

اثر کشندگی عصاره گیاهان بومادران *Achillea millefolium* و فراسیون  
*Phthorimaea operculella* Zeller بر بید سیب‌زمینی *Marrubium vulgare*  
(Lepidoptera, Gelechiidae) در مقایسه با برخی آفت‌کش‌های شیمیایی

داود محمدی<sup>۱\*</sup>، ناصر عیوضیان کاری<sup>۱</sup>، حسن ولی‌زاده<sup>۲</sup> و نازیلا مهین‌الهوردی‌زاده<sup>۱</sup>

۱- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران و ۲- گروه شیمی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران.

\* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mohamadi@azaruniv.ac.ir

#### چکیده

استفاده از ویژگی حشره‌کشی ترکیبات گیاهی، با توجه به امنیت نسبی برای انسان و محیط زیست و کارایی قابل توجه آن‌ها از اهمیت روزافزونی برخوردار است. در این بررسی تاثیر عصاره‌های مختلف گیاهان *Achillea millefolium* L. و *Marrubium vulgare* L. در مقایسه با برخی سموم رایج، روی مرحله لاروی بید سیب‌زمینی مورد مطالعه قرار گرفت. لاروها روی غده‌های سیب‌زمینی در شرایط کنترل شده پرورش یافتند. اندام‌های هوایی گیاهان پس از جمع‌آوری و شستشو، در سایه خشک شده و عصاره‌گیری به روش خیساندن با استفاده از حلال‌های هگزان، اتیل‌استات، متانول و آب انجام شد. برای زیست‌سنجی، برگ‌های تازه سیب‌زمینی در غلظت‌های مختلف عصاره‌ها به مدت ۵ ثانیه غوطه‌ور، سپس ۲۰ دقیقه در مجاورت هوا خشک شده و در اختیار لاروها قرار گرفت. مرگ و میر لاروها پس از ۴۸ ساعت ثبت شد. نتایج نشان داد، عصاره آبی و اتیل‌استاتی *A. millefolium* با LC<sub>50</sub> معادل ۲/۹۶ و ۴۴/۰۳ گرم بر لیتر به ترتیب از بیشترین و کمترین سمیت روی لاروهای سن اول برخوردار بودند. در بررسی حساسیت لاروهای سن دوم مشخص شد، عصاره متانولی *A. millefolium* با LC<sub>50</sub> معادل ۹/۰۳ گرم بر لیتر و عصاره اتیل‌استاتی *M. vulgare* با LC<sub>50</sub> معادل ۳۴/۷۹ گرم بر لیتر به ترتیب بیشترین و کمترین سمیت را داشتند. مقایسه اثرات کشندگی عصاره‌ها با حشره‌کش‌های فن‌والریت، ایمیداکلوپراید و استامی‌پراید نشان داد که سمیت سموم شیمیایی مورد مطالعه بیشتر از عصاره‌های گیاهان مورد بررسی بود. استامی‌پراید با LC<sub>50</sub> معادل ۰/۱۸ و ۰/۳۱ گرم بر لیتر، به ترتیب علیه لاروهای سن اول و دوم، از بیشترین سمیت برخوردار بود ولی پتانسیل نسبی عصاره‌ها با فن‌والریت قابل مقایسه بود.

واژه‌های کلیدی: اثر کشندگی، بید سیب‌زمینی، پتانسیل نسبی، عصاره متانولی، عصاره هگزانی

**Lethal toxicity of *Achillea millefolium* and *Marrubium vulgare* extracts, against potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera, Gelechiidae) in comparison with some synthetic pesticides**

Davoud Mohammadi<sup>1,\*</sup>, Naser Eivazian Kary<sup>1</sup>, Hassan Valizadeh<sup>2</sup> & Nazila Mahin Allahverdzadeh<sup>1</sup>

1. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran & 2. Department of Chemistry, Faculty of Sciences, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran.

\* Corresponding author, E-mail: mohamadi@azaruniv.ac.ir

**Abstract**

Nowadays, use of botanical compounds as pesticides is becoming increasingly important, because of their acceptable efficiency and relative safety to human and environment. The present study aimed to investigate oral toxicity of different extracts of *Achillea millefolium* L. and *Marrubium vulgare* L., against larvae of potato tuber moth and compare their potency with some conventional insecticides. Larvae of potato tuber moth, reared on potato tubers in controlled conditions. Extraction was carried out by maceration method using hexane, ethyl acetate, methanol and water as solvents. Foliage of *A. millefolium* and *M. vulgare* collected, well washed with distilled water, air dried in shadow then used for extraction. For bioassays fresh potato leaves dipped in each concentration of extracts for 5 seconds, air dried for 20 minutes. Potato tuber moth larvae transferred on treated leaves. Mortality was recorded after 48 hours. The results revealed that, aqueous and ethyl acetate extracts of *A. millefolium* showed the most and the least toxicity against 1<sup>st</sup> larval instar, with LC<sub>50</sub> values of 2.96 and 44.03 gr/l respectively. Methanol extract of *A. millefolium* and ethyl acetate extracts of *M. vulgare* were more and less toxic against 2<sup>nd</sup> larval instar of PTM with LC<sub>50</sub> values of 9.03 and 34.79 gr/l, respectively. The toxicity comparison of plants extracts with Fenvalerate, Imidacloprid and Acetamiprid showed that, in all cases the synthetic pesticides were more toxic than plant extracts. Acetamiprid with LC<sub>50</sub> values of 0.18 and 0.31 gr/l was more toxic than other pesticides against 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> larval instars of PTM, respectively but relative potency of plant extracts was comparable with Fenvalerate.

**Key words:** Hexane extract, Lethal toxicity, Methanol extract, Potato Tuber Moth, Relative potency

Received: 28 June 2019, Accepted: 21 November 2020.

**مقدمه**

بید سیب‌زمینی، *Phthorimaea operculella* Zeller (Lep., Gelechiidae) یکی از آفات مهم گیاهان تیره سیب‌زمینی و به‌خصوص خود سیب‌زمینی در بسیاری از مناطق معتدل و گرمسیری دنیا می‌باشد. ویژگی‌هایی چون رابطهٔ میزبانی نزدیک با گیاه سیب‌زمینی، سازگاری بالا با تغییرات محیطی، قابلیت تولیدمثلی بالا و ایجاد خسارت اقتصادی بالا، این آفت را تبدیل به یکی از مهم‌ترین آفات سیب‌زمینی در سراسر جهان نموده است (Shelton & Wyman, 1979; Briese, 1986; Rondon, 2010). آلودگی مزارع با حمله و تخم‌ریزی حشرات کامل آغاز و تخم‌ریزی بر روی شاخ و برگ یا غده‌هایی که از خاک بیرون هستند، صورت می‌گیرد. لارو از محل گودی‌های نزدیک چشمک‌های غده به داخل آن نفوذ می‌کنند (Rondon, et al., 2007; Fenemore, 1988). با وجود طیف متنوعی از راه‌کارهای مدیریتی، هنوز کنترل این آفت حتی در انبارها به‌طور عمده متکی بر سموم شیمیایی می‌باشد که منشاء صدمات جدی به سلامت انسان است و بر این اساس کاهش اتکا به آن‌ها با توجه به تولید و مصرف بالای سیب‌زمینی، امری ضروری است. بررسی‌های صورت گرفته نشان داده که در بین روش‌های مدیریتی سالم، استفاده از ترکیبات حشره‌کش با منشاء گیاهی از نقطه نظر کارآمدی و امنیت بالا می‌تواند نقطه اتکای مطمئنی در مدیریت جمعیت حشرات بویژه آفات انباری باشد (Koul et al., 2008).

با توجه به ویژگی‌های مناسبی چون سمیت کمتر برای موجودات غیر هدف، تجزیهٔ سریع و اثرات زیست-محیطی کمتر، استفاده از ترکیبات بر پایه گیاهی با قابلیت کنترل جمعیت حشرات در بین راه‌کارهای مدیریتی مختلف، بویژه در سال‌های اخیر، بیشترین توجه را به خود جلب نموده است و آن‌ها را به حشره‌کش‌هایی مناسب در کشاورزی پایدار تبدیل کرده است (Sharaby et al., 2009; Regnault-Roger, 1997). این ترکیبات می‌توانند از طریق طیف وسیعی از اختلالات رفتاری، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و سوخت‌وساز پایه، اثرات کنترلی خود را روی حشرات اعمال کنند (Ferreira & Moore, 2011; El-Wakeil, 2013). در کنار موارد ذکر شده، فرار بودن بسیاری از این ترکیبات، امکان استفاده تدخینی از آن‌ها در فضاهای بسته‌ای چون انبارها و سیلوها را برای کنترل بسیاری از آفات انباری فراهم آورده است (Stamopoulos et al., 2007).

بررسی‌های صورت گرفته در خصوص بیش از ۳۵ گونه گیاهی نشان داده است که اسانس و عصاره‌های گیاهی، منابعی بسیار موثر و مناسب برای کنترل بید سیب‌زمینی هستند (Mahin Allahverdizade & Mohammadi, 2019).

