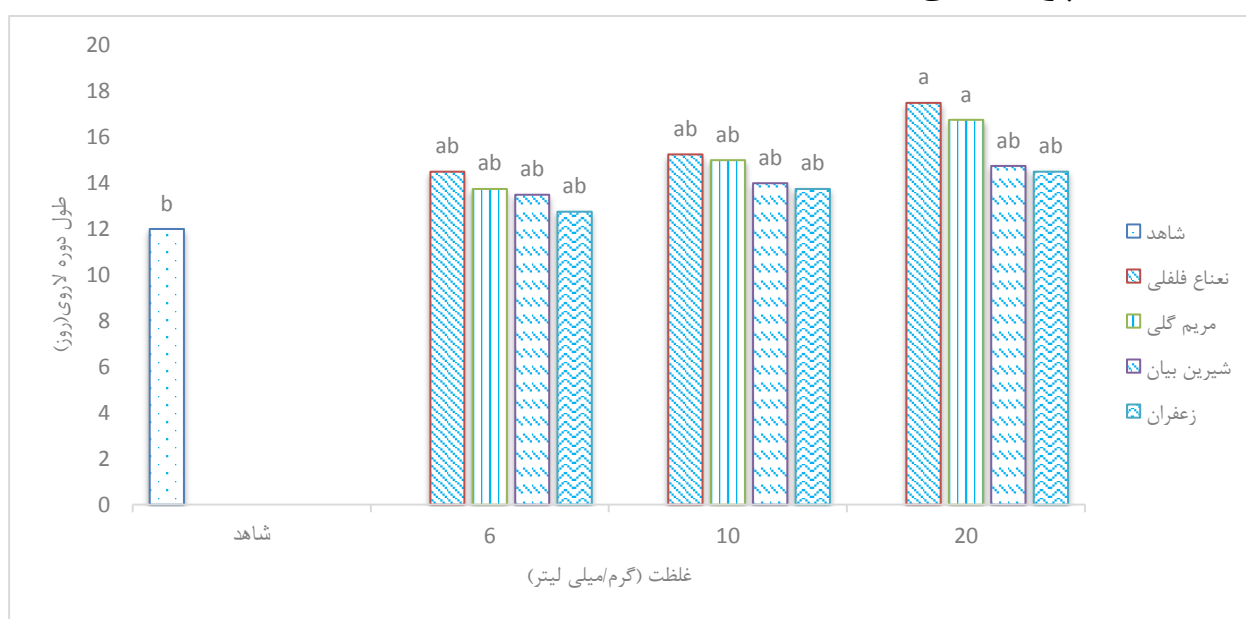
12.68 ± 5.43 ، 11.91 ± 7.4 و زعفران با غلظت‌های ۱۰ و ۲۰ درصد به ترتیب با میانگین 11.64 ± 5.87

و کمترین میزان بازدارندگی تغذیه متعلق به تیمار نعنای فلفلی با غلظت ۶ درصد با میانگین $۷/۲۶ \pm ۳/۷۱$ ، مریم گلی ۶ درصد با میانگین $۸/۴۳ \pm ۶/۹۲$ ، شیرین بیان ۶ درصد با میانگین $۸/۴۵ \pm ۶/۱۷$ و زعفران ۶ درصد با میانگین $۶/۱۶ \pm ۱/۸۸$ بود.

در کل نتایج حاصل از این تحقیق دارای مطابقت با تحقیقات سایر محققان نظیر تقی زاده و محمدخانی ۲۰۱۸ است. نتایج آن‌ها نشان داد درصد شاخص بازدارندگی تغذیه به طور معنی داری با افزایش سطح غلظت افزایش نشان داد (Atashi et al., 2015). در مطالعه تأثیر اسانس گیاهی چویل و گندنای کوهی بر شاخص بازدارندگی تغذیه (FDI) حشرات کامل شپشه آرد مشاهده شد با افزایش غلظت اسانس، مقدار FDI بیشتر می شود. شاخص بازدارندگی تغذیه‌ای در غلظت‌های بالای اسانس افزایش می یابد که نشان دهنده این است که تمایل حشره برای مصرف غذا کاهش یافته است. این نتایج با یافته‌های Rafiei-Karahroodi و همکاران (۲۰۱۰) مطابقت دارد. در تحقیقات Pavela (۲۰۰۷) تأثیر اسانس در دوزهای زیر کشندگی بر روی شاخص بازدارندگی تغذیه سوسک برگ‌خوار سیب زمینی نشان داد که با افزایش غلظت شاخص بازدارندگی تغذیه افزایش پیدا می کند. همچنین نتایج Abbasipour و همکاران ۲۰۱۰ نتایج بالا را روی شپشه‌ی آرد تأیید می کند. براساس تحقیقات Taghizadeh Sarokolaei و Behzadi (۲۰۱۱) اسانس جاشیر کوتوله نسبت به اسانس آویشن ایرانی بر شاخص بازدارندگی تغذیه‌ای به طور معنی داری اثر بیشتری داشت. در کل با افزایش غلظت، شاخص بازدارندگی تغذیه هر دو گیاه به نحو چشمگیری افزایش یافت و مانع از تغذیه حشرات کامل گردید. سیس و همکاران (Cis et al., 2006) پی بردند وجود موادی مانند سسکوئی ترپن‌ها و سیریزین در گیاه خاصیت ضدتغذیه ای روی بعضی آفات انباری دارد که گیاهان مورد مطالعه در این تحقیق نیز دارای این ترکیبات بودند و نتایج فوق با این نتایج مطابقت داشت.

۴-۴- تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌های اتانولی گیاهان نعنای فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بر مراحل مختلف زیستی شب‌پره هندی

۴-۴-۱- تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهان بر طول دوره لاروی شب‌پره هندی



شکل ۴-۱۰- میانگین طول دوره لاروی شب‌پره هندی تحت تأثیر غذای مصنوعی حاوی غلظت‌های مختلف عصاره‌های
اتانولی نعناع فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به این آزمایش بر طول دوره لاروی نشان داد که بین عصاره‌های اتانولی نعناع فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ وجود دارد ($F=5.91, df_{t,e} = 12,39, P < 0.0001$). در غلظت ۲۰٪ نعناع فلفلی (17.5 ± 0.645 روز) و غلظت ۲۰٪ مریم‌گلی (16.75 ± 0.408)، طول دوره لاروی افزایش معنی‌داری نسبت به شاهد (12 ± 0.408) پیدا کرده است به دلیل وجود ترکیبات منوترپنی بیشتر در این گیاهان

بود (شکل ۴-۱۰).

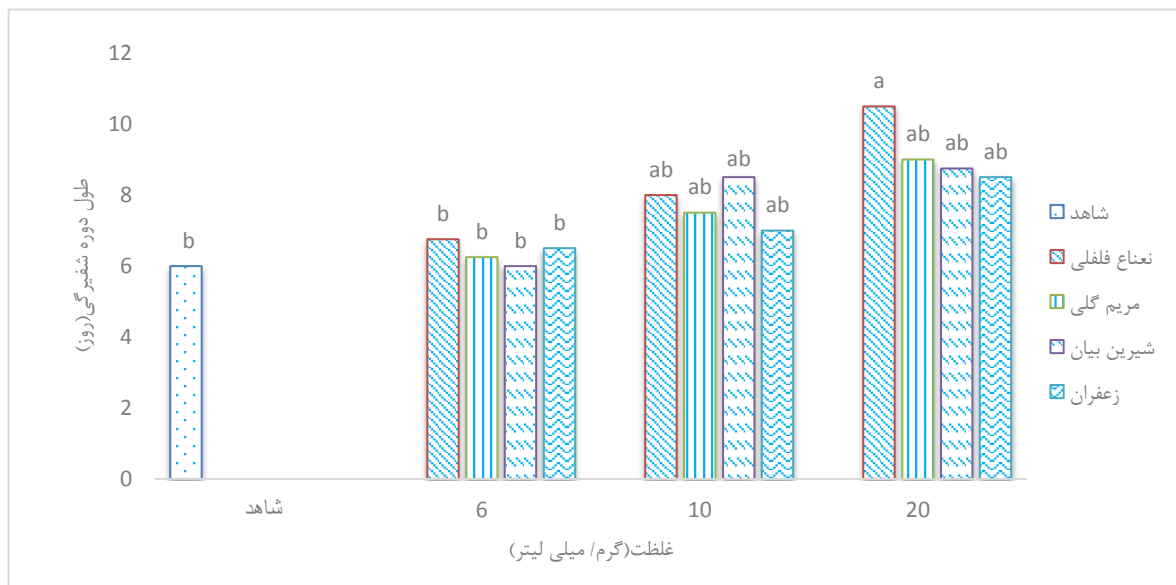
در تحقیق (Nori Ganbalani et al., 2021) غلظت‌های زیرکشنده اسانس‌های زیره سیاه، دارچین و نعناع فلفلی، مجموع طول دوره لاروی و شفیرگی بید غلات را به طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار دادند؛ به طوری که طول این دوره در تیمارهای زیره سیاه، دارچین و نعناع فلفلی بیشتر از شاهد بود.

