پژوهش‌های کاربردی در گیاه‌پزشکی ۱۱ (۳): ۳۲-۱۷ (۱۴۰۱)- مقاله پژوهشی
Journal of Applied Research in Plant Protection 11(3): 17-32 (2022)-Research Article
DOI: https://dx.doi.org/10.22034/arpp.2021.115186

مقایسه سمیت گوارشی عصاره‌های کرفس (*Apium graveolens*) و علف‌داسی (*Falcaria vulgaris*) با حشره‌کش *Bt* علیه بید سیب‌زمینی، *Phthorimaea operculella*

اکرم حاتمی[۱]، داود محمدی[۱]✉، ناصر عیوضیان کاری[۱]

[۱] *گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران.* ✉ mohamadi@azaruniv.ac.ir

دریافت: ۱۴۰۰/۴/۸ بازنگری: ۱۴۰۰/۶/۱۹ پذیرش: ۱۴۰۰/۷/۱۱

چکیده

در این بررسی اثرات کشندگی و زیستی عصاره‌های هگزانی، اتیل‌استاتی و متانولی گیاهان کرفس (*Apium graveolens*) و علف‌داسی (*Falcaria vulgaris*) از تیره چتریان با حشره‌کش *Bt* علیه لاروهای سن اول بید سیب‌زمینی مورد مقایسه قرار گرفت. اندام‌های هوایی گیاهان پس از خشک شدن در سایه با روش خیساندن در حلال‌های اشاره شده، عصاره‌گیری شدند. نتایج نشان داد که طی ۲۴ ساعت، سمیت عصاره اتیل‌استاتی کرفس و علف‌داسی به‌ترتیب با مقادیر LC_{50} برابر با ۰/۲۱ و ۰/۳۸ میلی‌گرم بر لیتر به‌طور معنی‌داری از بقیه عصاره‌ها و حتی *Bt* (۱/۸۴ میلی‌گرم بر لیتر) بیشتر بود. تاثیر کشندگی عصاره‌های هگزانی و اتیل‌استاتی هر دو گیاه حتی طی ۴۸ و ۷۲ ساعت نیز بیشتر از *Bt* بود. با وجود تاثیر کمتر، عصاره‌های متانولی هر دو گیاه بیشترین میزان شیب خط دز- اثر را داشتند. بیشترین میزان پتانسیل نسبی محاسبه شده ۶۹/۷۶ برابر بود که در مقایسه سمیت عصاره اتیل‌استاتی کرفس با *Bt* به‌دست آمد و نشان‌دهنده قدرت کشندگی بسیار بالای این عصاره در مقایسه با *Bt* بود. طبق نتایج، عصاره اتیل‌استاتی هر دو گیاه در مقایسه با سایر عصاره‌ها روی آنزیم استیل‌کولین استراز لاروهای سن اول اثر مهارکنندگی قابل توجهی داشتند به‌طوری که در غلظت LC_{70}، فعالیت این آنزیم را بین ۷۰-۶۰ درصد مهار کردند. درصد ظهور حشرات کامل تحت تاثیر غلظت LC_{70} عصاره‌های اتیل‌استاتی هر دو گیاه بین ۶۸ الی ۸۰ درصد کاهش یافت. طول دوره نشو و نمایی لاروی نیز در اثر استفاده از عصاره‌های اتیل‌استاتی و متانولی هر دو گیاه در مقایسه با شاهد به‌طور متوسط هشت روز افزایش یافت.

واژه‌های کلیدی: اثرات ضدتغذیه‌ای، پتانسیل نسبی، حشره‌کش گیاهی، طول دوره نشو و نمایی، مهارکننده استیل‌کولین‌استراز

Comparing oral toxicity of *Apium graveolens* and *Falcaria vulgaris* extracts with *Bt* against *Phthorimaea operculella*

Akram Hatami[1], Davoud Mohammadi[1]✉, Naser Eivazian Kary[1]

[1]*Department of Plant Protection, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz-Iran*. ✉ mohamadi@azaruniv.ac.ir

Received: 29 June 2022 Revised: 10 September 2022 Accepted: 3 October 2022

Abstract

In this study, toxicity of hexane, ethyl acetate and methanol extracts of *Apium graveolens* and *Falcaria vulgaris* were compared with the microbial insecticide *Bt* against 1st instars of *Phthorimaea operculella*. The aerial parts of plants dried in shadow, and were extracted using the above mentioned solvents via maceration method. The results revealed that after 24 hours' exposure, ethyl acetate extracts of both plants were significantly more toxic than other extracts with LC_{50} values of 0.21 and 0.38 mg/l respectively. These extracts in addition with hexane extracts also were more toxic than *Bt* after 48 and 72 hours. The dose-response line slopes of methanol extracts of both plants were more than other agents otherwise less toxic than them. The best relative potency calculated as 69.76 fold in comparing toxicity of *Bt* with ethyl acetate extract of *A. graveolens* which indicates the toxicant potential of this extract against PTM larvae. According to the results, Ethyl acetate extracts of both plants showed more AchE inhibitory activity in comparing with other extracts and 60-70% inhibition recorded by LC_{70} concentration of these extracts. Adults emergence reduced by 68-80% in LC_{70} concentration of ethyl acetate extracts of both plants. Life span of PTM larvae which treated with methanol and ethyl acetate extract of both plants, increased by 8 days in comparing with controls.

Keywords: AChE Inhibitor, Antifeedant Effects, Botanical Insecticide, Life Span, Relative Potency

How to cite:
Hatami A, Mohammadi D, Eivazian Kary N, 2022. Comparing Oral Toxicity of *Apium graveolens* and *Falcaria vulgaris* Extracts with Bt Against *Phthorimaea operculella* (Zeller). *Journal of Applied Research in Plant Protection* 11 (3): 17–32.