در بررسی اثرات زیستی اسانس گیاه مرزنجوش، (*Origanum vulgare* L. (Lamiaceae)، روی بید سیب‌زمینی مشخص شده بود که سمیت تماسی و تدخینی این ترکیب روی مراحل نارس و حشرات کامل آن بالا بود. بدشکلی حشرات کامل یکی دیگر از اثرات تیمار مراحل نارس با اسانس یاد شده بود. همین‌طور افزایش میزان پروتئین، گلیسرول و افزایش ناچیز در عملکرد آنزیم استیل‌کولین استراز و کیتیناز پس از تیمار با اسانس این گیاه گزارش شد (Abd El-Aziz, 2011) که نشان دهنده اثرات فیزیولوژیک آن می‌باشد. چنین اثراتی در خصوص اسانس ریشه سوسن صغیر (*Acorus calamus* L. (Acoraceae)، برگ‌های زیتون تلخ (*Melia azedarach* L. (Meliaceae) دانه‌های رسیده فلفل سیاه (*Piper longum* L. (Piperaceae)، برگ‌های هلو (*Prunus persica* (L.) (Rosaceae) و میوه رسیده Lauraceae) (*Lindera neesiana* (Wall. ex Nees) روی بید سیب‌زمینی گزارش شده است (Niroula & Vaidya, 2004). استفاده از ترکیبات حاصل از گیاه‌های اکالیپتوس (*Eucalyptus globulus* Labill (Myrtaceae)، شاه‌پسند (*Lantana camara* L. (Verbenaceae)، چریش (*Azadirachta indica* (Meliaceae)، جعفری مکزیک (*Tagetes minuta* L. (Asteraceae) و گل داودی (*Chrysanthemum morifolium* (Asteraceae) در تیمار بذور سیب‌زمینی، به وضوح تایید کننده پتانسیل حفاظت‌کنندگی بالای آن‌ها در مقابل بید سیب‌زمینی بود (Sisay & Ibrahim, 2012). عملکردی مشابه، به صورت پوشاندن غده‌های سیب‌زمینی با بخش‌های هوایی گونه‌هایی از (*Mintostachys* spp. (Lamiaceae) و استفاده از اسانس آن‌ها به منظور کاهش میزان تخم‌ریزی بید سیب‌زمینی روی غدد در انبار گزارش شده است (Granados-Echegoyen et al., 2007).

اثرات مطلوب حشره‌کشی عصاره گیاهان فراسیون و بومادران قبلاً روی حشرات مختلف از جمله پشه کولکس (*Culex pipiens* L. کرم برگ‌خوار پنبه، (*Spodoptera littoralis* (Boisduval, 1833) سوسک برگ‌خوار سیب‌زمینی (*Leptinotarsa decemlineata* (Say) و بید سیب‌زمینی بررسی و تایید شده است (Aouati & Berchis, 2015; Mahin Allahverdizade & Mohammadi, 2016; Lodhi et al., 2017; Nakhaie Bahrami et al., 2018). در این پژوهش، با توجه به کارایی خوب عصاره گیاهان بومادران و فراسیون در کاهش جمعیت حشرات مختلف و در دسترس بودن و بومی بودن این گیاهان؛ اثرات کشندگی عصاره‌های هگزانی، اتیل‌استاتی، متانولی و آبی این گیاهان روی لاروهای سن اول و دوم بید سیب‌زمینی مورد بررسی قرار گرفت. قدرت کشندگی عصاره‌ها با سه حشره‌کش متداول نیز مقایسه شد تا پتانسیل نسبی آنها در کنترل آفت مشخص شود.

## مواد و روش‌ها

### پرورش حشره

جمعیت اولیه بید سیب‌زمینی از کلنی موجود در گروه گیاه‌پزشکی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان تهیه شد. حشرات روی غده‌های سیب‌زمینی رقم آگریا در شرایط کنترل شده در دمای  $26 \pm 2$  درجه سلسیوس و دوره نوری ۱۶:۸ (تاریکی: روشنایی) ساعت و رطوبت نسبی  $50 \pm 10$  درصد پرورش یافت. غده‌های آلوده به بید سیب‌زمینی در ظروف پلاستیکی با ابعاد  $10 \times 12 \times 25$  سانتی‌متر که کف آنها با لایه نازکی از شن استریل پوشانده شده بودند، قرار گرفتند. شفییره‌ها روزانه با استفاده از الک از شن جدا و به ظروف جمع‌آوری شفییره ( $19 \times 7$  سانتی‌متر) که قسمت فوقانی آن بوسیله توری مسدود شده بود، انتقال می‌یافت. حشرات کامل پس از ظهور جمع‌آوری و به ظروف تخم‌گیری ( $14 \times 18$  سانتی‌متر) منتقل شدند. به‌منظور جمع‌آوری تخم، یک لایه کاغذ روغنی زیر ظروف

تخم‌گیری قرار می‌گرفت. همچنین مقداری عصاره غده سیب‌زمینی به‌منظور تحریک حشرات کامل و محلول آب عسل ۱۰ درصد به‌منظور تغذیه آنها روی توری ظرف تخم‌گیری قرار داده شد (Hannour *et al.*, 2017; Rafiee-*et al.*, 2013a, b). از لاروهای هم‌سن اول و دوم برای انجام آزمایشات و زیست‌سنجی استفاده شد.

### تهیه عصاره گیاهی

قسمت‌های هوایی گیاهان بومادران و فراسیون از دامنه‌های شمالی کوهستان سبلان (مشکین‌شهر) در جریان تیر و مرداد ماه جمع‌آوری و بعد از تایید گونه برای تهیه عصاره استفاده شدند. پس از شستشوی سطحی بخش‌های هوایی با آب معمولی و آب مقطر، در دمای اتاق (۲۸-۲۴ درجه‌ی سلسیوس) و در شرایط سایه، هوادهی و خشک شدند. مواد گیاهی پس از خرد کردن، به‌ترتیب قطبیت در حلال‌های ان-هگزان، اتیل‌استات، متانول و آب به نسبت وزنی ۵:۱ (گیاه خرد شده: حلال)، به مدت ۷ روز خیسانده شده، سپس به منظور بازیافت حلال و تهیه عصاره خام از دستگاه تبخیر کننده چرخشی (Rotary evaporator) در دمای ۴۰ درجه سلسیوس و ۲۵۰rpm استفاده شد. عصاره‌های بدست آمده که به‌صورت مایع بسیار غلیظ بودند، در دمای ۴ درجه سلسیوس و شرایط تاریکی برای آزمایشات بعدی نگهداری شدند (Azwanida, 2015; Altemimi *et al.*, 2017).

### بررسی اثرات کشندگی عصاره‌های گیاهی روی لاروهای بید سیب‌زمینی

برای انجام این آزمایش، برگ‌های تازه سیب‌زمینی (رقم آگریا) که در گلدان و در شرایط آزمایشگاهی پرورش یافته بودند به اندازه تقریبی ۲/۵×۴ سانتی‌متر از گیاه جدا، با آب مقطر شستشو شدند. در غلظت‌های مختلف، عصاره‌ها که با استفاده از حلال استون رقیق شده و حاوی ۵۰ میکرولیتر توئین (Tween 80) ۰/۰۵ درصد بودند (به‌منظور پخش عصاره در سطح برگ)، به مدت ۵ ثانیه غوطه‌ور شدند، ۲۰ دقیقه هوادهی شده (به‌منظور تبخیر حلال‌ها) سپس در اختیار لاروهای سن اول و دوم قرار گرفته و مورد بررسی قرار گرفتند. بعد از انجام آزمایشات مقدماتی غلظت‌های نهایی برای زیست‌سنجی عصاره‌های هگزانی، متانولی و آبی شامل ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵ و ۳/۱۳ و برای عصاره اتیل‌استاتی ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵ و ۶/۲۵ گرم بر لیتر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مرگ و میر پس از گذشت ۴۸ ساعت ثبت شد. آزمایشات در ۶ تکرار انجام شدند و در هر تکرار ۲۰ عدد لارو هم‌سن مورد بررسی قرار گرفت. از تیمار برگ‌ها با آب مقطر و توئین ۰/۰۵ درصد به‌عنوان شاهد استفاده شد (با تغییراتی در روش مورد استفاده توسط Paramasivam & Selvi, 2017).

### بررسی اثرات کشندگی حشره‌کش‌های مصنوعی

برای مقایسه سمیت عصاره‌ها با سموم متداول، از حشره‌کش‌های فن‌والریت (Fenvalerate 20% EC, Baharate Insecticides Ltd. India)، ایمیداکلوپراید (Imidacloprid 35% SC, Crystal Crop Protection Pvt. Ltd. India) و استامی‌پراید (Acetamiprid 20% SP, Hailir Pesticides & Cemicsals Group., China) استفاده شد. روش زیست‌سنجی مشابه عصاره‌ها بود، به این صورت که برگ‌های سیب‌زمینی به مدت ۵ ثانیه در غلظت‌های مشخص شده هر آفت‌کش فرو برده شده و پس از خشک شدن در اختیار لاروهای سن اول و دوم قرار می‌گرفت. پس از آزمایشات مقدماتی، آزمایشات اصلی با ۸ غلظت با فاصله لگاریتمی در محدوده ۷۰/۵-۱/۱، ۱۲/۶-۰/۱ و ۱/۹-۰/۰۵ گرم بر لیتر (ماده فرموله) به‌ترتیب برای حشره‌کش‌های فن‌والریت، ایمیداکلوپراید و استامی‌پراید بررسی شد. زیست‌سنجی علیه لاروهای سن اول و دوم حداقل در سه مرحله تکرار شد و در هر تکرار ۲۰ عدد لارو مورد بررسی قرار گرفت. در نهایت خطوط دوز-اثر ترسیم و سمیت‌ها با محاسبه مقادیر LC<sub>50</sub> مقایسه شدند.

## تجزیه و تحلیل داده‌ها

غلظت‌های کشنده عصاره‌ها، پتانسیل نسبی (Relative Median Potency) و آزمون همراستایی (Paralleism test)، با استفاده از رگرسیون پروبیت درصد تلفات با بکارگیری نرم افزار SPSS ver. 16 محاسبه شد. در صورت مشاهده مرگ و میر در شاهد تصحیح داده‌ها با استفاده از فرمول ابوت (Abbott, 1925) انجام شد و به منظور مقایسات دوتایی تیمارها از آزمون کیدو استفاده شد.