۲-۴-۴- تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهان بر طول دوره

شفیرگی

تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمایش تأثیر عصاره‌های اتانولی نعناع فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران بر طول دوره شفیرگی حاکی از اختلاف معنی‌دار بین عصاره‌ها نسبت به شاهد در سطح احتمال

۵٪ می‌باشد ($F=6.25, df_{t,e} = 12,39, P < 0.0001$). (شکل ۴)

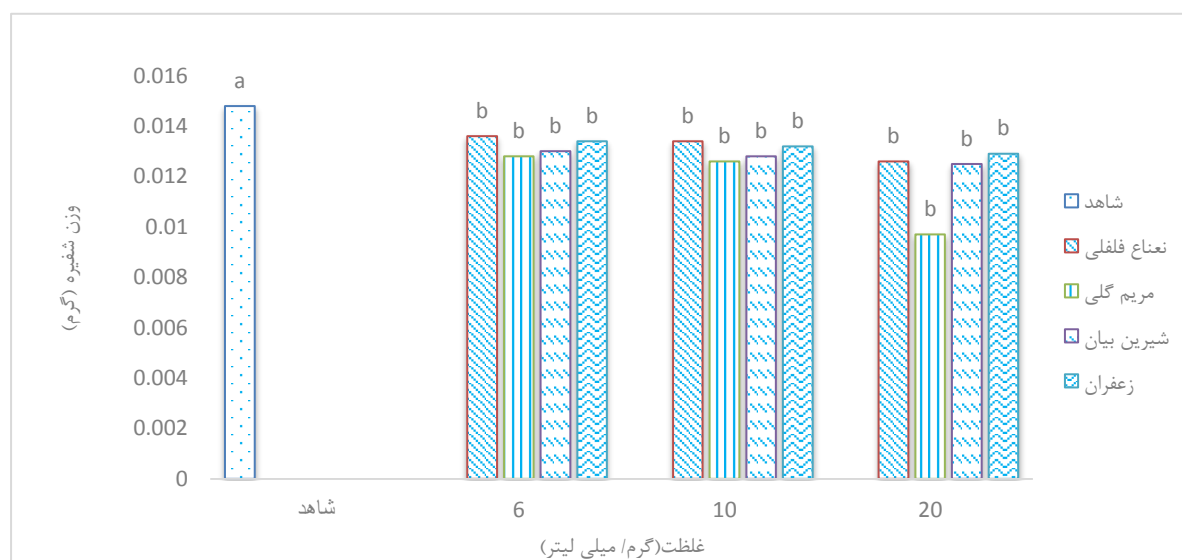


شکل ۴-۱۱- میانگین طول دوره شفیرگی شب‌پره هندی تحت تأثیر غذای مصنوعی حاوی عصاره‌های اتانولی نعناع فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران در غلظت‌های مختلف

باتوجه به نتایج حاصل شده بیشترین میانگین طول دوره شفیرگی نسبت به شاهد متعلق به غلظت ۲۰٪. نعناع فلفلی بود ($0.645 \pm 0.10, 25$ روز). به احتمال زیاد به دلیل وجود ترکیب منتول در این عصاره است. نتایج مشاهده شده با تحقیق (Nori Ganbalani et al., 2021) غلظت‌های زیرکشنده اسانس‌های زیره سیاه، دارچین و نعناع فلفلی، مجموع طول دوره لاروی و شفیرگی بید غلات را به طور معنی‌داری تحت تأثیر قرار دادند؛ به طوری که طول این دوره در تیمارهای زیره سیاه، دارچین و نعناع فلفلی بیشتر از شاهد بود مطابقت دارد.

۳-۴-۴- تأثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهان بر وزن شفیره

تجزیه واریانس حاصل از این آزمایش نشان داد که عصاره‌های اتانولی نعناع فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران نسبت به شاهد دارای تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ بود ($F=5.46, dF_{t,e}$ $4,10, P = 0.0136$)

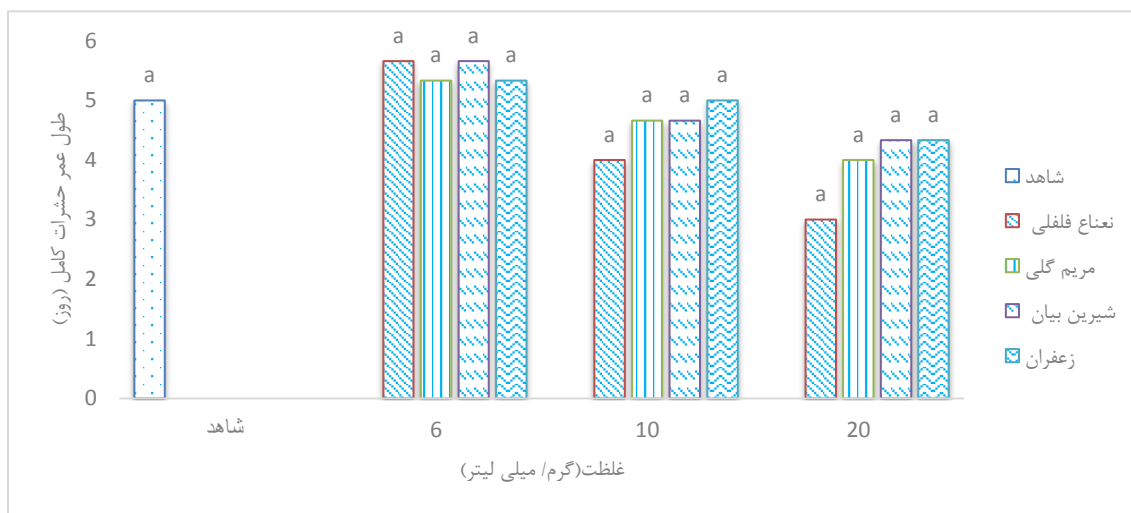


شکل ۴-۱۲- میانگین وزن شفیره ها تحت تأثیر عصاره‌های اتانولی گیاهان نعناع فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران

نتایج تجزیه واریانس حاکی از معنی‌داری اثر غلظت‌های مختلف عصاره‌ها بر وزن شفیره نسبت به شاهد بود به طوری که در تمام تیمارها نسبت به شاهد کاهش وزن شفیره مشاهده شد (شکل ۴-۱۲).

۴-۴-۴- تأثیر عصاره‌های گیاهان بر طول عمر حشرات کامل

تجزیه واریانس داده‌های طول عمر حشرات کامل که تحت تغذیه از غذای مصنوعی حاوی عصاره‌های نعناع فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران پرورش‌یافته بودند نسبت به شاهد اختلاف معنی‌دار نشان نداد.



شکل ۴-۱۳- میانگین طول عمر حشرات کامل شب‌پره هندی تحت تأثیر غذای مصنوعی حاوی غلظت‌های مختلف عصاره‌های اتانولی نعناع فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران

اسانس‌های گیاهی بسیار فرار و حاوی مولکول‌های چربی دوست هستند (Enan, 2001) و عواملی از جمله اندازه بدن، وزن بدن و میزان چربی بدن می‌توانند نقش عمده‌ای در تحمل لاروهای سن بالا در برابر ترکیبات سمی ایفا کنند (Mastumur 1985).

نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این تحقیق نشان می‌دهد، به طور کل افزایش غلظت عصاره‌های اتانولی گیاهان نعناع فلفلی، مریم‌گلی، شیرین‌بیان و زعفران دارای تأثیراتی بر دوره‌های زیستی شب‌پره هندی (طول

دوره لاروی، طول دوره شفیرگی و وزن شفیره‌ها) داشت و عصاره نعناع فلفلی و مریم‌گلی به دلیل داشتن منوترپن از اهمیت بیشتری برخوردار بودند چرا که منوترپن‌ها در مسیرهای مختلف مانند حشره‌کش عمل می‌کنند (Ghasemi et al., 2014; Keirkah et al., 2015; Hidari et al., 2017; Naseri et al., 2017). با توجه به تحقیق حاضر به نظر می‌رسد ترکیبات ثانویه موجود در عصاره گیاهان مورد آزمایش توانسته واکنش ایمنی شب‌پره هندی را تحریک نماید. همچنین روی پارامترهای شاخص تغذیه، طول مراحل زیستی حشره تأثیر معنی‌داری نشان دادند. قطعاً اگر ترکیبات این عصاره‌ها به طور دقیق با کروماتوگرافی شناسایی شود و درصد حضور هر ترکیب و سمیت آن‌ها بررسی گردد نتایج بهتری در ارتباط با برهم‌کنش این عصاره‌ها با سامانه ایمنی شب‌پره هندی حاصل خواهد شد. عصاره‌ها و ترکیبات گیاهی گزینه‌های مناسبی برای جایگزینی با سموم شیمیایی قلمداد شده‌اند و استفاده از آن‌ها در کنترل آفات به ویژه آفات انباری مانند شب‌پره هندی می‌تواند با وسعت بیشتری متداول گردد. چنانچه ترکیبات گیاهی بتوانند بر سامانه ایمنی حشرات فائق آیند و ویژگی‌های زیستی و تغذیه‌ای آفات را تحت تأثیر خود قرار دهند می‌توان به روش‌های کنترل با بهره‌گیری از این ترکیبات بیش از پیش امیدوار و مطمئن بود.

منبع

ابن العلم، ن.، کچیلی، ف.، صباحی، ق. الف.، مصدق، م.س. (۱۳۹۴). بررسی سمیت تنفسی و دوام اسانس اکالیپتوس، گردو و پونه روی حشرات کامل سوسک لمبه گندم *Trogoderma granarium* (Coleoptera; Dermestidae) (Evert.). **گیاه پزشکی (مجله علمی کشاورزی)** ۳۸(۳): ۷۵-۸۴. افشار محمدیان، م، کردی، ش، مشهدی نژاد، الف، (۱۳۹۵). بررسی فعالیت ضد باکتریایی عصاره کلالة و گلبرگ گونه‌های زعفران مختلف (Crocus Spp) **مجله پژوهش‌های سلولی مولکولی (زیست شناسی/ایران)** ۲۹(۳): ۳۴-۴۵.

باقری زنوز ع. ۱۳۹۳. آفات محصولات ذخیره شده و مدیریت نگهداری، زیست شناسی حشرات، آکاری و میکروارگانیسم ها. ویرایش ۴، تهران: انتشارات دانشگاه تهران. ۴۵۰ ص.

توکلی، ب.، و عجم‌حسینی، م. (۱۳۹۶). بررسی تاثیر آفت‌کش‌های پالیزین، دیفلوبنزورون، کلروپایریفوس، هگزافلومورون و دلتامترین بر روی خصوصیات زیستی جمعیتی و شاخص‌های تغذیه‌ای شب‌پره آرد *Anagasta kuehniella* (Zeller) (Lep: Pyralidae) **مجله گیاه پزشکی کاربردی**، ۶(۱): ۳۳-۲۵.

جایمند، ک و رضایی، م. (۱۳۸۱). اندازه‌گیری گلیسرین در ریشه گیاه شیرین‌بیان (*Glycyrrhiza glabra*) توسط دستگاه کروماتوگرافی با کارایی بالا (HPLC). **فصلنامه گیاهان دارویی** ۱۴: ۱۳-۱. جهان‌شیر، ش.، کریم، ک.، سعید، م. پ.، و محمدهادی، م. ا. (۱۳۸۳). اثرات سه اسانس گیاهی روی فعالیت‌های زیستی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات (*Callosobruchus maculatus* F) (Coleoptera: Bruchidae) **علوم کشاورزی ایران**. ۳۴(۴): ۹۶۵-۹۷۲.

حاجی مهدی پور، ه، امن زاده، ی، حسنلو، ط، شکرچی، م، عابدی، ز و پیر علی همدانی، م (۱۳۸۷) بررسی کیفیت ریشه‌های شیرین‌بیان جمع‌آوری رویشگاه شده از ایران‌های مختلف. **فصلنامه گیاهان دارویی**، ۷(۳): ۱۴-۱۰۶.

رستمی جیوان، ن.، حجازی، م.، و کریم زاده، ر. (۱۳۹۵). تأثیر عصاره ی پنج گونه‌ی گیاهی روی لاروهای سن دوم سوسک کلرادوی سیب‌زمینی (*Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae) **پژوهش‌های کاربردی در گیاهپزشکی**، ۶(۱)، ۸۷-۹۹.

رفیعی دستجردی، د.، ه.، اسماعیل پور، د.، ب.، گلی زاده، د.، رزمجو، د.، و حسن پور، د. (۱۳۹۳). بررسی اثرات حشره‌کشی اسانس‌های گیاهان دارویی مرزه، ریحان، پونه و نعناع و عصاره‌های شاه تره، از مک و شیرین‌بیان روی بید سیب‌زمینی.

رفیعی کرهرودی، ز.، سیفی، ف.، و رهبرپور، ع. (۱۳۸۹). بررسی اثر سمیت تنفسی پنج گیاه دارویی روی سه گونه آفت انباری، *فصلنامه گیاهپزشکی*، ۳(۲): ۱۹۷-۲۰۷.

رفیعی کرهرودی، ز.، محرمی پور، س.، فرازمند، ح.، و کریمزاده اصفهانی، ج.، ۱۳۸۸. بررسی اثراسانس ۱۸ گیاه دارویی بر شاخص‌های تغذیه‌ای لارو شب‌پره هندی (*Pludia interpunctella* Hubner (Lep., Pyralidae) *تحقیقات حشره‌شناسی*. ۱(۳): ۲۰۹-۲۱۹.

روزدار، ا.، حبیب پور، ب.، مصدق، م.، س.، و محمودی سורستانی، م. (۱۳۹۸). بررسی اثرات زیستی اسانس ۱۴ گونه گیاهی روی شپشک آردآلود پنبه (*Phenacoccus solenopsis* Tinsley (Hem.: Pseudococcidae) در شرایط آزمایشگاهی. *گیاه پزشکی*، ۴۲(۳)، ۷۱-۸۶.

روزدار، ا.، حبیب پور، ب.، مصدق، م.، و محمودی سورستانی، م. (۱۳۹۹). اثرات کشندگی اسانس‌های گیاهی فرموله شده روی شپشک آرد آلود پنبه (*Phenacoccus solenopsis* (Hem.: Pseudococcidae) در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه‌ای. *پژوهش‌های کاربردی در گیاهپزشکی*، ۹(۳)، ۱۱-۲۷.

زمانی، م.، عباسی پور، ح.، گودرزوند چگینی، س.، (۱۳۹۶). بررسی اثر حشره کشی آویشن دناپی (*Thymus daenensis* Celak)، نعنای فلفلی (*Mentha pipertia* L.) و پونه کوهی (*Mentha longifolia* L.) روی شته جالیز *Aphis gossypii* پنجمین کنفرانس بین المللی پژوهش‌های کاربردی درعلوم کشاورزی.

صالحی، ف.، سمیع، م.، و وکیلی، م. (۱۳۹۳). اثر کشنده عصاره چند گیاه دارویی روی پسیل معمولی پسته (*Agonoscena pistaciae* Burkhardt and Lauterer (Hem:Aphalaridae) ضیایی، م.، ندیمی، ع.، و گنجی، ز. ۱۳۹۴. تأثیر دما بر سمیت بخور زیره سبز و فعالیت حرکتی بزرگسالان *Sitophilus granarius* و *Tribolium confusum*. *گیاه پزشکی (مجله علمی کشاورزی)*، ۳۸(۲): ۹۱-۱۰۲.

عبدالملکی، م.، بهرامی‌نژاد، ص.، و عباسی، س. (۱۳۹۰). بررسی اثرات ضدقارچی عصاره‌های برخی گیاهان علیه چهار قارچ بیماری‌زای گیاهی، *فصلنامه گیاهان دارویی*، ۳۸(۲): ۱۴۸-۱۵۵.