مقدمه

سیب‌زمینی جزو مهم‌ترین محصولات کشاورزی دنیا در تامین غذای مورد نیاز انسان‌ها است. در کشور ما نیز این محصول با توجه به سطح زیر کشت بیش از ۱۵۰ هزار هکتاری و عملکرد نزدیک به پنج میلیون تن در سال جزو پنج محصول مهم زراعی به‌شمار می‌آید (Ahmadi *et al*. 2020). آفات و بیماری‌های متعددی عملکرد این گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهند که در بین آنها بید سیب‌زمینی، *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lep.: Gelechiidae)، با خسارت زدن در مزرعه و به‌ویژه در انبار، اهمیت بسیار زیادی در کاهش بازده تولید این محصول دارد. حشرات کامل بید سیب‌زمینی در طول فصل زراعی روی اندام‌های هوایی گیاهان و گاهی روی غده‌ها تخم‌گذاری می‌کنند. لاروها به‌صورت مینوز از برگ، دمبرگ و ساقه تغذیه کرده، باعث صدمه دیدن اندام‌های هوایی می‌شوند. هر چند این نوع خسارت تاثیر زیادی در عملکرد نهایی ندارد، اما آلوده شدن غده‌ها، سبب کاهش کیفیت محصول و آلودگی‌های ثانویه شده و از بازارپسندی غده‌ها می‌کاهد. میزان خسارت در انبارها نیز بسیار بالا بوده و ممکن است تمام محصول را از بین ببرند (Alvarez *et al*. 2005; Rondon 2010; Capinera 2020).

حشره‌کش‌های متعددی مانند دلتامترین، آبامکتین، آزینفوس‌اتیل، اندوسولفان و تیوکلوپرید جهت کنترل این آفت در مزرعه مورد استفاده قرار گرفته‌اند اما استفاده بی‌رویه از این سموم باعث بروز مقاومت و اثرات سوء روی شکارگرها و پارازیتوئیدها شده است. از طرفی، به‌دلیل اینکه این حشره ممکن است در مزرعه وارد غده‌ها شود، کنترل شیمیایی چندان موثر نخواهد بود. کنترل شیمیایی در انبارها به‌ویژه با سموم شیمیایی تدخینی مانند متیل‌بروماید و فستوکسین به‌صورت ضدعفونی انبارها و تدخین صورت می‌گیرد (Capinera 2020; Rafiee-Dastjerdi *et al*. 2013). مطالعات نشان داده است که در کشورهای مختلف، بید سیب‌زمینی به بسیاری از سموم شیمیایی مانند ارگانوفسفات‌ها، کاربامات‌ها و پایریتروئیدها مقاوم شده است. استفاده از روش‌های امن در کنترل تلفیقی این آفت مانند گیاهان مقاوم، کنترل میکربی و حشره‌کش‌های بر پایه گیاهی، می‌تواند ضمن کاهش زیان اقتصادی آفت، از اثرات مخرب بر انسان، موجودات غیرهدف و محیط زیست بکاهد (Alvarez *et al*. 2005; Capinera 2020).

به‌دلیل اهمیت بید سیب‌زمینی و نیز زیست‌شناسی این آفت که علاوه بر مزرعه در انبار نیز صدمه وارد می‌کند، استفاده از عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهان مختلف برای کنترل مراحل مختلف زیستی این آفت توسط محققان مختلف بررسی شده است. مطالعات نشان داده است که گیاهان دارای ترکیباتی موثر بر آفات هستند که می‌توانند به‌عنوان جایگزین مواد شیمیایی مصنوعی یا همراه با سایر روش‌ها در برنامه‌های مدیریت تلفیقی آفات استفاده شوند (Eze & Echezona 2012). به‌عنوان مثال، در یک بررسی پوشاندن غده‌های سیب‌زمینی با برگ‌ها و گل‌های خشک شده گیاهان *Minthostachys spicata* (Benth.) Spach و *Minthostachys glabrescens* (Benth.) Epling از تیره نعناعیان باعث جلوگیری از تخم‌گذاری ماده‌ها و کاهش آلودگی به بید سیب‌زمینی شد (Guerra *et al*. 2006). در مطالعه‌ای دیگر، اثر تدخینی اسانس گیاه مورد *Myrtus communis* L. (Mytraceae) و نوعی آویشن *Thymus syriacus* Boiss (Lamiaceae) علیه تخم‌ها، لاروها، شفیره‌ها و حشرات کامل این آفت مورد بررسی قرار گرفت که طبق نتایج، حشرات کامل بیشترین حساسیت و شفیره‌ها کمترین حساسیت را نسبت به اسانس هر دو گیاه نشان دادند. همچنین گزارش شده که اسانس گیاه *T. syriacus* برای تخم‌های بید سیب‌زمینی کشنده بود (Tayoub *et al*. 2016). در مطالعه دیگری مشخص شد که اسانس‌های زیره سبز *Cuminum cyminum* L. (Apiaceae)، نعناع فلفلی *Mentha piperita* L. (Lamiaceae)، و رازیانه *Feoniculum vulgare* L. (Apiaceae)، روی لاروهای سنین مختلف این آفت در مزرعه و انبار اثر کشندگی داشتند (Sharaby *et al*. 2014).

اغلب گیاهان تیره چتریان حاوی ترکیبات موثر بر رفتار و زیست‌شناسی حشرات هستند و در زمینه کشندگی، اثرات دورکنندگی و رفتاری آن‌ها بر حشرات مختلف مطالعات متعددی انجام شده است (Ebadollahi 2013). مثلا اثر ضدتغذیه‌ای زیره سیاه *Carum carvi* L.، بر لاروهای بید سیب‌زمینی (Wawrzyniak & Lamparski 2006) و اثر دورکنندگی عصاره استونی زنیان رومی *Trachyspermum ammi* (L.) Sprague و میخک صدپر *Syzygium aromaticu* (L.) Merrill & Perry (Myrtaceae) علیه حشرات کامل شپشه قرمز آرد *Tribolium castaneum* Herbst (Col.: Tenebrionidae) گزارش شده است (Sagheer *et al*. 2014). در مطالعه‌های دیگری، تاثیر کشندگی اسانس رازیانه روی شته مومی کلم *Brevicoryne brassicae* L. (Hem.: Aphididae) (Lucca *et al*. 2015) و اسانس شوید *Anethum graveolens* L. روی سوسری آمریکایی *Periplaneta americana* (Linnaeus) (Blat.: Blattidae)، مگس‌خانگی *Musca domestica* L. (Dip.: Muscidae) و شپشه قرمز آرد *T.*

castaneum اثبات شده است (Babri *et al*. 2012). اثرات ضد تخم‌گذاری خوبی از عصاره اتیل‌استاتی علف‌داسی *Falcaria vulgaris* Bernh (Apiaceae) و کرفس *Apium graveolens* L. (Apiaceae)، ثبت شده و اثرات تخم‌کشی و تدخینی علیه لاروهای سن اول بید سیب‌زمینی نیز خوب گزارش شده‌اند (Hatami *et al*. 2019).