## نتایج

### اثرات کشندگی عصاره‌های گیاهی روی لاروهای سن اول بید سیب‌زمینی

نتایج تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که عصاره آبی و اتیل‌استاتی *A. Millefolium* با  $LC_{50}$  معادل ۲/۹۶ و ۴۴/۰۳ گرم بر لیتر به ترتیب بیشترین و کمترین تاثیر را روی لاروهای سن اول بید سیب‌زمینی داشتند. علاوه بر این، عصاره هگزانی و اتیل‌استاتی *M. vulgare* با  $LC_{50}$  معادل ۸/۰۱ و ۴۱/۰۵ گرم بر لیتر به ترتیب بیشترین و کمترین سمیت را روی لاروهای سن اول نشان دادند. غیرمعنی‌دار بودن مقادیر  $\chi^2$  در تمامی عصاره‌ها، نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین مقادیر برآورد شده و مقادیر مشاهده شده در تجزیه پروبیت و برازش خوب خط دوز-اثر می‌باشد (Matsumura, 1985). بیشترین شیب خط دوز-اثر برای عصاره اتیل‌استاتی *M. vulgare* معادل ۴/۵۲ و عصاره آبی و اتیل‌استاتی *A. millefolium* به ترتیب معادل ۳/۶۱ و ۲/۵۳ برآورد شد (جدول ۱). نسبت  $LC_{50}$  به شیب خط برای مقایسه بهتر سمیت عصاره‌ها در جدول ۱ آورده شده است. در مقایسه دو یا چند آفت‌کش، هر چقدر مقدار عددی  $LC_{50}$  کمتر باشد نشان دهنده سمیت بیشتر آن عامل است. با این حال شیب خط دوز-اثر نیز ارزش بالایی در مقایسه پتانسیل سمیت آفت‌کش‌ها دارد. در مقادیر با اختلاف کم  $LC_{50}$ ، هر چقدر شیب خط بیشتر باشد پتانسیل آفت‌کشی بیشتر بوده و با افزایش اندکی در غلظت، کشندگی بیشتری مشاهده خواهد شد (Matsumura, 1985; Barile, 2008; Lei & Sun, 2018). مقدار عددی نسبت  $LC_{50}$  بر شیب خط هر چقدر کوچک باشد نشان دهنده پتانسیل حشره‌کشی بالای آن ترکیب است. در مقایسه این نسبت نیز عصاره آبی بومادران بیشترین (۱/۱۷) و عصاره اتیل‌استاتی آن کمترین (۱۲/۲۰) پتانسیل سمیت را علیه لاروهای سن اول بید سیب‌زمینی نشان داد.

جدول ۱- سمیت عصاره‌های گیاهان *A. millefolium* و *M. vulgare* روی لاروهای سن اول بید سبب زمینی، *P. operculella*

Plant	Extract	N****	Slope±SE	$\chi^2$ (df=3)***		LC <sub>10</sub> (g/l)	LC <sub>50</sub> (g/l)	LC <sub>90</sub> (g/l)	LC <sub>50</sub> /Slope Ratio**
				$\chi^2$	P				
<i>M. vulgare</i>	Aquaus	600	2.21±0.40	1.08	0.99	2.93 (1.36-4.31)	11.09 (8.54-15.02)	42.02 (26.82-101.85)	5.02
	Hexane	600	2.31±0.41	4.47	0.92	2.25 (1.04-3.37)	8.01 (6.17-10.49)	29.09 (19.77-60.17)	3.48
	Methanol	600	2.18±0.40	3.08	0.98	2.71 (1.25-4.04)	10.46 (8.01-14.11)	40.35 (25.78-97.68)	4.80
	Ethyl acetate	600	4.52±0.74	7.21	0.70	21.4 (15.21-26.01)	41.05 (35.68-47.4)	78.75 (64.40-112.31)	9.08
	Aquaus	600	2.53±0.43	5.76	0.83	0.92 (0.46-1.34)	2.96 (2.28-3.74)	9.49 (6.79-17.19)	1.17
	Hexane	600	1.95±0.39	2.16	0.99	1.39 (0.42-2.43)	6.33 (4.34-8.46)	28.79 (18.57-71.35)	3.25
<i>A. millefolium</i>	Methanol	600	2.26±0.41	5.93	0.82	5.73 (2.58-8.68)	21.10 (16.00-27.46)	77.65 (52.31-164.86)	9.34
	Ethyl acetate	600	3.61±0.63	3.53	0.96	19.46 (12.31-24.86)	44.03 (37.29-52.48)	99.61 (76.81-162.95)	12.20

\* مقدار عددی این نسبت هر چقدر کوچکتر باشد نشان دهنده سمیت بیشتر است.

\*\* حدود اطمینان که از نتایج تجزیه پروبیت استخراج شده است.

\*\*\* پراسیج‌های کدو که از نتایج تجزیه پروبیت استخراج شده است.

\*\*\*\* تعداد کل حشرات بررسی شده.

## اثرات کشندگی عصاره‌های گیاهی روی لاروهای سن دوم بید سبب زمینی

در بین تیمارهای مورد بررسی، عصاره‌های متانولی و اتیل‌استاتی گیاه *A. millefolium* به ترتیب با LC<sub>50</sub> معادل ۹/۰۳ و ۲۴/۸۵ گرم بر لیتر، بیشترین و کمترین تاثیر را روی لارو سن دوم نشان دادند. همچنین در مورد گیاه *M. vulgare* نیز عصاره‌ی آبی با LC<sub>50</sub> معادل ۱۰/۴۹ گرم بر لیتر بیشترین و عصاره‌ی اتیل‌استاتی گیاه *M. vulgare* با LC<sub>50</sub> معادل ۳۴/۷۹ گرم بر لیتر کمترین اثر کشندگی را داشت. عصاره‌ی هگزانی و متانولی گیاه *M. vulgare* به ترتیب با مقادیر ۲/۳۸ و ۲/۲۲ بیشترین شیب خط دوز-اثر را داشتند. نتایج آزمون  $\chi^2$  نیز عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین مقادیر برآورد شده و مقادیر مشاهده شده در تجزیه پروبیت را نشان می‌دهد (جدول ۲). نسبت LC<sub>50</sub> به شیب خط در عصاره آبی *M. Vulgare* با مقدار عددی ۴/۸۸ و متانولی *A. millefolium* با مقدار

۵/۰۴ بیشترین پتانسیل سمیت را علیه لاروهای سن دوم نشان می‌دهد. کمترین پتانسیل سمیت با این نسبت، به ترتیب در عصاره اتیل استاتی *A. millefolium* و *M. Vulgare* با مقادیر ۳۰/۲۵ و ۱۴/۳۶ محاسبه شد که با مقایسه صرف LC<sub>50</sub> پتانسیل سمیت متفاوت نشان می‌دهد. این موضوع در محاسبه پتانسیل نسبی نیز تایید شده است و آفت‌کش‌هایی که نسبت LC<sub>50</sub> به شیب خط کمتری دارند، پتانسیل نسبی بالاتری دارند (جدول‌های ۴ و ۵).

جدول ۲- سمیت عصاره‌های گیاهان *A. millefolium* و *M. Vulgare* بر لاروهای سن دوم بید سیب‌زمینی، *P. operculella*

Plant	Extract	N****	Slope±SE	χ <sup>2</sup> (df=3)***		LC <sub>50</sub> (g/l)	LC <sub>50</sub> (g/l)	LC <sub>50</sub> (g/l)	LC <sub>50</sub> /Slope Ratio
				χ <sup>2</sup>	P				
<i>M. vulgare</i>	Aquaus	600	2.15±0.29	3.36	0.34	2.67 (1.49-3.84)	10.49 (8.25-13.18)	41.18 (29.38-70.02)	4.88
	Hexane	600	2.38±0.37	0.53	0.91	3.99 (2.16-5.73)	13.74 (10.53-18.05)	47.31 (32.50-89.58)	5.77
	Methanol	600	2.22±0.29	4.62	0.20	3.34 (1.96-4.46)	12.59 (10.02-15.79)	47.46 (33.91-80.30)	5.67
	Ethyl acetate	600	1.15±0.17	3.81	0.28	2.67 (1.17-4.28)	34.79 (25.19-56.97)	452.88 (197.36-2071.28)	30.25
	Aquaus	600	1.87±0.27	1.66	0.64	2.17 (1.05-3.35)	10.45 (7.95-13.47)	50.26 (33.96-95.71)	5.59
	Hexane	600	2.03±0.28	2.33	0.51	3.04 (1.68-4.41)	13.02 (10.22-16.66)	55.64 (38.09-102.47)	6.41
<i>A. millefolium</i>	Methanol	600	1.79±0.26	0.56	0.91	1.74 (0.76-2.81)	9.03 (6.68-11.74)	36.74 (31.32-91.13)	5.04
	Ethyl acetate	600	1.73±0.26	0.78	0.85	4.55 (2.11-7.15)	24.85 (18.82-32.86)	135.59 (86.14-294.48)	14.36

\* مقدار عددی این نسبت هر چقدر کوچکتر باشد نشان دهنده سمیت بیشتر است.  
 \*\* حدود اطمینان که از نتایج تجربه پروبیت استخراج شده است.  
 \*\*\* پارامترهای کیدو که از نتایج تجربه پروبیت استخراج شده است.  
 \*\*\*\* تعداد کل حشرات بررسی شده.