عجم حسنی، م. (۱۴۰۰). تأثیر عصاره اتانولی گیاهان آنغوزه (*Ferula assa-foetida* L.) و به‌لیمو (*Aloysia citriodora* Ort. et Palav.) بر تلفات و برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک لارو بید آرد (*Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae)). *تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران*.

عیوضیان کاری، ن. (۱۳۸۰). ارزیابی آزمایشگاهی افزودن مخمر نان به رژیم‌های غذایی لارو و تغذیه بزرگسالان از غلظتهای قند در پروانه بید آرد مدیترانه‌ای، *Ephestia kuehniella* Zeller و اثرات آن بر

برخی از خواص بیولوژیکی پروانه، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، ۸۳ صفحه.

فتحی، س، صادقی، الف، معروفپور، م. (۱۳۹۹). بررسی خاصیت حشره کشی اسانس صمغ بنه *Pistacia atlantica* sub *sp. kurdica* (Zohary) روی بید سیبزمینی *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae) (مجله زیست شناسی ایران).

نصیری اصل، م و حسین زاده، ح (۱۳۸۵). مروری بر اثرات ضد ویروسی شیرین بیان *Glycyrrhiza glabra* و ترکیبات موثره آن گلیسیریزین. **فصلنامه گیاهان دارویی** ۶(۲): ۱-۱۲.

نوری قنبلانی، ق.، تقی زاده ساروکلایی، ا. و رفیعی، ه. (۲۰۱۶). تاثیر اسانس های گیاهان دارویی مرزه، *Satureja hortensis*، ترخون، *Artemisia dracunculus* L. و آویشن باغی، *Thymus vulgaris* L. بر شاخص های تغذیه ای سوسک کلرادوی سیبزمینی، *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). **پژوهش های کاربردی در گیاه پزشکی**، ۵(۱)، ۲۲۹-۲۴۳.

یزدانیان، م.، طالبی چایچی، پ. و حداد ایرانی نژاد ک. (۱۳۷۹). بررسی نشو و نما شب پره مدیترانه ای *Ephestia kuehniella* در پرورش های آن بر روی چند رژیم غذایی تهیه شده از آرد و سبوس گندم. **دانش کشاورزی**، ۱۰(۳): ۳۵-۴۸.

Agrafioti, P., & Athanassiou, C. G. (2018). Insecticidal effect of contact insecticides against stored product beetle populations with different susceptibility to phosphine. *Journal of Stored Products Research*, 79, 9-15.

Ajamhassani, M. (2015). Study on morphology and abundance of hemocytes in spurge hawk moth *Hyles euphorbiae* Linnaeus (Lepidoptera: Sphingidae). *Plant Protection (Scientific Journal of Agriculture)*, 38(3), 49-62.

Ajamhassani, M. (2019). Study on morphology and frequency of hemocytes in *Osphranteria coerulescens* (Redt) (Coleoptera: Cerambycidae) and *Zeuzera pyrina* L. (Lepidoptera: Cossidae) larvae, two wood boring insects of Iran. Accepted in *Iranian Journal of Forest and Range Protection Research*, 17(2): 96-106.

Ajamhassani, M., Jalali Sendi, J., Zibae, A., Askary, H., & Farsi, M. J. (2013). Immunological responses of *Hyphantria cunea* (Drury) (Lepidoptera: Arctiidae) to entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Bals.-Crisp) and *Isaria farinosae* (Holmsk.) FR. *Journal of Plant Protection Research*, 53(2): 110-118.

Alkan, M., Gokce, A., & Kara, K. (2015). Antifeedant activity and growth inhibition effects of some plant extracts against larvae of Colorado potato beetle [*Leptinotarsa decemlineata* Say (Col.: Chrysomelidae)] under laboratory conditions. *Turkiye Entomoloji Dergisi*, 39: 345-353.

Arlian, L. G., & Platts-Mills, T. A. E. (2001). The biology of dust mites and the remediation of mite allergens in allergic disease. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 107(3), S406–S413 .

Arthur, F. H., & Flinn, P. W. (2000). Aeration management for stored hard red winter wheat: simulated impact on rusty grain beetle (Coleoptera: Cucujidae) populations. *Journal of economic entomology*, 93(4), 1364-1372..

Ashida, M., & Brey, P. T. (1995). Role of the integument in insect defense: pro-phenol oxidase cascade in the cuticular matrix. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(23), 10698-10702.

Azimi, A. A, Delnavaz, H. B. & Mansour, G. A. 2006. Antifungal effect of aqueous alcoholic and phenolic extracts of seed and leaves of Sorghum bicolor against Fusarium solani, Fusarium poa in Persian. *Medical Plants* 6(1): 26–32.

Baghban, A., Jalali Sendi, J., Zibae, A., & Khosravi, R. (2014). Effect of heavy metals (Cd, Cu, and Zn) on feeding indices and energy reserves of the cotton boll worm *Helicoverpa armigera* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Plant Protection Research*, 54(4): 367-373.

Banville, N., Browne, N., & Kavanagh, K., (2012). Effect of nutrient deprivation on the susceptibility of *Galleria mellonella* larvae to infection. *Virulence*. 3(6), PP: 497-503.

Bao, Y., Yamano, Y. & Morishima, I. (2007). Induction of hemolin gene expression by bacterial cell wall components in eri-silkworm, *Samia cynthia ricini*. *Molecular Biology*, 146: 147–151.

Batta, Y. A., & Kavallieratos, N. G. (2018). The use of entomopathogenic fungi for the control of stored-grain insects. *International Journal of Pest Management*, 64(1), 77-87.

Bett, P., Deng, A., Ogendo, J., Kariuki, S., Kamatenesi-Mugisha, M., Mihale, J., & Torto, B. (2016). Chemical composition of *Cupressus lusitanica* and *Eucalyptus saligna* leaf essential oils and bioactivity against major insect pests of stored food grains. *Industrial Crops and Products*, 82: 51-62.

Bett, P., Deng, A., Ogendo, J., Kariuki, S., Kamatenesi-Mugisha, M., Mihale, J., & Torto, B. (2017). Residual contact toxicity and repellence of *Cupressus lusitanica* Miller and *Eucalyptus saligna* Smith essential oils against major stored product insect pests. *Industrial Crops and Products*, 110: 65-74.

Bolandnazar, A., Ghadamyari, M., Memarzadeh, M., & Jalali Sandi, J. (2018). Repellent and lethal effect of essential oils of rosemary, peppermint and eucalyptus and thyme extract, formulated as nano- and microemulsions, on *Bemisia tabaci* (Homoptera:Aleyrodidae) under greenhouse condition. *Journal of Entomological Society of Iran*, 38(1), 81–97.

Borges, A.R., Santos, P.N. Furtado, A.F. and Figueiredo, R.C. 2008. Phagocytosis of

latex beads and bacteria by hemocytes of the triatomine bug *Rhodnius prolixus* (Hemiptera: Reduviidae). ***Micron***, 39: 486-49.

Bouzeraa, H., Bessila-Bouzeraa, M., & Labed, N. (2019). Repellent and fumigant toxic potential of three essential oils against *Ephestia kuehniella*. ***Biosystems diversity***, 27(4): 349-353.

Bulet, P. & Stöcklin, R. (2005). Insect antimicrobial peptides: structures, properties and gene regulation. ***Protein Pept Lett***, 12(1): 3-11.

Bulet, P., & Stocklin, R. (2005). Insect antimicrobial peptides: structures, properties and gene regulation. ***Protein and peptide letters***, 12(1), 3-11.

De Castro, M. L., & Garcia-Ayuso, L. E. (1998). Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. ***Analytica chimica acta***, 369(1-2), 1-10.

Cerenius, L., & Soderhall, K. (2004). The prophenol-oxidase-activating system in invertebrates. ***Immunological Rev.*** 198: 116–126.

Cerenius, L., Lee, B. L., & Söderhäll, K. (2008). The proPO-system: pros and cons for its role in invertebrate immunity. ***Trends in immunology***, 29(6), 263-271.

Coles, J. A., Farley, S. R., & Pipe, R. K. (1995). Alteration of the immune response of the common marine mussel *Mytilus edulis* resulting from exposure to cadmium. ***Diseases of Aquatic Organisms***, 22(1), 59-65.