علاوه بر ترکیبات گیاهی، حشره‌کش‌های میکروبی و به‌ویژه *Bt*، به‌دلیل کارایی و امنیت بسیار بالا برای انسان، محیط زیست و موجودات غیرهدف نقش پررنگی در مدیریت آفات و مقاومت آنها نسبت به آفت‌کش‌های مصنوعی دارند (Sanchis & Bourguet 2008; Rahman *et al*. 2014). تاثیر این باکتری در کنترل بید سیب‌زمینی مورد توجه محققان مختلفی بوده است (Sporleder & Kroschel 2013; Salama & Salem 1999). این باکتری، حشره‌کشی گوارشی است که با اختلال در عملکرد سلول‌های پوششی روده میانی و فیزیولوژی گوارش، حشرات را دچار بیماری کرده و از بین می‌برد (Melo *et al*. 2016). کریستال سمی پس از خورده شدن، توسط پروتئازهای گوارشی حشره فعال می‌شود که با متصل شدن به ریزپرزهای سلول‌های ستونی (Microvillar brush-border) روده میانی، باعث برهم خوردن تعادل اسمزی و تخریب شدن سلول‌های پوششی (Epithelial cells) و سرانجام مرگ حشره می‌شود (Sansinenea 2012). با توجه به اهمیت عصاره‌های گیاهی و حشره‌کش میکروبی *Bt* در کنترل آفات مختلف، در این تحقیق سمیت گوارشی عصاره‌های مختلف دو گیاه علف‌داسی و کرفس و مقایسه آن با *Bt* مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

پرورش بید سیب‌زمینی

تخم‌های بید سیب‌زمینی از انسکتاریوم گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان تهیه شدند. برای پرورش لاروها، غده‌های سیب‌زمینی رقم آگریا در ظروف پلاستیکی مستطیلی سفید مات (به ابعاد ۱۰ × ۱۵× ۲۵ سانتی‌متر) قرار داده شدند. در کف این ظروف، از ماسه استریل الک شده با الک ۴۰ مش به ضخامت نیم سانتی‌متر جهت تهیه بستر شفیرگی استفاده شد. ظروف پرورش در انسکتاریوم با شرایط دمایی ۲±۲۶ درجه سلسیوس، دوره نوری ۱۶:۸ ساعت (تاریکی: روشنایی) و رطوبت نسبی ۵ ± ۵۰ درصد قرار داده شدند. برای تخم‌گیری، حشرات کامل به ظروف استوانه‌ای پلاستیکی به قطر ۱۵ و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر که دهانه آنها با توری ۴۰ مش مسدود شده و زیر آن یک لایه کاغذ روغنی گذاشته شده بود، منتقل می‌شدند. برای تغذیه حشرات کامل از محلول آب عسل ۱۰ درصد استفاده شد. کاغذهای تخم‌گیری روزانه تعویض شدند. برای انجام آزمایش‌ها از لاروهای سن اول حداکثر ۱۲ ساعته استفاده شد (Furong & Zhengue 2003).

کاشت گیاه سیب‌زمینی

برای مطالعه سمیت و اثرات زیستی عصاره‌های گیاهی و *Bt*، به برگ‌های تازه سیب‌زمینی نیاز بود. برای تامین برگ، غده‌های سیب‌زمینی (رقم آگریا) در داخل پارچه مرطوب گذاشته و برای جوانه‌زدن به داخل ژرمیناتور با دمای ۲ ± ۲۵ درجه سلسیوس منتقل شدند. پس از جوانه زدن، هر غده در عمق ۱۰ سانتی-متری یک گلدان گرد به قطر دهانه ۲۵ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر که دارای ماسه، خاک زراعی و کود دامی (به نسبت مساوی) بود، کاشته شد. گلدان‌ها در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید مدنی آذربایجان در دمای ۵ ± ۲۰ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۱۰± ۵۰ درصد قرار داده شدند. پس از جوانه‌زنی و رشد گیاهان، از برگ‌های سالم و مشابه سیب‌زمینی جهت انجام آزمایش‌ها استفاده شد.

تهیه عصاره‌های گیاهی

اندام‌های هوایی دو گیاه علف‌داسی و کرفس پس از شستشو و خرد شدن، در دمای اتاق (دامنه دمایی ۲۲ تا ۲۸ درجه سلسیوس) در شرایط سایه خشک شدند. برای عصاره‌گیری از روش خیساندن (Maceration method) استفاده شد. گیاهان خشک شده اندکی خرد و در حلال‌های ان- هگزان، اتیل‌استات و متانول به نسبت ۱:۵ (حلال: گیاه خشک) حجمی- وزنی خیسانده شدند. این مخلوط‌ها به‌مدت ۱۵روز به‌صورت روزانه و به روش مکانیکی (با استفاده از همزن شیشه‌ای دستی) هم زده می‌شدند (Allahverdizade & Mohammadi 2016). پس از اتمام دوره خیساندن، به‌منظور تهیه عصاره‌های گیاهی، از دستگاه تبخیر دهنده چرخشی (Rotary evaporator; Model: Heidolph) با دمای۴۰ درجه سلسیوس و ۲۵۰ دور در دقیقه برای تمام عصاره‌ها استفاده شد. پس از بازیافت حلال، مواد رسوب یافته به‌عنوان عصاره گیاهی جمع‌آوری، توزین و در شرایط دمایی یخچال (چهار درجه سلسیوس) و در تاریکی برای انجام مطالعات بعدی نگهداری شدند (Handa *et al*. 2008).