اثرات کشندگی آفت‌کش‌ها روی مرحله لاروی بید سیب‌زمینی

تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد، حشره‌کش استامپی‌پراید با مقادیر LC<sub>50</sub> معادل ۰/۱۸ و ۰/۳۱ گرم بر لیتر به ترتیب بر لاروهای سن اول و دوم بید سیب‌زمینی بیشترین تاثیر را در مقایسه با سایر آفت‌کش‌ها دارد. حشره‌کش ایمیداکلوپراید نیز با مقادیر LC<sub>50</sub> معادل ۰/۴۴ و ۱/۵۹ گرم بر لیتر به ترتیب برای لاروهای سن اول و دوم بید

سیب‌زمینی از نظر کشندگی در مرتبه دوم قرار گرفت. در مورد هر سه حشره‌کش مورد بررسی سمیت علیه لاروهای سن اول بیشتر از لاروهای سن دوم بود. شیب خطوط دوز-اثر فن‌والریت برای لارو سن اول و استامی-پراید برای سن دوم به ترتیب با مقادیر ۱/۴۱ و ۱/۳۴ بیشتر از بقیه بود. در مقایسه نسبت LC<sub>50</sub> به شیب خط نیز بیشترین و کمترین سمیت به ترتیب مربوط به استامی‌پراید و فن‌والریت بدست آمد. دلیل این امر مقادیر عددی نزدیک به هم شیب خطوط بود (جدول ۳). کمترین شیب خط دوز-اثر مربوط به فن‌والریت برای لارو سن دوم بدست آمد (۱/۰۳). مقادیر  $\chi^2$  در تمامی موارد غیرمعنی‌دار بود (جدول ۳).

### جدول ۳- تاثیر آفت‌کش‌های مورد مطالعه بر سنین اول و دوم لاروی بید سیب‌زمینی *P. operculella*

**Table 3.** Toxicity of studied pesticides on 1<sup>st</sup> and 2<sup>nd</sup> larval instars of *P. operculella*.

Stage	Pesticide	n****	Slope±SE	$\chi^2$ (df=6)***		LC <sub>10</sub> (g/l)	LC <sub>50</sub> (g/l)	LC <sub>90</sub> (g/l)	LC <sub>50</sub> /Slope Ratio*
				$\chi^2$	P				
1 <sup>st</sup> Larval instar	Fenvalerate	480	1.41±0.17	2.51	0.87	0.86 (0.39-1.42)	6.94 (5.10-9.30)	56.06 (35.27-113.65)	4.92
	Imidacloprid	480	1.10±0.14	1.2	0.98	0.03 (0.01-0.06)	0.44 (0.29-1.13)	6.42 (3.5-16.57)	0.40
	Acetamiprid	480	1.11±0.16	2.17	0.90	0.012 (0.0037-0.025)	0.18 (0.12-0.25)	2.50 (1.35-7.03)	0.16
2 <sup>nd</sup> Larval instar	Fenvalerate	480	1.03±0.14	1.73	0.94	0.45 (0.12-0.97)	7.86 (5.12-11.25)	136.16 (70.27-411.99)	7.63
	Imidacloprid	480	1.11±0.15	6.58	0.36	0.11 (0.03-0.22)	1.59 (1.08-2.28)	22.59 (12.18-61.81)	1.43
	Acetamiprid	480	1.34±0.17	6.31	0.39	0.03 (0.01-0.06)	0.31 (0.23-0.42)	2.80 (1.68-6.33)	0.23

\* مقدار عددی این نسبت هر چقدر کوچکتر باشد نشان دهنده سمیت بیشتر است. \*\* حدود اطمینان که از نتایج تجزیه پروبیت استخراج شده است. \*\*\* پارامترهای کیدو که از نتایج تجزیه پروبیت استخراج شده است. \*\*\*\* تعداد کل حشرات بررسی شده

### مقایسه همراستایی خطوط دوز-اثر و پتانسیل نسبی

به نظر می‌رسد مقایسه سمیت، صرفاً با مقایسه مقادیر LC<sub>50</sub> با توجه به تاثیر مستقیم شیب خط دوز-اثر بر سمیت، کافی نباشد، مثلاً در مواردی که خطوط دوز-اثر در محل LC<sub>50</sub> تقاطع داشته باشند، اصولاً سمیت را یکسان در نظر می‌گیریم ولی شیب خط بیشتر، در این مورد تعیین کننده خواهد بود. در صورت موازی بودن خطوط دوز-اثر دو یا چند عامل، سمیت در تمام مقادیر کشندگی قابل مقایسه می‌باشد، ولی در صورت عدم همراستایی خطوط برای هر درصد کشندگی در مقایسه دو عامل، باید پتانسیل نسبی جداگانه‌ای محاسبه شود (Lei & Sun, 2018). در این بررسی به‌عنوان نمونه، آزمون همراستایی بین حشره‌کش‌های استامی‌پراید و فن‌والریت (به ترتیب بیشترین و کمترین سمیت در بین حشره‌کش‌های بررسی شده) با عصاره‌ها در هر دو سن لاروی صورت گرفت (جدول ۴ و ۵). اگر مقدار عددی  $\chi^2$  برآورد شده در آزمون، معنی‌دار باشد نشان دهنده عدم همراستایی یا غیر موازی بودن خطوط دوز-اثر مورد مقایسه است. همانگونه که در جدول ۴ مشاهده می‌شود، خطوط دوز-اثر عصاره‌های مورد بررسی در لاروهای سن اول بید سیب‌زمینی، بجز عصاره هگزانی بومادران با استامی‌پراید همراستا نبودند. همچنین در لارو سن دوم، بجز عصاره هگزانی بومادران، بقیه خطوط در مقایسه با حشره‌کش استامی‌پراید موازی بودند، ولی در مورد گیاه فراسیون فقط عصاره اتیل‌استاتی با استامی‌پراید همراستا بود. مقادیر عددی پتانسیل نسبی میانه محاسبه شده در جدول ۴، در تمام موارد کمتر از یک است که نشان دهنده پتانسیل سمیت کمتر تمام عصاره‌ها در مقایسه با استامی‌پراید می‌باشد. البته باید اشاره شود در مورد خطوط دوز-اثری که همراستا هستند در تمامی غلظت‌های کشنده، پتانسیل نسبی یکسان است ولی در مورد خطوطی که موازی نیستند فقط پتانسیل نسبی میانه (در مقایسه مقادیر LC<sub>50</sub>) قابل مقایسه است. بیشترین پتانسیل نسبی مربوط به تاثیر نسبی عصاره آبی



بومادران بر لارو سن اول بید سیب‌زمینی می‌باشد (۰/۰۶۹) و عصاره اتیل‌استاتی بومادران و فراسیون به‌ترتیب با پتانسیل نسبی ۰/۰۰۴ و ۰/۰۰۵ کمترین سمیت را نسبت به استامی‌پراید نشان دادند که این موضوع در مقایسه نسبت LC<sub>50</sub> به شیب خط در جدول‌های ۱ و ۲ نیز قابل استنباط می‌باشد. با توجه به موازی بودن اغلب خطوط دوز-اثر عصاره‌های بومادران با آفت‌کش استامی‌پراید علیه لارو سن دوم بید سیب‌زمینی، پتانسیل نسبی در تمام غلظت‌های کشنده قابل مقایسه و متناسب است.

**جدول ۴-** مقایسه همراستایی و سمیت نسبی عصاره‌ها در مقایسه با استامی‌پراید علیه لاروهای بید سیب‌زمینی

*P. operculella*

**Table 4.** Parallelism and relative potency of plants extracts in comparison with Acetamiprid against *P. operculella*.

Stage	Extract		Parallelism test parameters			Relative Median Potency (95%)		
	Plant	Solvent	$\chi^2$ (df=1)	<i>P</i> ( $\alpha=0.05$ )	Parallelism	Estimated	Lower	Upper
1 <sup>st</sup> larval instar	<i>M. vulgare</i>	Aquaus	6.16	0.013	-	0.015	0.0012	0.069
		Hexane	5.94	0.015	-	0.023	0.0024	0.100
		Methanol	5.59	0.018	-	0.016	0.0014	0.075
	<i>A. mille-folium</i>	Ethyl acetate	19.32	0.000	-	0.005	0.0003	0.069
		Aquaus	7.80	0.005	-	0.069	0.0130	0.206
		Hexane	3.70	0.054	+	0.033	0.0035	0.137
2 <sup>nd</sup> larval instar	<i>M. vulgare</i>	Methanol	5.53	0.019	-	0.009	0.0005	0.054
		Ethyl acetate	12.87	0.000	-	0.004	0.0013	0.034
		Aquaus	5.73	0.017	-	0.031	0.002	0.145
	<i>A. mille-folium</i>	Hexane	6.96	0.008	-	0.022	0.003	0.082
		Methanol	6.25	0.012	-	0.025	0.001	0.132
		Ethyl acetate	0.368	0.544	+	0.009	0.001	0.04
<i>M. vulgare</i>	Aquaus	3.29	0.07	+	0.031	0.005	0.101	
	Hexane	4.78	0.029	-	0.024	0.004	0.081	
	Methanol	2.258	0.108	+	0.036	0.006	0.117	
<i>A. mille-folium</i>	Ethyl acetate	2.055	0.152	+	0.013	0.001	0.054	

همانگونه که در جدول ۵ مشاهده می‌شود، خطوط دوز-اثر آفت‌کش فن‌والریت (که سمیت کمتری در مقایسه با دو آفت‌کش دیگر دارد) با عصاره اتیل‌استاتی فراسیون و عصاره آبی و اتیل‌استاتی بومادران در لارو سن اول همراستا نیستند. ولی در لارو سن دوم، فقط خطوط دوز-اثر عصاره اتیل‌استاتی فراسیون همراستا با فن‌والریت است. پتانسیل نسبی برآورد شده در مقایسه با استامی‌پراید (جدول ۴) بیشتر بوده و حتی در مواردی مانند عصاره آبی و هگزانی بومادران در مورد لارو سن اول پتانسیل نسبی بیشتر از فن‌والریت بود (پتانسیل نسبی به‌ترتیب ۲/۵۵۱ و ۱/۱۸۸) و در مورد عصاره متانولی بومادران برای لارو سن دوم تقریباً برابر با آن برآورد گردید. نتایج مشابهی نیز در مقایسه نسبت LC<sub>50</sub> به شیب خط در جدول‌های ۱ و ۲ مشاهده می‌شود و این موضوع تاثیر شیب خط دوز-اثر را بر سمیت نسبی نشان می‌دهد. پتانسیل نسبی خوب عصاره‌ها با توجه به سمیت نسبتاً قابل قبول فنوالریت نسبت به سایر حشرات قابل توجه است. کمترین میزان پتانسیل نسبی محاسبه شده مربوط به عصاره‌های اتیل‌استاتی هر دو گیاه با لارو سن اول و دوم بید سیب‌زمینی بود.