Ghoneim, K. (2018). Disturbed hematological and immunological parameters of insects by botanicals as an effective approach of pest control: A review of recent progress. ***South Asian. J. Exp. Biol.*** 1, 112-144.

Correia, A.A. (2008). Histofisiologia do canal alimentar e hemócitos de *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) tratadas com nim (*Azadirachta indica* A. Juss). Dissertation, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Cox, P. D. (2004). Potential for using semiochemicals to protect stored products from insect infestation. ***Journal of Stored Products Research***, 40(1), 1-25.

Daglish, G. J., Holloway, J. C., & Nayak, M. K. (2013). Implications of methoprene resistance for managing *Rhyzopertha dominica* (F.) in stored grain. ***Journal of Stored Products Research***, 54, 8-12.

Darnahal, E. Jamshidi. M., Jafarlou. M., & Hasheminia. S. (2020). Insecticidal and repellent effects of essential oils from different parts of *Achillea millefolium* against adult of *Oryzaephilus surinamensis* L. (Coleoptera, Silvanidae).

Dyar, H. G. 1890. The number of molts of lepidopterous larvae. ***Psyche*** 5: 420–422.

Dhen, N., Majdoub, O., Souguir, S., Tayeb, W., Laarif, A., & Chaieb, I. (2014). Chemical composition and fumigant toxicity of *Artemisia absinthium* essential oil against *Rhyzopertha dominica* and *Spodoptera littoralis*. *Tunisian Journal of Plant Protection*, 9(1): 57-61.

Dobovskiy, I. M., Grizanov, E.V., Ershova, N.S., Rantala, M. J. & Glupov, V. V. (2011). The effect of dietary nickel on detoxification enzymes, innate immunity and resistance to the fungus *Beauveria bassiana* in the larvae of the greater wax moth *Galleria mellonella*. *Journal of Chemosphere*, 85: 92-96.

Doymaz, I. (2006). Thin-layer drying behavior of mint leaves. *Journal of Food Engineering*, 74: 370-375.

Duarte, J. P., Silva, C. E., Ribeiro, P. B., & Cárcamo, M. C. (2019). Do dietary stresses affect the immune system of *Periplaneta americana* (Blattaria: Blattellidae)? *Brazilian Journal of Biology*, 80(1), 73–80.

Ebrahimi, M. & Ajamhassani, M., (2020). Investigating the effect of starvation and various nutritional types on the hemocytic profile and phenoloxidase activity in the Indian meal moth *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). *Invertebrate Survival Journal*, 17: 175-185.

Abd El-Aziz, S. E. (2011). Control strategies of stored product pests. *J. Entomol*, 8(2), 101-122.

Enger R, Dukefoss D. B, Tang W, Pettersen K. H, Bjørnstad D. M, Helm P. J, Jensen V, Sprengel R, Vervaeke K, Ottersen OP, et al. . (2017). Deletion of aquaporin-4 curtails extracellular glutamate elevation in cortical spreading depression in awake mice. *Cereb Cortex*. 27:24–33.

Flinn, P. W., Subramanyam, B., & Arthur, F. H. (2004). Comparison of aeration and spinosad for suppressing insects in stored wheat. *Journal of economic entomology*, 97(4), 1465-1473.

Gaire, S., O'Connell, M., Holguin, F. O., Amatya, A., Bundy, S., & Romero, A. (2017). Insecticidal Properties of Essential Oils and Some of Their Constituents on the Turkestan Cockroach (Blattodea: Blattellidae). *Journal of Economic Entomology*, 110(2), 584–592

Gaire, S., Scharf, M. E., & Gondhalekar, A. D. (2020). Synergistic Toxicity Interactions between Plant Essential Oil Components against the Common Bed Bug (*Cimex lectularius* L.). *Insects*, 11(2), 133-140.

Ghasemi, V., Khoshnood Yazdi, A., Zaker Tavallaie, F., & Jalali Sendi, J. (2014). Effect of essential oils from *Callistemon viminalis* and *Ferula gummosa* on toxicity and on the hemocyte profile of *Ephestia kuehniella* (Lep.: Pyralidae). *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 47, 268-278.

Ghasemi, V., Moharramipour, S., & Jalali Sendi, J. (2013). Circulating hemocytes of Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zell. (Lep: Pyralidae) and their response to thermal stress. *Invertebrate Survival Journal*, 10: 128-140.

Ghoneim, K. Disturbed hematological and immunological parameters of insects by botanicals as an effective approach of pest

Guleria, S., & Tikku, A. K. (2009). Botanicals in Pest Management, Current Status and Future Perspectives. Pp. 317-329 In: Rajinder P and Ashok KD (eds.), Integrated Pest Management: Innovation-Development Process. Springer Netherlands

Gupta, A. P. (1979). Insect hemocytes: development, forms, functions and techniques. New York (NY): Cambridge University Press; p. 628.

Gupta, A. P. (1991). Insect immunocytes and other hemocytes: roles in cellular and humoral immunity” In: Gupta, A.P. (Ed.), Immunology of Insects and Other Arthropods. CRC Press, Boca Raton, pp. 19-118.

Gustavsson, J., Cederberg, C., & Sonesson, U. (2011). Global Food Losses and Food Waste.

Hagstrum, D. W., & Flinn, P. W. (2014). Modern stored-product insect pest management. *Journal of Plant Protection Research*, 54(3), 205-210.

Hallman, G. J. (2013). Control of stored product pests by ionizing radiation.

Haque, M. A., Nakakita, H., Ikenaga, H., and Sota, N. (2000). Development-inhibiting activity of some tropical plants against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Stored Products Research*, 36(3), 281–287.

Hatami A. Mohammadi D. Evazian N. 2020. Lethal Effects and Oviposition Deterrence of Celery, *Apium graveolens*, and Sickwheat, *Falcaria vulgaris*, Against the Potato Tuber Moth, *Phthorimaea operculella* in laboratory conditions.

Hernandez Nopsa, J. F., Daglish, G. J., Hagstrum, D. W., Leslie, J. F., Phillips, T. W., Scoglio, C., ... & Garrett, K. A. (2015). Ecological networks in stored grain: Key postharvest nodes for emerging pests, pathogens, and mycotoxins. *BioScience*, 65(10), 985-1002.

Heydarzade, A., Valizadegan, O., Negahban, M., & Mehrkhou, F. (2019). Efficacy of *Mentha spicata* and *Mentha pulegium* essential oil nanoformulation on mortality and physiology of *Tribolium castaneum* (Col.: Tenebrionidae). *Journal of Crop Protection*, 8(4): 501-520.

Hillyer, J. F. (2016). Insect immunology and hematopoiesis. *Developmental and Comparative Immunology*, 58, 102–118 .

Horowitz AR, (2009). Biorational Control of Arthropod Pests: Application and Resistance Management. Springer, Dordrecht. 20:1-20.

Huang Y., & Ho S.H. (1998). Toxicity and antifeedant activity of cinnamaldehyde against the grain storage insects, *Tribolium castaneum* and *Sitophilus zeamais*. *Journal of Stored Products Research*, 34: 11-17.

Huang, F., Yang, Y. Y., Shi, M., Li, J. Y., Chen, Z. Q., Chen, F. S., & Chen, X. X., 2010. Ultrastructural and functional characterization of circulating hemocytes from *Plutella xylostella* larva: cell types and their role in phagocytosis. ***Tissue and Cell***, 42(6), PP: 360-364.

Huang, Y., Lam, S. L., & Ho, S. H. (2000). Bioactivity of essential oil from *Elletaria cardamomum* (L.) Maton. to *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium castaneum* (Herbst). ***Journal of Stored Products Research***, 36: 107-117.

Huang, Y., Tan, J. M. W. L., Kini, R. M., & Ho, S. H. (1997). Toxic and antifeedant action of Nutmeg oil against *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Motsch. ***Journal of Stored Products Research***, 33: 289-298.

Imanshahidi, M. & Hosseinzadeh, H. (2006). The pharmacological effect of *Salvia* species on the central nervous system. ***Phytotherapy Research***, 20(6): 427-437.

Immarju, J. A. (1998). The commercial use of azadirachtin and its integration into viable pest control programs. ***Pesticide Science***, 54: 285-289.

Iserin, P., Masson, M., Restellini, J. P., Ybert, E., De Laage de Meux, A., Moulard, F., ... & Botrel, A. (2001). Larousse des plantes médicinales identification, préparation, soins. *Editions Larousse, Paris*, 15.