زیست‌سنجی عصاره‌ها و Bt

برای برآورد غلظت‌های کشنده عصاره‌ها و *Bt* از روش معمول و استاندارد زیست‌سنجی آفت‌کش‌ها با روش غوطه‌ور کردن برگ‌های (Leaf dipping method) تازه سیب‌زمینی استفاده شد (Paramasivam & Selvi 2017). به‌منظور بررسی سمیت گوارشی عصاره‌های هگزانی، اتیل‌استاتی و متانولی علف‌داسی و کرفس، پس از انجام آزمایش‌های اولیه و تعیین دو غلظت کشنده ۱۰ و ۹۰ درصد، غلظت‌های نهایی با استفاده از حلال استون و فرمول فاصله لگاریتمی به شرح زیر برای آزمایش‌های نهایی تهیه شدند: عصاره هگزانی علف‌داسی: ۸، ۴، ۲، ۱، ۰/۵ و ۰/۲۵ میلی-گرم بر لیتر، عصاره هگزانی کرفس: ۱/۲۵، ۰/۶۲، ۰/۳۱، ۰/۱۵ و ۰/۰۷ میلی‌گرم بر لیتر، عصاره اتیل‌استاتی علف‌داسی: ۱، ۰/۵، ۰/۲۵، ۰/۱۲، ۰/۰۶۲۵ و ۰/۰۱۵۶۲ میلی‌گرم بر لیتر، عصاره اتیل‌استاتی کرفس: ۱، ۰/۵، ۰/۲۵، ۰/۱۲، ۰/۰۶ و ۰/۰۳۱ میلی-گرم بر لیتر عصاره متانولی علف‌داسی: ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۰/۱۲ و ۰/۰۶ میلی‌گرم بر لیتر، و عصاره متانولی کرفس: ۷۰، ۳۵، ۱۷/۵، ۸/۷۵ و ۴/۳۷ میلی‌گرم بر لیتر.

برای بررسی سمیت گوارشی حشره‌کش *Bt* (حشره‌کش میکروبی بی‌تورین *Bt* Var Kurstaki®، ساخت شرکت مهر آسیا بیوتکنولوژی؛ MAB Co)، پس از انجام آزمایش‌های مقدماتی و تعیین دو غلظت کشنده ۱۰ و ۹۰ درصد، غلظت‌های نهایی شامل ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵ ، ۳/۱۲۵ و ۱/۵۶۲میلی‌گرم بر لیتر تهیه شدند.

برگ‌های سیب‌زمینی پس از شستشو با آب مقطر به مدت ۲۰ ثانیه در هر یک از محلول‌های فوق غوطه‌ور شدند. پس از تبخیر حلال، برگ‌ها به تشتک‌های پتری پلاستیکی به قطر شش سانتی‌متر منتقل شدند. روی درب این تشتک‌ها سوراخی به قطر یک سانتی‌متر برای تهویه ایجاد و با توری ۴۰ مش مسدود شد. در کف آنها نیز یک تکه کاغذ صافی مرطوب به قطر شش سانتی-متر (مرطوب شده با ۳۵۰ میکرولیتر آب دیونیزه) قرار داده شد. در هر یک از تشتک‌های پتری پنج عدد لارو سن اول حداکثر ۱۲ ساعته بر روی برگ‌های سیب‌زمینی رهاسازی شد. جهت جلوگیری از فرار لاروها، اطراف تشتک‌های پتری با پارافیلم مسدود شد. در نهایت، این تشتک‌ها در داخل ژرمیناتور (دمای ۲ ± ۲۵ درجه سلسیوس؛ رطوبت نسبی ۵ ± ۵۰ درصد؛ دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) قرار داده شدند. از حلال استون به‌عنوان شاهد استفاده شد. تمامی آزمایش‌ها در شش تکرار انجام شدند. مرگ و میر لاروها پس از گذشت ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت ثبت گردید.

سنجش میزان مهار شدن فعالیت آنزیم استیل‌کولین استراز توسط عصاره‌های گیاهی

برای سنجش فعالیت آنزیم استیل‌کولین استراز از کیت تشخیصی این آنزیم، ساخت شرکت بیورکس فارس استفاده شد. این کیت حاوی دو معرف R1 و R2 بود. معرف R1 حاوی ۷۵ میلی‌مول بر لیتر بافر فسفات با pH = ۷/۶ و ۲ میلی‌مول بر لیتر پتاسیم هگزاسیانوفرات (Potassium hexacyanoferrate) بود. معرف دوم (R2) نیز حاوی ۱۵ میلی‌مول بر لیتر اس- بوتیریل-تیوکولین یدید (s-butyrylthiocholine iodide) به‌عنوان زیرنهشت واکنش بود. این دو معرف به نسبت ۵ به ۱ (R1 به R2) در واکنش استفاده شدند. واکنش در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انجام و جذب در طول موج ۴۰۵ نانومتر ثبت شد. اساس واکنش به‌صورت زیر است: بوتیریل‌تیوکولین موجود در زیرنهشت در حضور آنزیم استیل‌کولین استراز به بوتیرات و تیوکولین تبدیل می‌شود. تیوکولین تولید شده با هگزاسیانوفرات III زرد رنگ واکنش می‌دهد و هگزاسیانوفرات II بی‌رنگ تشکیل می‌شود. تغییر رنگ در طول موج ۴۰۵ نانومتر پس از۹۰ ثانیه قابل اندازه‌گیری است.