جدول ۵- مقایسه همراستایی و سمیت نسبی عصاره‌ها در مقایسه با فن‌والریت علیه لاروهای بید سیب‌زمینی *P. operculella*

**Table 5.** Parallelism and relative potency of plants extracts in comparison with Fenvalerate against *P. operculella*.

Stage	Extract		Parallelism test parameters			Relative Median Potency (95%)		
	Plant	Solvent	$\chi^2$ (df=1)	P ( $\alpha=0.05$ )	Parallelism	Estimated	Lower	Upper
1 <sup>st</sup> Larval instar	<i>M. vulgare</i>	Aquas	3.339	0.068	+	0.593	0.355	0.928
		Hexane	3.09	0.079	+	0.889	0.560	1.380
		Methanol	2.86	0.091	+	0.639	0.387	0.999
	<i>A. mille-folium</i>	Ethyl acetate	15.53	0.000	-	0.179	0.043	0.435
		Aquas	4.53	0.033	-	2.551	1.237	4.920
		Hexane	1.55	0.213	+	1.188	0.748	1.910
2 <sup>nd</sup> Larval instar	<i>M. vulgare</i>	Methanol	0.607	0.436	+	0.338	0.137	0.666
		Ethyl acetate	9.71	0.002	-	0.157	0.054	0.328
		Aquas	10.2	0.001	-	0.843	0.413	1.63
	<i>A. mille-folium</i>	Hexane	10.83	0.001	-	0.58	0.311	0.99
		Methanol	10.86	0.001	-	0.660	0.298	1.32
		Ethyl acetate	0.17	0.677	+	0.217	0.11	0.37
		Aquas	7.13	0.008	-	0.837	0.51	1.358
		Hexane	9.08	0.003	-	0.625	0.368	1.01
		Methanol	6.16	0.013	-	1.006	0.606	0.655
	Ethyl acetate	5.38	0.02	-	0.31	0.15	0.58	

## بحث

در این بررسی مقایسه سمیت نسبی عصاره‌های گیاهان بومادران و فراسیون با یکدیگر و با چند حشره‌کش معمول و نسبتاً قوی، علیه لاروهای سن اول و دوم بید سیب‌زمینی صورت گرفت و نتایج بدست آمده قابل توجه و در مواردی نیازمند بحث است. نتایج زیست‌سنجی‌ها نشان داد که نه تنها حساسیت سنین لاروی مورد مطالعه نسبت به عصاره‌ها با توجه به منشأ گیاهی و حلال مورد استفاده متفاوت می‌باشد، بلکه این حساسیت بین سنین لاروی مورد بررسی نیز متفاوت است. اثرات کشندگی متفاوت عصاره‌های مورد مطالعه نسبت به یک سن لاروی از یک سو به تفاوت موجود در ترکیبات گیاه و از سوی دیگر به قابلیت هر حلال در استخراج طیف مختلفی از ترکیبات گیاهی برمی‌گردد که بسته به قطبیت آنها ترکیبات موثر متفاوتی را از گیاهان مورد نظر استخراج نموده است. مطالعات مختلف موید این موضوع می‌باشد (Dhawan & Gupta, 2017; Dailey & Vuong, 2015). مشخص شده است که حلال‌های مختلف در جداسازی ترکیبات موثر گیاهان، با توجه به میزان حلالیت و قطبیت ترکیبات گیاهی و تنوع متابولیت‌های ثانوی موجود در گیاهان، متفاوت عمل می‌کنند (Dhawan & Gupta, 2017; Abegunde & Ayodele-Oduola, 2015). حتی کارایی استخراج (درصد استخراج متابولیت ثانوی از مقدار معینی از گیاه در حجم ثابتی از حلال) بسته به وارسته گیاه، اندام مورد بررسی و ترکیب مورد نظر، متاثر از حلال (و یا ترکیبی از حلال‌های مختلف) بکار رفته در فرآیند استخراج می‌باشد (Felhi et al., 2017; Zlotek et al., 2016; Kchaou et al., 2013). بررسی‌ها نشان داده است که، گونه گیاه، موقعیت جغرافیایی رشد گیاه و زمان جمع‌آوری گیاه عوامل اصلی تعیین‌کننده میزان ترکیبات سمی استخراج شده و سمیت آنها بر حشرات مختلف می‌باشد (Sánchez-García et al., 2015; Siyahlou et al., 2016; Çakır et al., 2016). به عبارتی یک عامل سمی بر مراحل مختلف رشدی حشرات مختلف تاثیر یکسانی نداشته و ماهیت حشره‌کشی ترکیب، فرمولاسیون، نحوه اثر (Lushchak et al., 2018) و عوامل مربوط به رفتار و میزان تغذیه، فیزیولوژی و میزان حرکت حشره در سمیت نهایی موثر است (Gamil et al., 2011; Gould, 1991). در یک بررسی مشخص شده بود که مقدار پروتئین کل

بدن لاروهای سن دوم کرم برگ‌خوار مصری پنبه (*Spodoptera littoralis*) که به مدت ۲۴ ساعت در معرض ایندوکساکارب (مقدار LC<sub>50</sub>) قرار داشتند، بیشتر از شاهد بوده و همین تیمار موجب کاهش مقدار پروتئین کل در سن چهارم شده است (Gamil *et al.*, 2011). این در حالی است که لارو سن دوم در مقایسه با سن چهارم از حساسیت بالایی نسبت به ایندوکساکارب برخوردار است. همچنین در این بررسی مشخص شد که فعالیت آنزیم‌های متابولیکی نیز تحت تیمار با ایندوکساکارب در دو سن لاروی یکسان تغییر نکرده است و تفاوت‌های فیزیولوژیکی، یکی از دلایل تفاوت سمیت گزارش شده است. به‌عنوان مثال فعالیت آنزیم‌های آلکالین فسفاتاز، بتا-استراز و اینورتاز در مقایسه با شاهد در لارو سن دوم افزایش و در لارو سن چهارم کاهش یافته است و برعکس آنزیم آمیلاز در سن چهارم، فعالیت بیشتری در مقایسه با شاهد نشان داد (Gamil *et al.*, 2011). هر چند قضاوت در مورد مکانیسم عمل عصاره‌های مورد بررسی با اطلاعات بدست آمده در این تحقیق، عملاً ممکن نیست ولی مطالعات مختلف مبین این موضوع است که، متابولیت‌های گیاهی با مکانیسم‌های مختلفی حشرات را تحت تاثیر قرار می‌دهند و در مواردی، چند تاثیر به‌صورت هم‌زمان دلیل کشندگی آنها بیان شده است (Rattan, 2010). مشخص شده که عصاره متانولی گیاه بومادران قادر به کاهش فعالیت آنزیم‌های گوارشی پروتئاز و آلفا-آمیلاز کرم برگ‌خوار مصری پنبه، *S. littoralis* می‌باشد (Nakhaie Bahrami *et al.*, 2018). در ضمن مشخص شده که عصاره متانولی گیاه بومادران توانایی کاهش معنی‌دار کلسترول، فعالیت آنزیم آلفا-آمیلاز، پروتئین کل و آنزیم‌های آلکالین آمینو ترانسفراز و اسپاراتات آمینو ترانسفراز سفیده کوچک کلم را دارد (Hashemini *et al.*, 2011). فعالیت مهارکنندگی آنزیم استیل‌کولین‌استراز نیز در عصاره‌های مختلف گیاه بومادران گزارش شده است (Sevindik, *et al.*, 2015). هر چند مطالعات بسیار کمی در مورد تاثیر کشندگی گیاه فراسیون بخصوص در آفات کشاورزی صورت گرفته ولی این گیاه از نظر پزشکی و بخصوص کنترل آفات بهداشتی موثر بوده است (Amel & Selima, 2015) و لذا مکانیسم احتمالی تاثیر عصاره‌های آن بر حشرات چندان مشخص نبوده و نیازمند مطالعات تکمیلی می‌باشد. در مطالعات صورت گرفته اثرات مهارکنندگی آنزیم استیل و بوتیریل کولین‌استراز آن گزارش شده است (Orhan *et al.*, 2010). با این وجود با توجه به ترکیبات پیچیده موجود در عصاره‌های مختلف گیاهان (Altemimi *et al.*, 2017) مشخص شدن مکانیسم عمل دقیق حشره‌کشی آنها مشکل است و اغلب دلایل متعددی به‌عنوان عامل یا نحوه اثر موثرتر آنها ذکر شده است (Laxmishree & Nandita, 2018; Enyiukwu *et al.*, 2016; El-Wakeil, 2013).