Isikber, A. A., & Athanassiou, C. G. (2015). The use of ozone gas for the control of insects and micro-organisms in stored products. ***Journal of Stored Products Research***, 64, 139-145.

Isman, M. B. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. ***Crop Protection***, 19 (8–10): 603-608.

Jones, J. C. (1962) Current concepts concerning insect hemocytes. ***American Zoologist*** 2, 209-246.

Jurat-Fuentes, J. L., & Jackson, T. A. (2012). Bacterial entomopathogens. ***Insect pathology***, 265-349.

Kanost MR (2007) Serpins in a lepidopteran insect, *Manduca sexta*. Molecular and Cellular Aspects of the Serpinopathies and Disorder in Serpin Activity (ed. by GA Silverman and DA Lomas), pp. 229–242. World Scientific Publishing, Hackensack, NJ, USA.

Karaborklu, S., Ayvaz, A., Yilmaz, S., and Akbulut, M. 2011. Chemical composition and fumigant toxicity of some essential oils against *Ephestia kuehniella*. ***Journal of Economic Entomology***, 104(4): 1212-1219.

Kazemi, M., Roshandel, P. and Rafiei, M. (2017). Evaluation of allelopathic potential of six medicinal plants on some physiological and biochemical characteristics of *beta vulgaris* and its two important weeds. ***Journal of Plant Process and Function***, 6(21): 65-79.

Kempraj, V., and Bhat, S. K. (2008). Ovicidal and larvicidal activities of *Cyperus giganteus* and *Cyperus rotundus* Linn. essential oils against *Aedes albopictus* (Skuse). ***Natural Product Radiance***, 7(5): 416-419.

Khan, T., Shahid, A. A., & Khan, H. A. A. (2016). Could biorational insecticides be used in the management of aflatoxigenic *Aspergillus parasiticus* and its insect vectors in stored wheat?. ***PeerJ***, 4, e1665.

Khani, M., Marouf, A., Amini, S., Yazdani, D., Farashiani, M., Ahvazi, M., Khalighi-Sigaroodi, F., and Hosseini-Gharalari, A. 2017. Efficacy of three herbal essential oils against rice weevil, *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). ***Journal of Essential Oil Bearing Plants***, 20(4): 937-950.

Khanikor, B. & Bora, D., 2012. Effect of plant based essential oil on immune response of silkworm, *Antheraea assama* Westwood (Lepidoptera: Saturniidae). ***International Journal of Industrial Entomology***, 25(2): 139-146.

Khater, H. F. (2012). Ecosmart biorational insecticides: alternative insect control strategies. ***Advances in integrated pest management***, 17-60.

Kheirkhah, M., Ghasemi, V., Yazdi, A., & Rahban, S. (2015). Chemical composition and insecticidal activity of essential oil from *Ziziphora clinopodioides* Lam. used against the Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller. ***Journal of Plant Protection Research***, 55(3): 260-265.

Khoobdel, M., Ahsaei, S. M., & Farzaneh, M. (2017). Insecticidal activity of polycaprolactone nanocapsules loaded with *Rosmarinus officinalis* essential oil in *Tribolium castaneum* (Herbst). ***Entomological research***, 47(3), 175-184.

Khoobdel M., Ma'rouf A., Farajzadeh D., Vatani H., Riazipour M., & Joneydi N. (2011). Abundance and diversity of pest arthropods in stored cereals in a military unit. ***Journal Mil Med***, 13(2), 81-87 .

Kiran, S. R., Reddy, A. S., Devi, P. S., & Reddy, K. J. (2006). Insecticidal, antifeedant and oviposition deterrent effects of the essential oil and individual compounds from leaves of *Chloroxylon swietenia*. *Pest Management Science*, 62: 1116-1121.

Korunić, Z. (2013). Diatomaceous Earths-Natural Insecticides. *Pestic. Phytomed.* (Belgrade), 28(2), 77-95.

Koul, O., Walia, S., & Dhaliwal, G. S. (2008). Essential oils as green pesticides: potential and constraints. ***Biopesticides international***, 4(1), 63-84.

Kovanci, O. (2016). Feeding and oviposition deterrent activities of microencapsulated cardamom oleoresin and eucalyptol against *Cydia pomonella*. ***Chilean Journal of Agricultural Research***, 76(1): 62-70.

Kumar, R. (2017). *Insect pests of stored grain: Biology, behavior, and management strategies*. Apple Academic Press.

Kumar, P., Mishra, S., Malik, A., & Satya, S. (2011). Repellent, larvicidal and pupicidal properties of essential oils and their formulations against the house fly, *Musca domestica*. ***Medical and Veterinary Entomology***, 25(3): 302-310.

Kuzma, L., Skrzyzpek, Z. & Wysokinska H. (2006). Diterpenoids and triterpenoids in hairy roots of *Salvia sclarea*. *PCTOC*, 84(2):171-9.

Lavine, M. D., & Strand, M. R. (2002). Insect hemocytes and their role in immunity. ***Insect Biochemistry and Molecular Biology***, 32(10), 1295–1309.

Lee, C., Sung L., & Lee, H. (2006). Acaricidal activity of fennel seed oils and their main component against *Thyrophagus putrescentiae* a stored food mite. ***Journal of Stored Products Research***, 42: 8 – 14.

Leonard, C., Söderhäll, K., & Ratcliffe, N. A., (1985). Studies on prophenoloxidase and protease activity of *Blaberus craniifer* haemocytes. ***Insect Biochemistry***, 15(6), PP: 803-810.

Li, T., Yan, D., Wang, X., Zhang, L., & Chen, P. (2019). Hemocyte changes during immune melanization in *Bombyx mori* infected with *Escherichia coli*. ***Insects***, 10(9), 301.

Ling, E., & Yu, X. Q. (2005). Prophenoloxidase binds to the surface of hemocytes and is involved in hemocyte melanization in *Manduca sexta*. ***Insect biochemistry and molecular biology***, 35(12), 1356-1366.

Ling, E., Shirai, K., Kanehatsu, R. & Kiguchi, K., (2004). Reexamination of phenoloxidase in larval circulating hemocytes of the silkworm, *Bombyx mori*. ***Tissue and Cell***, 37: 101–107.

Liu, Z. L., Yu, M., Li, X. M., Wan, T., & Chu, S.h. (2011). Repellent activity of eight essential oils of Chinese medicinal herbs to *Blattella germanica* L. ***Record of Natural Products***, 5(3): 176-183.

Liu, Z.L. & Ho, S.H., 1999. Bioactivity of the essential oil extracted from *Evodia rutaecarpa* Hook f. and Thomas against the grain storage insects, *Sitophilus zeamais* Motsch. and *Tribolium castaneum* (Herbst). ***Journal of Stored Products Research***, 35(4): 317-328.

Locatelli, D. P., Limonta, L., & Stampini, M. (2008). Effect of particle size of soft wheat flour on the development of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). ***Journal of Stored Product Research***, 44: 269-272.

Mahmood, A., & Yousaf, M., 1985. Effect of some insecticides on the hemocytes of *Gryllus bimaculatus* de Geer. ***Pakistan Journal of Zoology***, 17, PP: 71-84.

Malacrinò, A., Campolo, O., Laudani, F., & Palmeri, V. (2016). Fumigant and repellent activity of limonene enantiomers against *Tribolium confusum* du Val. ***Neotropical Entomology***, 45(5): 597-603.

Manjula P. Lalitha K. Vengateswari, G. Patil, J. Senthil S. N. & Shivakumar, M. S. 2020. Effect of *Manihot esculenta* (Crantz) leaf extracts on antioxidant and immune system of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). ***Biocatalysis and Agricultural Biotechnology***, 23: 1-9.

Mohandass, S., Arthur, F. H., Zhu, K. Y., & Throne, J. E. (2007). Biology and management of *Plodia interpunctella* (Lepidoptera: Pyralidae) in stored products. ***Journal of Stored Products Research***, 43(3), 302-311.

Mondal, K. A. M. S. H., & Parween, S. (2000). Insect growth regulators and their potential in the management of stored-product insect pests. ***Integrated Pest Management Reviews***, 5(4), 255-295.

Murray, M. T. (1995). The healing power of herbs: The enlightened person's guide to the wonders of medicinal plants. ***Rocklin, CA, Prima Pub***, 14, 410.