برای تهیه نمونه آنزیمی از لاروهای سن اول بید سیب‌زمینی که روی برگ‌های تازه سیب‌زمینی پرورش پیدا کرده بودند استفاده شد. تعداد ۲۰ لارو به ازای هر میلی‌لیتر بافر فسفات (pH = 7) با استفاده از هاون دستی کاملا سرد شده در فریزر له و سپس با استفاده از هموژنایزر (Ultra-Turrax T8) به‌طور کامل همگن شد. مخلوط حاصل به‌مدت چهار ساعت در یخچال نگهداری و سپس به‌مدت ۱۵ دقیقه با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه و دمای چهار درجه سلسیوس سانتریفیوژ شد. محلول رونشین به-عنوان منبع آنزیمی جمع‌آوری و در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شد و در مطالعات بعدی مورد استفاده قرار گرفت (Hemmatpour 2017).

برای بررسی فعالیت آنزیم، ۹۶۰ میکرولیتر بافر و ۴۰ میکرولیتر نمونه آنزیمی در داخل لوله آزمایش ریخته و در داخل بن ماری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه شد. سپس، میزان جذب نمونه در ۴۰۵ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر (Mapada Instrument) ثبت شد. در ادامه، ۲۰۰ میکرولیتر زیرنهشت (R2) به محلول اضافه و میزان جذب مجدد یادداشت شد. تفاضل اعداد به‌دست آمده میزان فعالیت آنزیم استیل‌کولین نمونه‌ها را نشان می‌دهد. برای بررسی میزان مهارکنندگی فعالیت استیل‌کولین استراز توسط هر یک از عصاره‌های گیاهی، غلظت‌های LC_{70} و LC_{30} (داده‌های ۲۴

ساعت) از هر عصاره تهیه شدند. سپس ۹۰۰ میکرولیتر بافر، ۴۰ میکرولیتر نمونه آنزیمی و ۶۰ میکرولیتر از هر یک از مقادیر LC_{70} و LC_{30} عصاره‌ها در لوله آزمایش ریخته و داخل بن ماری در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه انکوبه شد و میزان جذب یادداشت گردید. در نهایت، ۲۰۰ میکرولیتر زیرنهشت اضافه گردید و پس از ۹۰ ثانیه میزان جذب نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. با مقایسه فعالیت در شاهد و نمونه دارای عصاره گیاهی، میزان مهارکنندگی عصاره‌ها محاسبه شد (Ellman *et al.* 1961).

بررسی اثرات زیستی عصاره‌ها بر بید سیب‌زمینی

برای مطالعه اثرات عصاره‌های گیاهی مورد بررسی روی برخی فراسنجه‌های زیستی بید سیب‌زمینی، لاروهای سن اول تازه ظاهر شده به تعداد ۲۰۰ عدد در ۱۰ تکرار با استفاده از برگ‌های تازه سیب‌زمینی در معرض هرکدام از غلظت‌های LC_{30} و LC_{70} عصاره‌ها قرار داده شدند. مطالعات در شرایط کنترل شده مشابه زیست‌سنجی انجام گرفتند. پس از گذشت هفت روز، لاروها به روی برگ‌های تیمار نشده سیب‌زمینی منتقل و تا ظهور حشرات کامل با برگ‌های تازه سیب‌زمینی تغذیه شدند. داده‌های مربوط به مرگ‌ومیر روزانه، طول دوره نشو و نمایی لاروی و درصد ظهور حشرات کامل ثبت گردید (Kay 2006).

تجزیه و تحلیل‌های آماری

تجزیه پروبیت داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد. در صورت مشاهده مرگ و میر در تیمارهای شاهد از فرمول آبوت (Abbott 1925) برای تصحیح داده‌ها استفاده شد. تست هم‌راستایی خطوط دز- اثر با برآورد رگرسیون پروبیت درصد تلفات با لگاریتم غلظت‌های مورد استفاده و آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت. پتانسیل نسبی نیز با مقایسه مقادیر کشنده ۵۰ درصد افراد با استفاده از نرم افزار SPSS با تجزیه پروبیت انجام گرفت. برای آنالیز داده‌ها و مقایسات میانگین نیز از همین نرم افزار و آزمون توکی در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

نتایج

سمیت گوارشی عصاره‌های گیاهی و Bt

نتایج نشان داد که عصاره‌های هر دو گیاه سمیت گوارشی قابل قبول و در مواردی بهتر از *Bt* علیه لاروهای سن اول بید سیب‌زمینی داشتند (جدول‌های ۱ و ۲). ۲۴ ساعت پس از شروع زیست‌سنجی، عصاره اتیل‌استاتی علف‌داسی و کرفس به‌ترتیب با مقادیر LC_{50} معادل ۰/۳۸ و ۰/۲۱ میلی‌گرم بر لیتر بیشترین تاثیر را در مقایسه با سایر عصاره‌ها داشتند و پس از آنها عصاره هگزانی به‌ترتیب با LC_{50} معادل ۱/۳۵ و ۰/۶۱ میلی‌گرم بر لیتر در مقایسه با *Bt* تاثیری بهتری داشتند (جدول ۱). عصاره متانولی کرفس با LC_{50} معادل ۱۶/۰۳ و عصاره متانولی علف-داسی با مقدار ۱۰/۳۴ میلی‌گرم بر لیتر کمترین اثر کشندگی را در مقایسه با بقیه تیمارها در ۲۴ ساعت اول زیست‌سنجی نشان دادند. در مجموع فقط عصاره‌های متانولی دو گیاه اثر کشندگی کمتر از *Bt* داشتند. با وجود این، مقایسه شیب خطوط دز- اثر (جدول ۱) نشان داد که بیشترین شیب خط مربوط به *Bt* بود (۰/۷ ± ۳/۴۸). شیب خطوط دز- اثر عصاره متانولی هر دو گیاه در مقایسه با سایر عصاره‌ها بیشتر بودند (به‌ترتیب ۲/۲۸ و ۲/۱۲ برای علف‌داسی و کرفس). همراستایی خطوط دز- اثر عصاره‌های گیاهی با *Bt* در جدول ۴ مقایسه شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، در سطح احتمال پنج درصد، تنها خطوط دز- اثر مربوط به عصاره‌های متانولی با *Bt* موازی هستند و بقیه خطوط هم‌راستا نیستند. همچنین، پتانسیل نسبی سمیت عصاره‌ها در مقایسه با *Bt* نیز در جدول ۴ خلاصه شده است. همان‌گونه که مشاهده می‌شود، بیشترین پتانسیل سمیت در مقایسه با *Bt* به‌ترتیب در عصاره‌های اتیل‌استاتی کرفس و علف-داسی با مقادیر ۹/۱۷ و ۵/۸۷ محاسبه شد (جدول ۴). پس از آنها، عصاره‌های هگزانی با مقادیر ۳/۵۲ و ۱/۵۱ برابر، پتانسیل سمیت نسبتا بالاتری را در مقایسه با *Bt* نشان دادند.