در بررسی حاضر مشخص شد که، عصاره آبی بومادران به‌طور معنی‌داری بیشترین تاثیر را بر لارو سن اول بید سیب‌زمینی نشان داد (در مقایسه مقادیر LC<sub>50</sub>). شیب خط دوز-اثر در مقایسه با تاثیر همین عصاره بر لارو سن دوم بیشتر بود و در مجموع این عصاره پتانسیل سمیت بالایی نسبت به لاروهای سن اول بید سیب‌زمینی نشان داد. این در حالی است که عصاره آبی بومادران علیه لاروهای سن دوم نیز در مقایسه با سایر عصاره‌ها (با تفاوت اندکی بعد از عصاره متانولی بومادران) بیشترین تاثیر را نشان داد و با احتساب شیب خط، پتانسیل سمیت بالایی علیه لارو سن دوم در مقایسه با سایر عصاره‌ها نشان داد. این موضوع در مقایسه پتانسیل نسبی هم تایید شده و عصاره آبی بومادران ۲/۵۵ برابر پتانسیل بیشتری در مقایسه با فنوالریت در کنترل لاروهای سن اول و ۰/۸۴ برابر در کنترل لاروهای سن دوم نشان داده است. این موضوع در خصوص ماهیت قطبی بالای آب در استخراج ترکیبات قطبی (Abarca-Vargas *et al.*, 2016; Dhawan & Gupta, 2017) از بومادران نیز اهمیت دارد و مشخص می‌شود که ترکیبات با قطبیت بالای موجود در این گیاه اثرات حشره‌کشی خوبی بر لاروهای سن اول و دوم بید سیب‌زمینی دارد. با توجه به تاثیر بالای عصاره آبی هر دو گیاه بر لاروهای بید سیب‌زمینی و هزینه کم استخراج

با حلال آب، پتانسیل بالای این عصاره در مدیریت بید سیب‌زمینی مشخص می‌شود. البته مطالعات تکمیلی در خصوص فرمولاسیون و مطالعات گلخانه‌ای و مزرعه‌ای برای حصول نتیجه مطمئن لازم است.

در تحقیق حاضر، بجز عصاره اتیل‌استاتی هر دو گیاه و هگزانی بومادران (که نسبت به لاروهای سن دوم بید سیب‌زمینی موثرتر بودند) لاروهای سن اول حساسیت بیشتری نسبت به عصاره‌ها نشان دادند (جدول ۱ و ۲). هر چند مطالعات متعددی سمیت بالای اغلب آفت‌کش‌ها نسبت به لاروهای سنین پایین حشرات را نشان می‌دهد (Rodriguez-Saona et al., 2016; Amini Jam et al., 2014; Chandel et al., 2010; Prabhaker et al., 2006) ولی موارد گزارش شده از حساسیت بیشتر لاروهای سنین بالا نیز وجود دارد. در یک بررسی مشخص شد که هر چند حشره‌کش ایمیداکلوپرید علیه لاروهای سن اول سوسک کلرادو موثرتر از لارو سن دوم بود ولی میزان حساسیت لاروهای سن چهارم نسبت به آن خیلی کمتر از سه سن قبلی بود. همچنین در مورد چندین عصاره گیاهی بررسی شده نیز برخی عصاره‌ها بر لارو سن دوم و برخی بر لارو سن اول تاثیر بیشتری داشتند و روند خاصی در مورد حساسیت وابسته به سن لاروی در برخی عصاره‌ها مشاهده نشد (Gökçe et al., 2006). در مورد مشابهی مشخص گردید که لارو سن سوم سوسک کلرادوی سیب‌زمینی در مقایسه با سنین پائین‌تر از حساسیت بیشتری نسبت به عصاره گیاه *Humulus lupulus* L. (Cannabaceae) برخوردار می‌باشد در حالی که در عصاره گیاه *Heracleum platytaenium* Boiss (Apiaceae) کاملاً بر عکس بود و لاروهای سنین پایین در مقایسه با سن چهارم از حساسیت بالاتری برخوردار بودند (Alkan et al., 2017). بدون آنالیز کمی و کیفی ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره‌های گیاهان مورد بررسی، قضاوت در مورد میزان تاثیر و نحوه عمل و همچنین دلیل تاثیر متفاوت بر سنین مختلف بید سیب‌زمینی مشکل است. ولی احتمال دارد تاثیر گوارشی عصاره اتیل‌استاتی گیاهان با توجه به میزان تغذیه بیشتر لارو سن دوم در مقایسه با لارو سن اول بید سیب‌زمینی بیشتر از عصاره‌های دیگر باشد. هر چند در مقایسه بین عصاره‌ها، عصاره اتیل‌استاتی هر دو گیاه کم‌ترین سمیت را علیه لاروهای سن اول و دوم بید سیب‌زمینی داشتند و حساسیت لاروهای سن دوم بید سیب‌زمینی بیشتر از لاروهای سن اول بود (با مقایسه مقادیر LC<sub>50</sub> نکته قابل توجه، تفاوت تقریباً دو برابری در شیب خط دوز-اثر بین لاروهای سن اول و دوم بود (شیب خط دوز-اثر علیه لاروهای سن اول بیشتر بود). با مقایسه پتانسیل نسبی عصاره‌ها (جدول های ۴ و ۵) نتیجه همچنان ثابت مانده و لاروهای سن دوم تاثیر بیشتری از لاروهای سن اول از این عصاره گرفتند.

نتایج زیست‌سنجی با هر سه آفت‌کش مصنوعی مورد بررسی نشان داد که لاروهای سن اول از حساسیت بیشتری در مقایسه با سن دوم برخوردار می‌باشند که این ویژگی با در نظر گرفتن نحوه اثر آفت‌کش‌ها (تماسی-گوارشی) و توجه به تحرک بالای لارو سن اول در مقایسه با سن دوم می‌تواند نسبتاً توجیه شود. ولی تفاوت در میزان تغذیه لاروهای سنین مختلف و احتمال برخورد با سطوح آلوده به آفت‌کش نیز از دلایل دیگر می‌تواند باشد. هر سه آفت‌کش مورد مطالعه، ایمیدوکلوپراید، فن والریت و استامی‌پراید، اثر تماسی و گوارشی دارند (Stenersen, 2004) و لذا احتمال دارد لاروهای سن اول به دلیل تحرک بالا در مقایسه با سن دوم (Varela & Bernays, 1988)، بیشتر در معرض اثر تماسی آفت‌کش‌ها قرار گرفتند. موضوع حساسیت بیشتر لاروها و پوره‌های سن اول حشرات نسبت به آفت‌کش‌های مختلف در مطالعات متعددی گزارش شده است. اثرات کشندگی چندین حشره‌کش از جمله استامی‌پراید بر لاروهای سن اول و سوم (*Sparganothis sulfureana* (Clemens) و *Choristoneura parallela* (Robinson) بررسی و مشخص شد که لاروهای سن اول هر دو حشره حساس‌تر از لاروهای سن سوم بودند (Rodriguez-Saona et al., 2016). تاثیر حشره‌کش ایمیداکلوپراید و پرمیکارب بر پوره‌های سنین مختلف شته جالیز (*Aphis gossypii* Glover (Hem.: Aphididae) بررسی شده و مشخص شد که پوره‌های سنین پایین حساسیت بیشتری نسبت به پوره‌های سنین بالا دارند (Amini Jam et al., 2014). همچنین

مشخص شد که میزان حساسیت لاروهای سن اول بید سیب‌زمینی نسبت به آفت‌کش کلرپروفاام بیشتر از سنین بالای لاروی است (Chandel *et al.*, 2010). همچنین حساسیت لاروهای سن اول زنجره (Hemiptera: *Homalodisca coagulata* Cicadellidae) نسبت به کلرپایریفوس، اندوسولفان و دایمتوات در مقایسه با لاروهای سنین بالا بیشتر بود (Prabhaker *et al.*, 2006). مشخص شده است که دلیل حساسیت لاروهای سنین پایین در مقایسه با سنین بالای سوسک کلرادوی سیب‌زمینی نسبت به عصاره‌های گیاهی بررسی شده، ضخامت کم کوتیکول لاروهای سنین پایین است (Gökçe *et al.*, 2006). در بررسی حاضر هر چند تاثیر بیشتر آفت‌کش‌ها بر لاروهای سن اول مشاهده شده و با نتایج تحقیقات متعددی مشابهت نشان می‌دهد ولی نمی‌توان جز در شرایط زیست‌سنجی حاضر در مورد شرایط دیگر از جمله مزرعه‌ای قضاوت کرد. در این بررسی رفتار لاروهای سن اول بیشتر به صورت تغذیه کمتر و پرسه زدن اطراف ماده غذایی مسموم مشاهده شده که عمده دلیل تاثیر تماسی آفت‌کش‌ها تا حدودی توجیه می‌شود و سنین بالاتر معمولاً با تحرک کمتر با توجه به بیولوژی و رفتار آنها در داخل غده‌های سیب‌زمینی مشاهده می‌شوند که شاید میزان دریافت ماده سمی از طریق گوارش بیشتر بوده و لاروها بیشتر تحت تاثیر قرار گرفتند (Varela & Bernays, 1988).