Nagaraju, A., Babu, T., & Babu, B. (2017). Standardization of X-ray radiography methodology for the detection of hidden insect infestation in different varieties of groundnut. ***Environment and Ecology***, 35(4A), 2891-96.

Nakahara, Y., Kanamori, Y., Kiuchi, M., & Kamimura, M. (2003). In vitro studies of hematopoiesis in the silkworm: cell proliferation in and hemocyte discharge from the hematopoietic organ. ***Journal of Insect Physiology***, 49(10), 907-916.

Nardi, J. B., Pilas, B., Ujhelyi, E., Garsha, K. & Kanost, M. R. 2003. Hematopoietic organs of *Manduca sexta* and hemocyte lineages. ***Development Genes and Evolution***, 213: 477-491.

Nouri Ganbalani, G., Teimouri Bilehsavar, A., Rfide Dastgerdi, H., Mardani Talaei, M., & Mansouri, S. M. (2020). The effects of plant extracts from eucalyptus, lemon balm, soapwort and Persian hogweed against *Phthorimaea operculella* (Zeller) under laboratory conditions. ***Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)***, 33(1), 189-201.

Oftadeh, M., Sendi, J. J., & Ebadollahi, A. (2020). Toxicity and deleterious effects of *Artemisia annua* essential oil extracts on mulberry pyralid (*Glyphodes pyloalis*). ***Pesticide Biochemistry and Physiology***, 170, 104702.

Pandey, S., Pandey, J. P., & Tiwari, R. K. (2012) Effect of Some Botanicals on Hemocytes and Molting of *Papilio demoleus* Larvae. ***Journal of Entomology*** 9: 23-31.

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

Pavela, R. (2006). Insecticidal activity of essential oils against cabbage aphid *Brevicoryne brassicae*. *Jeobp*, 9(2): 99-106.

Pavela, R. (2012). Sublethal effects of some essential oils on the cotton leaf worm *Spodoptera littoralis* (Boisduval). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 15: 144-156.

Phillips, T. W., & Throne, J. E. (2010). Biorational approaches to managing stored-product insects. *Annual review of entomology*, 55, 375-397.

Rafiei-Kahroodi, Z., Moharamipour, S., Farazmand, H. & Karimzadeh-Esfahani, J. (2011). Insecticidal effect of six native medicinal plants essential oil on Indian meal moth, *Plodia interpunctella* Hubner (Lepidoptera: Pyralidae). *Munis Entomology and Zoology Journal*, 6: 339-345.

Rahimi, V., Hajizadeh, J., Zibae, A., & Sendi, J. J. (2019). Changes in immune responses of *Helicoverpa armigera* Hübner followed by feeding on Knotgrass, *Polygonum persicaria* agglutinin. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 101(1), e21543.

Rajapakse, R. H. S. (2006). The potential of plants and plant products in stored insect pest management. *The Journal of Agricultural Sciences* 2(1): 11-21.

Rajapakse, R. H. S. (2006). The potential of plants and plant products in stored insect pest management.

Rajendran, S. (2005). Detection of insect infestation in stored foods. *Advances in food and nutrition research*, 49, 163-232.

Rajendran, S., & Sriranjini, V. (2008). Plant products as fumigants for stored-product insect control. *Journal of Stored Products Research*, 44(2), 126–135.

Rees D, Subramanyam B, Hagstrum D. Integrated management of insects in stored products. Marcel Dekker, NewYork–Basel–Hong Kong; 1996.

Regnault-Roger, C., (1997). The potential of botanical essential oils for insect pest control, *Integrated Pest Management Review*, 2,: 25- 34.

Ribeiro, C., & Brehe´lin. M. (2006). Insect haemocytes: what type of cell is that? *J. Insect Physiol.* 52: 417–429.

Rice P. J., & Coats, J. R. (1994). Insecticidal properties of several monoterpenoids to the housefly (Diptera: Muscidae), red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae), and southern corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology*, 87: 1172-1179.

Rozman, V., Kalinovic, I., & Korunic, Z. (2007). Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. *Journal of stored products research*, 43(4), 349-355.

Rumbos, C. I., Dutton, A. C., Tsiropoulos, N. G., & Athanassiou, C. G. (2018). Persistence and residual toxicity of two pirimiphos-methyl formulations on wheat against three stored-product pests. *Journal of Stored Products Research*, 76, 14–21.

Saboora, A., Pourbarat, F., & Fallah, H. H. (2014). Comparison of different extraction methods for optimizing antioxidant compounds in *origanum majorana* L.

Sadeghi, R., & Jamshidnia, A. (2014). Effects of nitrogen and carbon dioxide mixtures on the mortality of five stored-product insects. *Romanian Journal of Plant Protection*, 7, 56-64.

Sadeghi, R., Hadizadeh Raeisi, N. & Jamshidnia, A., (2017). Immunological responses of *Sesamia cretica* to *Ferula ovina* essential oil. *Journal of Insect Science*, 17(1): 1-5.

Saha, T., & Chandran, N. (2017). Chemical ecology and pest management: A review. *Int J Chem Stud*, 5(6), 618-21.

Sahaf, B.Z. & Moharramipoor, S., (2008). Comparative investigation on oviposition deterrence of essential oils from *Carum copticum* C.B. Clarke and *Vitex pseudo-negundo* on *Callosobruchus maculatus* (Hausk) Hand. I. MZT. on laboratory. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 23: 385-395.

Sajfrtova, M., Rochova, K., Karban, J., Sovova, H., & Pavela, R. (2009). Insecticide activity of peppermint and lavender extracts isolated by different methods. *Planta Medica*. 75: 92-105.

Samir, A., Abdelgaleil, M., & El-Sabrou, A. M. (2018). Anti-nutritional, antifeedant, growth-disrupting and insecticidal effects of four plant essential oils on *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Crop Protection*, 7 (2): 135-150.

Sauer, J. A., & Shelton, M. D. (2002). High-temperature controlled atmosphere for post-harvest control of indian meal moth (Lepidoptera: Pyralidae) on preserved flowers. *Journal of economic entomology*, 95(5), 1074-1078.

Scheff, D. S., Subramanyam, B., Arthur, F. H., & Dogan, H. (2018). *Plodia interpunctella* and *Trogoderma variabile* larval penetration and invasion of untreated and methoprene-treated foil packaging. *Journal of Stored Products Research*, 78, 74-82.

Scheff, D. S., Subramanyam, B., & Arthur, F. H. (2017). Susceptibility of *Tribolium castaneum* and *Trogoderma variabile* larvae and adults exposed to methoprene-treated woven packaging material. *Journal of Stored Products Research*, 73, 142-150.

Schrire B. (2005). Biogeography of the Leguminosae. *Legumes of the world*.2:21-54.

Serna-Saldivar SO. Cereal grains: laboratory reference and procedures manual: CRC Press; 2012. 4. Hagstrum DW, Phillips TW, Cuperus G. Stored product protection. Kansas State University, KSRE Publ S–156. 2012.

Shankar, U., & Abrol, D. P. (2012). Integrated pest management in stored grains. Integrated Pest Management: *Principles and Practice*, 386–407.

Sharma, P.R., Sharma, O.P. & Saxena, B.P., (2003). Effect of neem gold on haemocytes of the tobacco armyworm, *Spodoptera littura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae). *Current Science*, 84: 690-695.

Sharma, P.R., Sharma, O.P., & Saxena, B. P. (2008). Effect of sweet flag rhizome oil (*Acorus calamus*) on hemogram and ultrastructure of hemocytes of the tobacco armyworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Micron*, 39: 544-551.

SHOJAADDINI, M., ABAD, R. F. P., NEJAD, K. H. İ., & MOHAMMADI, S. A. (2005). Çiğ ve kavrulmuş antepfıstığı taneleri üzerinde değişik fotoperiyotlarda yetiştirilen *Plodia interpunctella* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae)'nın bazı biyolojik özellikleri. *Türkiye Entomoloji Dergisi*, 29(4), 279–287.

Silva, W. A. P. P., Manuweera, G. K., & Karunaratne, S. H. P. P. (2008). Insecticidal activity of *Euphorbia antiquorum* L, latex and its preliminary chemical analysis, *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 36: 15-23.

Siva-Jothy, M. T., Y. Moret, & Rolff. Y. (2005). Insect immunity: an evolutionary ecology perspective. *Advances in Insect Physiology* 32:1–48.