جدول ۱. تاثیر عصاره‌های گیاهان علف‌داسی و کرفس و *Bt* روی لاروهای سن اول بید سیب‌زمینی پس از ۲۴ ساعت.

Table 1. Effect of *Falcaria vulgaris* and *Apium graveolens* extracts and *Bt* on 1st instar of potato tuber moth, *Phthorimaea operculella*, after 24 hours.

Plant extracts		χ^2 Parameters			Slope ± SE	LC_{30}* (CI)	LC_{50}** (CI)	LC_{70} (CI)
		χ^2	df	p				
F. vulgaris	Hexane	0.45	5	0.99	0.22 ± 0.9	0.03 (0.09-0.70)	1.35 (0.69-3.11)	5.12 (2.40-28.56)
	Ethyl acetate	0.14	6	1	0.18 ± 0.79	0.08 (0.02-0.16)	0.38 (0.19-1.06)	1.76 (0.71-13.47)
	Methanol	1.11	2	0.57	0.57 ± 2.28	4.09 (3.24-8.71)	10.34 (7.08-16.28)	17.55 (12.02-39.07)
A. graveolens	Hexane	0.87	3	0.83	0.39 ± 1.43	0.26 (0.12-0.44)	0.61 (0.37-15.34)	1.41 (0.75-7.99)
	Ethyl acetate	0.34	4	0.98	0.28 ± 1.07	0.07 (0.01-0.13)	0.21 (0.11-0.46)	0.66 (0.34-3.34)
	Methanol	1.43	3	0.69	0.43 ±2.12	9.07 (4.98-13.08)	16.03 (10.84-23.48)	28.32 (19.74-50.31)
	Bt	0.12	4	0.93	3.48±0.7	1.3 (0.89-1.67)	1.84 (1.4-2.43)	2.6 (2.01-3.84)

*Confidence Interval, **Units: mg/l

در جدول ۲ کشندگی عصاره‌های گیاهی در مقایسه با *Bt* پس از ۴۸ ساعت ارایه شده است. طبق نتایج، روند تاثیر عصاره‌ها در ۴۸ ساعت نیز مشابه ۲۴ ساعت بود و عصاره‌های اتیل‌استاتی کرفس و علف‌داسی به‌ترتیب با مقادیر LC_{50} معادل ۰/۰۱۵ و ۰/۱۱ میلی‌گرم بر لیتر در مقایسه با سایر عصاره‌ها بیشترین تاثیر را روی لاروهای سن اول بید سیب‌زمینی نشان دادند. پس از آنها عصاره‌های هگزانی به‌ترتیب با مقادیر ۰/۳۳ و ۰/۶۶ میلی‌گرم بر لیتر سمیت گوارشی بهتری در مقایسه با *Bt* داشتند. کمترین اثر کشندگی در مقایسه با *Bt* در عصاره‌های متانولی هر دو گیاه (مقادیر LC_{50} به‌ترتیب ۸/۹۳ و ۳/۲۴ میلی‌گرم بر لیتر) ثبت گردید (جدول ۲). همانند ۲۴ ساعت، شیب خطوط دز- اثر عصاره‌های متانولی علف‌داسی و کرفس به‌ترتیب با مقادیر ۲/۶۷ و ۱/۹۲ از سایر عصاره‌ها بیشتر بود (جدول ۲). نتایج (جدول ۴) نشان داد که عصاره اتیل‌استاتی کرفس با پتانسیل سمیت نسبی ۶۹/۷۶ در مقایسه با سایر عصاره‌ها بیشترین سمیت را نسبت به *Bt* علیه لاروهای سن اول بید سیب‌زمینی دارا بود. پس از آن، عصاره‌های اتیل‌استاتی علف‌داسی با پتانسیل نسبی ۸/۴۲، در مقایسه با *Bt* تاثیر بیشتری داشتند. عصاره‌های هگزانی کرفس و علف‌داسی به‌ترتیب با مقادیر ۲/۶۹ و ۱/۴۹ نیز پتانسیل سمیت بهتری را در مقایسه با *Bt* نشان دادند. کمترین پتانسیل سمیت مربوط به عصاره متانولی کرفس (با مقدار عددی ۰/۰۹) بود (جدول ۴). در بررسی همراستایی خطوط دز- اثر نیز به جز عصاره‌های اتیل‌استاتی، خطوط دوز- اثر سایر عصاره‌ها با *Bt* هم-راستا بودند (جدول ۴).

جدول ۲. تاثیر عصاره‌های گیاهان علف‌داسی و کرفس و *Bt* روی لاروهای سن اول بید سیب‌زمینی پس از ۴۸ ساعت.

Table 2. Effect of *Falcaria vulgaris* and *Apium graveolens* extracts and *Bt* on 1st instar of potato tuber moth, *Phthorimaea operculella*, after 48 hours.