مقادیر LC<sub>50</sub> برای مقایسه سمیت، روش معمول است. و در مواردی که این مقادیر به هم نزدیک باشند باید شیب خطوط دوز-اثر نیز مقایسه شوند. در این میان عامل کنترلی که شیب خط دوز-اثر بیشتری داشته باشد پتانسیل کنترلی و سمیت آن (در مقادیر بالای ۵۰ درصد کشندگی) بیشتر خواهد بود. در این بررسی مشخص شده است که تقریباً در تمام موارد شیب خطوط دوز-اثر عصاره‌ها بیشتر از آفت‌کش‌ها بود (جدول ۱، ۲ و ۳) و این موضوع در برآورد پتانسیل نسبی خودش را نشان داده و در مواردی مانند عصاره آبی بومادران علیه لارو سن اول سمیت، قابل مقایسه و رقابت با حشره‌کش فن‌والریت بود. پتانسیل نسبی، یک برآورد آماری برای مقایسه سمیت آفت‌کش‌ها می‌باشد که معمولاً با یک عامل به‌عنوان رفرنس مقایسه شده و در صورت همراستا بودن خطوط دوز-اثر، در تمام غلظت‌ها برابر می‌باشد (Lei & Sun, 2018; Dinse & Umbach, 2013; Gottschalk & Dunn, 2005). در این بررسی پتانسیل نسبی برای تاثیر میانه (LC<sub>50</sub>) در تمام موارد برآورد و مقایسه شد. همانگونه که مشاهده می‌شود به دلیل سمیت بسیار زیاد استامی‌پراید مقادیر عددی پتانسیل نسبی عصاره‌ها کم بود در صورتی که با مقایسه آفت‌کش فن‌والریت که سمیت نسبی کمتری در مقایسه با استامی‌پراید دارد (نسبت به لاروهای بید سیب-زمینی) پتانسیل نسبی عصاره‌ها تقریباً با آن برابری کرده و در مواردی بیشتر نیز بوده است. این موضوع به‌عنوان شاخصی بسیار مهم نشان می‌دهد که عصاره‌ها با حشره‌کش قدرتمندی چون فن‌والریت قدرت رقابت دارند و این در حالی است که عصاره خام گیاهان در این بررسی مورد مقایسه قرار گرفته و فرمولاسیون برای بهبود اثر صورت نگرفته است. در این مطالعه با هدف مقایسه سختگیرانه غلظت کشنده عصاره‌ها با آفت‌کش‌های رایج، در انتخاب سموم شیمیایی سعی گردید آفت‌کش‌هایی با سمیت بالا جهت این امر انتخاب شوند. هر چند در تمامی موارد سمیت حشره‌کش‌های مورد مطالعه بیشتر از عصاره‌های گیاهی بود ولی با بررسی غلظت‌های کشنده عصاره‌ها و لحاظ اثرات سوء وسیع و غیرقابل جبران آفت‌کش‌ها، می‌توان آنها را به‌عنوان رقبای جدی جهت جایگزینی سموم شیمیایی در برنامه‌های مدیریت آفات (مطالعه موردی بید سیب‌زمینی) در آینده‌ای نزدیک تصور کرد. با توجه به تولید و استفاده روزافزون از آفت‌کش‌های گیاهی در کشورهای مختلف (Hikal *et al.*, 2017; Rozman, 2015; Dimetry, 2012) و با توجه به تبعات زیست‌محیطی آفت‌کش‌های مصنوعی (Laxmishree & Nandita, 2017; Isman, 2006) با نتایج قابل قبول تاثیر عصاره‌ها، آینده خوبی برای ترکیبات گیاهی وجود دارد. در برنامه‌های مدیریت آفات، بخصوص آفاتی که در انبار صدمه وارد می‌کنند استفاده از آفت‌کش‌های گیاهی می‌تواند جایگزین

مناسبی برای سموم شیمیایی متداول باشد که سلامت انسان و محیط زیست را به خطر می‌اندازد (Trivedi, 2008; Dubey *et al.*, 2008; Prakash *et al.*, 2008). با توجه به نتایج نسبتاً قابل قبول تاثیر عصاره‌های گیاهان بومادران و فراسیون در مقایسه با آفت‌کش‌های شیمیایی در مقیاس آزمایشگاهی، می‌توان با فرمولاسیون و بهبود کیفیت آنها در برنامه‌های مدیریت بید سیب‌زمینی استفاده کرد.

## سپاسگزاری

این تحقیق بخشی از نتایج حاصل از پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد رشته حشره شناسی کشاورزی نویسنده چهارم خانم مهندس نازیلا مهین الله وردیزاده است که با حمایت معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه شهید مدنی آذربایجان انجام شده است.

## References

- Abarca-Vargas, R., Peña Malacara, C. F. & Petricevich, V. L.** (2016) Characterization of Chemical Compounds with Antioxidant and Cytotoxic Activities in *Bougainvillea x buttiana* Holtum and Standl, (var. Rose) Extracts. *Antioxidants* 5, 1-11.
- Abbott, W. S.** (1925) A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18, 265-267.
- Abd El-Aziz, M. F.** (2011) Bioactivities and biochemical effects of Marjoram essential oil used against potato tuber moth *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera: Gelechiidae). *Life Science Journal* 8, 288-297.
- Abegunde S. M. & Ayodele-Oduola R. O.** (2015) Comparison of Efficiency of Different Solvents used for the Extraction of Phytochemicals from the Leaf, Seed and Stem Bark of *Calotropis Procera*. *International Journal of Science and Research* 4, 835-838.
- Alkan, M., Gokce, A. & Kara K.** (2017) Contact Toxicity of Six Plant Extracts to Different Larval Stages of Colorado Potato Beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say (Col: Chrysomelidae)). *Journal of Agricultural Sciences* 23, 309-316.
- Altemimi, A., Lakhssassi, N., Baharlouei, A., Watson, D. G. & Lightfoot, D. A.** (2017) Phytochemicals: Extraction, Isolation, and Identification of Bioactive Compounds from Plant Extracts. *Plants* 6, 1-23.
- Amel, A. & Selima, B.** (2015) Larvicidal effect of *Marrubium vulgare* on *Culex pipiens* in eastern Algeria. *Energy Procedia* 74, 1026 – 1031.
- Amini Jam, N., Kochevli, F., Mossadegh, M. S., Rasekh, A. & Saber, M.** (2014) Lethal and sublethal effects of imidacloprid and pirimicarb on the melon aphid, *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) under laboratory conditions. *Journal of Crop Protection* 3, 89-98.
- Aouati, A. & Berchis, B.** (2015) Larvicidal effect of *Marrubium vulgare* on *Culex pipiens* in eastern Algeria. *Energy Procedia* 74, 1026 – 1031.
- Azwanida, N. N.** (2015) A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Medicinal and Aromatic Plants* 4, 1-6.

- Barile, F. A.** (2008) *Principals of Toxicology Testing*. 312 pp. CRC Press. New York.
- Briese, D. T.** (1986) Geographic variability in demographic performance of the potato moth, *Phthorimaea operculella* Zell. In Australia. *Bulletin of Entomological Research* 76, 719–726.
- Çakır, A., Özer, H., Aydın, T., Kordali, Ş., Tazegül, Çavuşoglu, A., Akçin, T., Mete, E. & Akçin, A.** (2016) Phytotoxic and insecticidal properties of essential oils and extracts of four *Achillea* species. *Records of natural products* 10, 154-167.
- Chandel, R. S., Bhatia, D., Singh, B. & Chandla. V. K.** (2010) Susceptibility of potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (zeller) to CIPC (chlorpropham). *Potato Journal* 37, 121-130.
- Dailey, A. & Vuong, Q. V.** (2015) Effect of extraction solvents on recovery of bioactive compounds and antioxidant properties from macadamia (*Macadamia tetraphylla*) skin waste. *Cogent Food & Agriculture* 1, 1-10.
- Das, G. P.** (1995) Plants used in controlling the potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller). *Crop Protection* 14, 631-636.
- Dhawan, D. & Gupta, J.** (2017) Comparison of different solvents for phytochemical extraction potential from *Datura metel* Plant Leaves. *International Journal of Biological Chemistry* 11, 17-22.
- Dimetry, N. Z.** (2012) Prospects of botanical pesticides for the future in integrated pest management program (IPM) with special reference to neem uses in Egypt. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 45, 1138-1161.
- Dinse, G. E. & Umbach, D. M.** (2013) Quantifying relative potency in dose-response studies. pp. 315-331 In Ting Lee, M. L., Gail, M., Pfeiffer, R. & Satten, G. A. (Eds), *Risk assessment and evaluation of predictions*. Springer USA.
- Dubey, N. K., Srivastava, B. & Kumar, A.** (2008) Current status of plant products as botanical pesticides in storage pest management. *Journal of Biopesticides* 1, 182–186.
- Enyiukwu, D. N., Ononuju, C. C. Awurum, A. N. & Nwaneri, J. A.** (2016) Modes of action of potential phyto-pesticides from tropical plants in plant health management. *IOSR Journal Of Pharmacy* 6, 1-17.
- El-Wakeil, N. E.** (2013) Botanical pesticides and their mode of action. *Gesunde Pflanzen* 65,125–149.
- Felhi, S., Dadud, A., Hajladui, H., Mnafigui, K., Gharsallah, N. & Kadri, A.** (2017) Solvent extraction effects on phytochemical constituents profiles, antioxidant and antimicrobial activities and functional group analysis of *Ecballium elaterium* seeds and peels fruits. *Food Science and Technology* 37, 483-492.
- Fenemore, P. G.** (1988) Host-plant location and selection by adult potato moth, *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae): A review. *Journal of Insect Physiology* 34, 175–177.