Smith, C. M. (Ed.). (2005). *Plant resistance to arthropods: molecular and conventional approaches*. Dordrecht: Springer Netherlands.

Söderhäll, K. & Cerenius, L. (1998). Role of the prophenoloxidase-activating system in invertebrate immunity. *Current opinion in immunology*, 10(1): 23-28.

Srinivasan, A., Giri, A.P., Harsulkar, A.M., Gatehouse, J.A., & Gupta, V.S., (2005). A Kunitz trypsin inhibitor from chickpea (*Cicer arietinum* L.) that exerts anti-metabolic effect on podborer (*Helicoverpa armigera*) larvae. *Plant Molecular Biology* 57, 359–374.

Stanley, D. W., & Miller, J. S. (2006). Eicosanoid actions in insect cellular immune functions. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 119(1), 1–13.

Strand, M. R. 2008. The insect cellular immune response. *Insect Science*. 15: 1- 14.

Strand, M. R., & Pech, L. L. (1995). Immunological basis for compatibility in parasitoid-host relationships. *Annual Review of Entomology*, 40, 31–56.

Taarit, M. B., Msaada, K., Hosni, K. & Marzouk, B. (2010). Changes in fatty acid and essential oil composition of sage (*Salvia officinalis* L.) leaves under NaCl stress. *Food Chemistry*, 119(3): 951-956.

Tabadkani, S. M., Khoobdel, M., & Tavakoli, H. R. (2017). Host resistance enhances susceptibility of *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae) to herbal extract of *Echinophora platyloba*. *Entomological Research*, 47(1), 28-34.

Taghizadeh, S. F., Davarynejad, G., Asili, J., Riahi-Zanjani, B., Nemati, S. H., & Karimi, G., 2018a. Chemical composition, antibacterial, antioxidant and cytotoxic evaluation of

the essential oil from pistachio (*Pistacia khinjuk*) hull. *Microbial pathogenesis* 124, 76-81.

Taghizadeh, R., & Mohammadkhani, N., (2016). Feeding deterency of two medicinal plant extracts on *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Crop Protection*, 5,: 529-539.

Talbert, R., & Wall, R. (2012). Toxicity of essential and non-essential oils against the chewing louse, *Bovicola* (Werneckiella) *ocellatus*. *Research in Veterinary Science*, 93(2): 831-835.

Tripathi, A. K., V. Prajapati, N. Verma, J. L. Bahl, R. P. Bansle, & Khanuja, S. P. S. (2002). Bioactivities of the leaf essential oil of *Curcuma longa* on three species of stored – product beetle (Coleoptera). *Journal of Economic Entomology*. 95(1): 183 – 189.

Tsakas, S., & Marmaras, V. J. (2010). Insect immunity and its signalling: an overview. *Invertebrate Survival Journal*, 7(2), 228–238.

Tungjitwitayakul, J. & Tatun, N., 2017. Comparison of biological and biochemical parameters of eri-silkworms, *Samia cynthia ricini* (Lepidoptera: Saturniidae), reared on artificial and natural diets. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5: 314-319.

van Lenteren, J. C., Bolckmans, K., Köhl, J., Ravensberg, W. J., & Urbaneja, A. (2018). Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl*, 63(1), 39-59.

Venter, F., Van Heerden, H., & Hassim, A. (2016). Genotypic diversity of *Bacillus anthracis* from 2014 to 2015 in the Kruger National Park.

Vogelweith, F., Moret, Y., Monceau, K., Thiéry, D., & Moreau, J., (2016). The relative abundance of hemocyte types in a polyphagous moth larva depends on diet. *Journal of insect physiology*, 88,: 33-39.

Xinyi E, Subramanyam B, & Li B. (2017). Efficacy of Ozone against Phosphine Susceptible and Resistant Strains of Four Stored-Product Insect Species. *Insects*,;8(2):42-50.

Yadegariani D, Shakiba AM, Taghizadeh M, Rezaei MB, Gachkar L and Rassoli I. Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. *Phytochem*. 2006; 67: 1249 - 55.

Yamashita, M., & Iwabuchi, K. 2001. *Bombix mori* prohemocytes division and differentiation in individual microcultures. *Journal of Insect Physiology*, 47: 325- 331.

Yeager, J. F. (1945). The blood picture of the southern armyworm (*Prodenia eridania*). *Journal of Agricultural Research*, 71: 1-40.

Younesi, G., Marouf, A., & Khoobdel, M. (2012). Determining of clear and hidden infestation of stored cereals and beans with insect pest in warehouses. *Journal of Military*

Medicine, 14(1), 33-39.

Zha, C., Wang, C., & Li, A. (2018). Toxicities of Selected Essential Oils, Silicone Oils, and Paraffin Oil against the Common Bed Bug (Hemiptera: Cimicidae). *Journal of Economic Entomology*, 111(1), 170–177.

Zibae, A., Bandani, A., Talaei, R., & Malagoli, D. (2011). Cellular immune reactions of the sunn pest, *Eurygaster integriceps*, to the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* and its secondary metabolites. *Journal of Insect Science*, 11: 138. 1-16.

Zibae, A., & Bandani, A. (2010). A study on the toxicity of a medicinal plant, *Artemisia annua* L.(Asteracea) extracts to the sunn pest, *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae). *Journal of Plant Protection Research*.

Zimmermann, G. (2007). Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology*, 17(6), 553-596.

Abstract

Due to the fact that the use of plant extracts and essential oils while being low risk to humans, mammals and nature, are often suggested as suitable alternatives to chemical compounds, so in the present study, the effect of peppermint plant extracts, sage, Licorice and saffron on blood cell profile and nutrition index of Indian moth *Plodia interpunctella* Hubner (Lepidoptera; Pyralidae) in vitro (25 ± 3 ° C, 40 ± 5% relative humidity and 16:10 h light period (darkness and light))) Was examined. The fourth instar larvae of this storage pest were treated with ethanolic extracts of peppermint, sage, licorice and saffron at concentrations of 10, 6 and 20 g / ml in two time intervals of 24 and 48 hours. Immunological results showed that the effect of different extracts of peppermint, sage, licorice and saffron on the number of plasmacytes and granulocytes and the total number of blood cells was significant compared to the control and increased significantly with increasing the concentration of extracts based on the total number of results. Cells in peppermint treatment with concentrations of 20% and 10% and licorice with concentration of 20% in 24 hours and peppermint treatment with concentrations of 20% and 10% and sage with 6% concentration in 48 hours had the highest increase compared to They had control and treatments of peppermint and saffron with concentrations of 6% showed the lowest increase compared to the control and in the number of granulocytes, all extracts in all concentrations compared to the control showed a general increase of up to 20%. Plasmocytes under the effect of peppermint treatment with concentrations of 10% and 20% after 24 hours and peppermint treatment with 20% concentration after 48 hours had the highest increase compared to the control and licorice and saffron treatments with 6% concentration had the highest Showed a decrease compared to the control. According to the evaluations, the concentration of 20% sage showed the highest increase in phenol oxidase activity compared to the control and other treatments were not significantly different from the control.

Also, nutritional indices were examined, a significant difference was observed between the extracts and the control, so that in all treatments compared to the control, a decrease in the relative growth rate was observed and also the relative consumption rate of the extracts was significantly different from the control. All concentrations of peppermint were reduced compared to the control and other treatments were in the same group with the control. The food yield index of the extracts was significantly different from the control and all treatments were reduced compared to the control. In the evaluation of nutritional inhibition index, all extracts were significantly different from the control. The plant extracts used in this study were effective on the biological characteristics of Indian nightshade. So that peppermint and sage extract at a concentration of 20% increased the length of larval period and the same concentration of peppermint extract increased the length of the pupal period. All treatments were effective in pupal weight. The lifespan of adult insects under the influence of treatments and control did not show a significant difference.

Keywords: Indian nightshade, ethanolic extract of peppermint, sage, licorice and saffron, safety, phenol oxidase enzyme, nutrition index, biological characteristics



Shahrood University of
Technology

Faculty of Agriculture

M.Sc.Thesis in Entomology .

Effect of essential oil of *Mentha piperita* and *Salvia officinalis* on hemocytes profile and feeding index of *Plodia interpunctella* Hubner (Lepidoptera:Pyralidae)

By: Zahra Ebrahimizadh Borjghaleh

Supervisor:
Dr. Maryam Ajamhassani

February2022