Plant extracts		χ^2 Parameters			Slope ± SE	LC_{30}* (CI)	LC_{50}** (CI)	LC_{70} (CI)
		χ^2	df	p				
F. vulgaris	Hexane	0.97	6	0.98	0.19 ± 1.08	0.21 (0.08-0.38)	0.66 (0.37-1.15)	2.00 (1.14-4.81)
	Ethyl acetate	0.93	6	0.98	0.19 ± 0.97	0.03 (0.009-0.65)	0.11 (0.05-.02)	0.40 (0.22-1.00)
	Methanol	0.08	2	0.96	0.62 ± 2.67	2.06 (1.06-2.9)	3.24 (2.15-4.49)	5.09 (3.7-8.19)
A. graveolens	Hexane	3.90	4	0.41	0.31 ± 1.5	0.15 (0.07-0.23)	0.33 (0.21-0.59)	0.75 (0.45-1.97)
	Ethyl acetate	0.97	7	0.99	0.15 ± 0.79	0.0032 (0.00007-0.0074)	0.015 (0.0062-0.02)	0.06 (0.03-0.18)
	Methanol	1.55	3	0.67	0.42 ± 1.92	4.77 (2.45-7.05)	8.93 (5.89-13.68)	16.72 (11.25-33.32)
	Bt	4.45	4	0.35	1.92 ± 0.35	0.45 (0.28-0.64)	0.84 (0.58-1.33)	1.58 (1.04-3.19)

*Confidence Interval, **Units: mg/l.

تاثیر عصاره‌های مختلف گیاهی بر لاروهای سن اول بید سیب‌زمینی در مقایسه با *Bt* پس از گذشت ۷۲ ساعت در جدول ۳ آمده است. عصاره‌های اتیل‌استاتی کرفس و علف‌داسی به‌ترتیب با مقادیر LC_{50} معادل ۰/۰۰۸۵ و ۰/۰۶۹ میلی‌گرم بر لیتر بیشترین سمیت را علیه لاروها نشان دادند، ولی عصاره‌های هگزانی هر دو گیاه از نظر سمیت تفاوت معنی‌داری با *Bt* نداشتند. با توجه به این که مرگ‌ومیر در اثر استفاده از عصاره‌های متانولی دو گیاه روند وابسته به غلظت را نشان نداد، مقادیر کشندگی برای این دو عصاره قابل محاسبه نبود. شیب خطوط دوز- اثر برای *Bt* با مقدار عددی ۱/۸۵ و پس از آن عصاره هگزانی کرفس با مقدار عددی ۱/۵۷ از سایر عصاره‌ها بیشتر بود (جدول ۳). خطوط دوز- اثر عصاره‌های هگزانی و اتیل‌استاتی علف‌داسی با *Bt* همراستا بودند ولی خطوط دوز- اثر هر دو عصاره گیاه کرفس در سطح احتمال ۵ درصد همراستایی نشان ندادند (جدول ۴). همچنین، پتانسیل نسبی عصاره‌های علف‌داسی در مقایسه با *Bt* پس از ۷۲ ساعت در مقایسه با ۲۴ و ۴۸ ساعت کاهش یافت. بیشترین پتانسیل نسبی سمیت در مقایسه با *Bt* به‌ترتیب برای عصاره‌های اتیل‌استاتی و هگزانی کرفس با مقادیر نسبی ۲۹/۲۴ و ۴/۱۲ محاسبه گردید (جدول ۴).

جدول ۳. تاثیر عصاره‌های گیاهان علف‌داسی و کرفس و *Bt* بر لاروهای سن اول بید سیب‌زمینی پس از ۷۲ ساعت.

Table 3. Effect of *Falcaria vulgaris* and *Apium graveolens* extracts and *Bt* on 1st instar of *Phthorimaea operculella*, after 72 hours.

Plant extracts		χ^2 Parameters			Slope ± SE	LC_{30}* (CI)	LC_{50}** (CI)	LC_{70} (CI)
		χ^2	df	p				
F. vulgaris	Hexane	1.04	6	0.98	0.19 ± 1.05	0.09 (0.03-0.16)	0.29 (0.16-0.51)	0.92 (0.52-2.62)
	Ethyl acetate	0.19	6	1.00	0.19 ± 0.97	0.02 (0.006-0.03)	0.07 (0.03-0.12)	0.23 (0.13-0.63)
A. graveolens	Hexane	2.56	3	0.46	0.39 ± 1.57	0.13 (0.04-0.21)	0.28 (0.16-0.46)	0.60 (0.37-1.52)
	Ethyl acetate	0.74	6	0.99	0.19 ± 0.84	0.002 (0.00029-0.0048)	0.0085 (0.003-0.016)	0.036 (0.018-0.09)
Bt		6.99	4	0.14	1.85±0.33	0.14 (0.03-0.28)	0.27 (0.12-0.76)	0.52 (0.26-3.41)

*Confidence Interval, **Units: mg/l.

جدول ۴. مقایسه همراستایی و پتانسیل نسبی عصاره‌های گیاهان علف‌داسی و کرفس با حشره‌کش *Bt* علیه لاروهای سن اول بید سیب‌زمینی در زمان‌های مختلف در معرض‌گذاری.

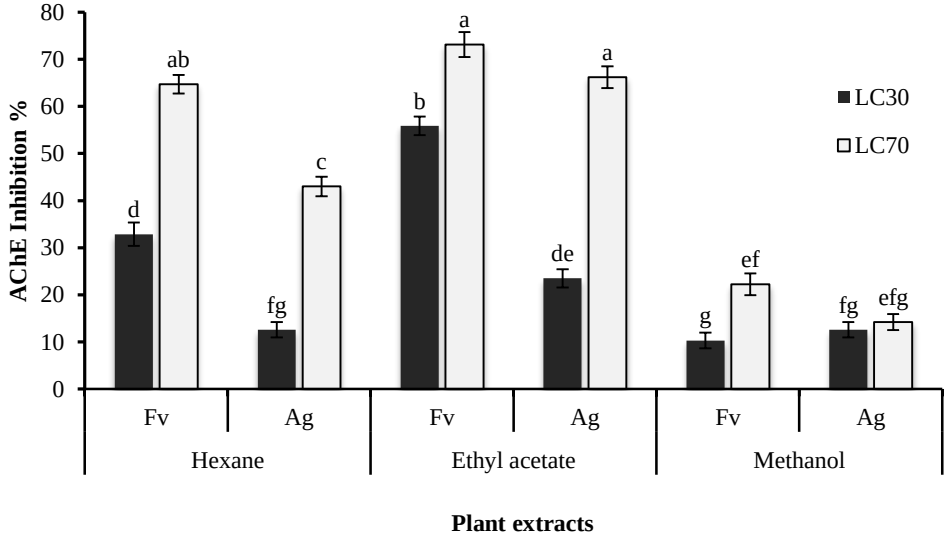
Table 4. Parallelism and relative potency of *Falcaria vulgaris* and *Apium graveolens* extracts in comparison with *Bt* against 1st instars of potato tuber moth, *Phthorimaea operculella*, after different exposure times.