- Ferreira Maia, M. & Moore, S. J.** (2011) Plant-based insect repellents: a review of their efficacy, development and testing. *Malaria Journal* 10(Suppl 1): 1-15.
- Gamil, W. E., Mariy, F. M., Youssef, L. A. & Abdel Halim S. M.** (2011) Effect of Indoxacarb on some biological and biochemical aspects of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) larvae. *Annals of Agricultural Science* 56, 121–126.
- Gökçe, A., Whalon, M. E. Çam, H. Yanar, Y. Demirtaş, I. & Goren, N.** (2006) Plant extract contact toxicities to various developmental stages of Colorado potato beetles (Coleoptera: Chrysomelidae). *Annals of Applied Biolog* 149, 197–202.
- Gottschalk, P. G. & Dunn, J. R.** (2005) Measuring parallelism, linearity, and relative potency in bioassay and immunoassay data. *Journal of Biopharmaceutical Statistics* 15, 437–463.
- Gould, F.** (1991) Arthropod Behavior and the Efficacy of Plant Protectants. *Annual Review of Entomology* 36, 305-330.
- Granados-Echegoyen, C., Pérez-Pacheco, R., Bautista-Martínez, N., Alonso-Hernández, N., Guerra, P. C., Molina, I. Y., Yabar, E. & Gianoli, E.** (2007) Oviposition deterrence of shoots and essential oils of *Minthostachys* spp. (Lamiaceae) against the potato tuber moth. *Journal of Application Entomology* 131, 134–138.
- Hannour, K., Boughdad, A., Maataoui, A. & Bouchelta, A.** (2017) Chemical composition and toxicity of Moroccan *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) essential oils against the potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller, 1873) Zeller (Lepidoptera, Gelechiidae). *Journal of materials and Environmental Sciences* 8, 758-769.
- Hasheminia, S. M., JalaliSendi, J., Talebi Jahromi, K. & Moharramipour, S.** (2011) The effects of *Artemisia annua* L. and *Achillea millefolium* L. crude leaf extracts on the toxicity, development, feeding efficiency and chemical activities of small cabbage *Pieris rapae* L. (Lepidoptera: Pieridae). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 99, 244-249.
- Hikal, W. M., Baeshen, R. S. & Said-Al Ahl, H.** (2017) Botanical insecticide as simple extractives for pest control, *Cogent Biology* 3, 1-16.
- Isman, M. B.** (2006) Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology* 51, 45–66.
- Kchaou, W., Abbès, F., Blecker, C., Attia, H. & Besbes S.** (2013) Effects of extraction solvents on phenolic contents and antioxidant activities of Tunisian date varieties (*Phoenix dactylifera* L.), *Industrial Crops and Products* 45, 262–269.
- Koul, O., Walia, S. & Dhaliwal, G. S.** (2008) Essential oils as green pesticides: potential and constraints. *Biopesticide International* 4, 63-84.
- Laxmishree, C. & Nandita, S.** (2018) Review of Mode of action of some major botanical pesticides. *Int. Research Journal of Science & Engineering* 6, 129-132.
- Laxmishree, C. & Nandita, S.** (2017) Botanical pesticides - a major alternative to chemical pesticides: A review. *International Journal of Life Sciences* 5, 722-729.



- Lei, C. & Sun, X.** (2018) Comparing lethal dose ratios using probit regression with arbitrary slopes. *BMC Pharmacology and Toxicology* 19, 1-10.
- Lodhi, S., Vадnere, G. P., Sharma, V. K. & Usman, M. R.** (2017) *Marrubium vulgare* L.: A review on phytochemical and pharmacological aspects. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology* 6, 429-452.
- Lushchak, V. I., Matviishyn, T. M., Husak, V. V., Storey, J. M. & Storey, K. B.** (2018) Pesticides toxicity: a mechanistic approach. *EXCLI Journal* 17:1101-1136.
- Mahin Allahverdizade, N. & Mohammadi, D.** (2016) Bioactivity of *Marrubium vulgare* and *Achillea millefolium* leaf extracts on potato tuber moth *Phthorimaea operculella* Zeller. *Munis Entomology and Zoology* 1, 114-122.
- Matsumura, F.** (1985) *Toxicology of Insecticides*. 2<sup>nd</sup> ed. 598 pp. Plenum Press, New York and London.
- Nakhaie Bahrami, M., Mikani, A. & Moharramipour, S.** (2018) Effect of *Achillea millefolium* and *Teucrium polium* extracts on nutritional indices and  $\alpha$ -amylase and protease activities of Egyptian cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Crop Protection* 7, 183-190.
- Niroula, S. P. & Vaidya, K.** (2004) Efficacy of some botanicals against potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller, 1873). *Our Nature* 2, 21-25.
- Orhana, I. E., Belhattabb, R., Şenola, F. S., Gülpınarc, A. R., Hoşbaş, S. & Kartalc M.** (2010) Profiling of cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of *Artemisia absinthium*, *A. herba-alba*, *A. fragrans*, *Marrubium vulgare*, *M. astranicum*, *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* and essential oil analysis of two *Artemisia* species. *Industrial Crops and Products* 32, 566-571.
- Paramasivam, M. & Selvi, C.** (2017) Laboratory bioassay methods to assess the insecticide toxicity against insect pests-A review. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 5, 1441-1445.
- Prabhaker, N., Castle, S. J. & Toscano, N. C.** (2006) Susceptibility of Immature Stages of *Homalodisca coagulata* (Hemiptera: Cicadellidae) to Selected Insecticides. *Journal of Economic Entomology* 99, 1805-1812.
- Prakash, A., Rao, J. & Nandagopal, V.** (2008) Future of botanical pesticides in rice, wheat, pulses and vegetables pest management. *Journal of Biopesticides* 1, 154-169.
- Rafiee-Dastjerdi, H., Khorrani, F., Razmjou, J., Esmailpour, B., Golizadeh, A. & Hassanpour, M.** (2013a) The efficacy of some medicinal plant extracts and essential oils against potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Crop Protection* 2, 93-99.
- Rafiee-Dastjerdi, H., Mashhadi, Z. & Sheikhi Garjan, A.** (2013b) Lethal and sublethal effects of abamectin and deltamethrin on potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Crop Protection* 2, 403-409.

- Rattan, R. S.** (2010) Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. *Crop Protection* 29, 913-920.
- Regnault-Roger, C.** (1997) The potential of botanical essential oils for insect pest control. *Integrated Pest Management Reviews* 2, 25-34.
- Rodriguez-Saona, C., Wanumen, A. K., Salamanca, J., Holdcraft, R. & Kyryczenko-Roth, V.** (2016) Toxicity of insecticides on various life stages of two Tortricid pests of Cranberries and on a non-target predator. *Insects* 7, 1-20.
- Rondon, S. I.** (2010) The potato tuber worm: a literature review of its biology, ecology, and control. *American Journal of Potato Research* 87, 149-166.
- Rondon, S. I., DeBano, S. J., Clough, G. H., Hamm, P. B., Jensen, A., Schreiber, A., Alvarez, J. M., Thornton, M., Barbour, J. & Dögramaci, M.** (2007) Biology and management of the potato tuberworm in the Pacific Northwest. *A Pacific Northwest Extension publication* 594, 1-7.
- Rozman, V.** (2015) Control of stored products pests by natural products. *Integrated Protection of Stored Products* 111, 295-299.
- Sánchez-García, J. A., Martínez-Tomas, S. H. & Sánchez-Mendoza, S.** (2015) Insecticidal effect of botanical extracts on developmental stages of *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Trioizidae). *Southwestern Entomologist* 40, 97-110.
- Sevindik, H. G., Güvenalp, Z., Yerdelen, K. O., Yuca, H. & Demirezer, L. O.** (2015) The discovery of potential anticholinesterase compounds from *Achillea millefolium* L. *Industrial Crops and Products* 76, 873-879.
- Sharaby, A., Abdel-Rahman, H. & Moawad, S.** (2009) Biological effects of some natural and chemical compounds on the potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* Zell. (Lepidoptera: Gelechiidae). *Saudi Journal of Biological Sciences* 16, 1-9.
- Shelton, A. M. & Wyman, J. A.** (1979) Potato tuber worm damage to potato grown under different irrigation and cultural practices. *Journal of Economic Entomology* 72, 261-264.
- Sisay, A. & Ibrahim, A.** (2012) Evaluation of some potential botanicals to control potato tuber moth, (*Phthorimaea Operculella*) under storage condition at Bako, western Ethiopia. *ESci journal of plant pathology* 1, 14-18.
- Siyahlou, S., Barzin, G. & Entezari, M.** (2016) Review and study of *Achillea milefolium* essential oil compounds in various stages of development. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences* 10, 1112-1115.
- SPSS Inc. Released** (2007) SPSS for Windows, Version 16.0. Chicago, SPSS Inc.
- Stamopoulos, D. C., Damos P. & Karagianidou, G.** (2007) Bioactivity of five monoterpenoid vapours to *Tribolium confusum* (du Val) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Stored Product Research* 43, 571-577.

- 
- Stenersen, J.** (2004) *Chemical pesticides: mode of action and toxicology*. CRC Press. New York Washington, D.C. 276 pp.
- Trivedi, A., Nayak, N. & Kumar, J.** (2018) Recent advances and review on use of botanicals from medicinal and aromatic plants in stored grain pest management. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 6, 295-300.
- Varela, L. G. & Bernays, E. A.** (1988) Behavior of newly hatched potato tuber moth larvae, *Phthorimaea operculella* Zell. (Lepidoptera: Gelechiidae), in relation to their host plants. *Journal of Insect Behavior* 1, 261-275.
- Zlotek, U., Mikulska, S., Nagajek, M. & Swieca, M.** (2016) The effect of different solvents and number of extraction steps on the polyphenol content and antioxidant capacity of basil leaves (*Ocimum basilicum* L.) extracts. *Saudi Journal of Biological Sciences* 23, 628-633.
-