Extract			Parallelism test parameters			Relative Median Potency (95%)		
Time	Plant**	Solvent	χ^2 (df=1)	*P** (α=0.05)	Parallelism	Estimated	Lower	Upper
24 Hours	Fv	Hexane	13.116	0.000	-	1.51	0.46	9.79
		Ethyl acetate	14.79	0.000	-	5.87	1.06	457.77
		Methanol	1.90	0.168	+	0.18	0.04	0.43
	Ag	Hexane	7.47	0.006	-	3.52	1.54	15.55
		Ethyl acetate	10.76	0.001	-	9.17	1.63	1205.47
		Methanol	2.86	0.091	+	0.12	0.02	0.33
48 Hours	Fv	Hexane	3.29	0.069	+	1.49	0.76	3.04
		Ethyl acetate	4.67	0.031	-	8.42	3.20	37.61
		Methanol	2.13	0.14	+	0.26	0.063	0.61
	Ag	Hexane	0.66	0.416	+	2.69	1.40	6.89
		Ethyl acetate	7.55	0.006	-	69.76	12.14	1367.16
		Methanol	0.012	0.913	+	0.094	0.012	0.308
72 Hours	Fv	Hexane	3.50	0.061	+	0.97	0.47	1.89
		Ethyl acetate	0.20	0.65	+	0.97	0.53	1.72
	Ag	Hexane	4.49	0.034	-	4.12	1.81	13.65
		Ethyl acetate	6.21	0.013	-	29.24	6.59	375.81

*If χ^2 value is statistically non-significant (P = 0.05), the dose-response lines are parallel. **Fv: *Falcaria vulgaris* and Ag: *Apium graveolens*

اثر مهارکنندگی عصاره‌ها بر آنزیم استیل‌کولین استراز

بررسی اثر مهارکنندگی دو عصاره گیاهی مورد بررسی بر سیستم آنزیمی استیل‌کولین استراز لاروهای سن اول بید سیب-زمینی نشان داد که قدرت مهارکنندگی این دو عصاره گیاهی قابل توجه بود و بین تیمارهای مختلف از نظر آماری تفاوت معنی‌داری وجود داشت ($F_{12,60} = 132.46, p < 0.01$) (شکل ۱). عصاره‌های اتیل‌استاتی و هگزانی هر دو گیاه در غلظت LC_{70}، استیل‌کولین استراز را بین ۶۰ تا ۷۰ درصد مهار کردند. میزان مهار شدن این آنزیم توسط هر دو غلظت مورد بررسی عصاره‌های متانولی علف‌داسی و کرفس ۱۰ الی ۲۲ درصد و از سایر عصاره‌ها کمتر بود. همچنین، نتایج نشان داد که تاثیر مهارکنندگی غلظت LC_{70} از غلظت LC_{30} بیشتر بود که وابستگی قدرت مهارکنندگی دو عصاره گیاهی به غلظت را نشان می‌دهد.



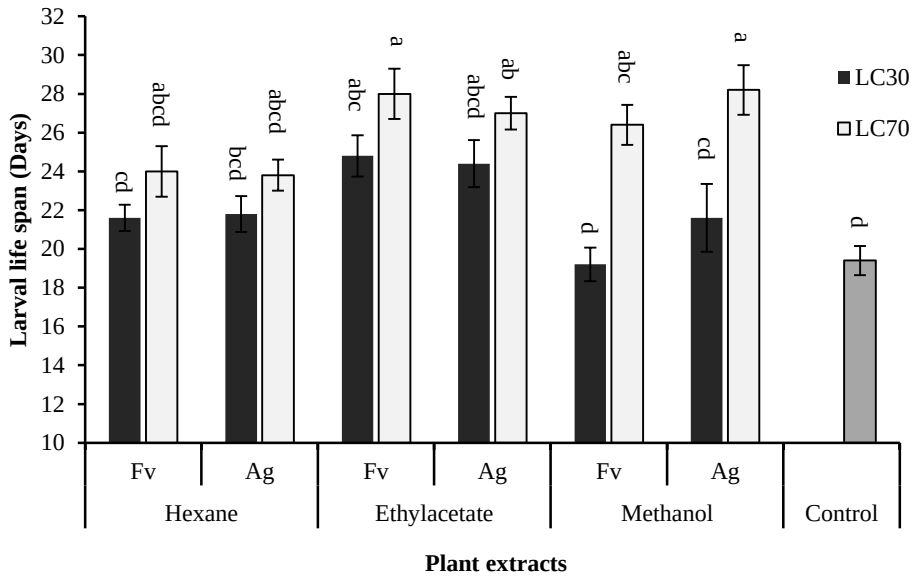
شکل ۱. فعالیت مهارکنندگی غلظت‌های مختلف عصاره‌های گیاهان علف‌داسی و کرفس علیه آنزیم استیل‌کولین استراز لاروهای سن اول بید سیب‌زمینی. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد با آزمون توکی می‌باشد. Fv: علف‌داسی، Ag: کرفس.

Figure 1. Inhibitory activity of different concentrations of *Falcaria vulgaris* and *Apium graveolens* extracts on acetylcholine esterase in 1st instars of potato tuber moth, *Phthorimaea operculella*. Means with the same letters are not significantly different from each other (P = 0.05 ANOVA followed by tukey test). Fv: *Falcaria vulgaris*, Ag: *Apium graveolens*.

اثرات زیستی غلظت‌های غیر کشنده عصاره‌ها بر بید سیب-زمینی

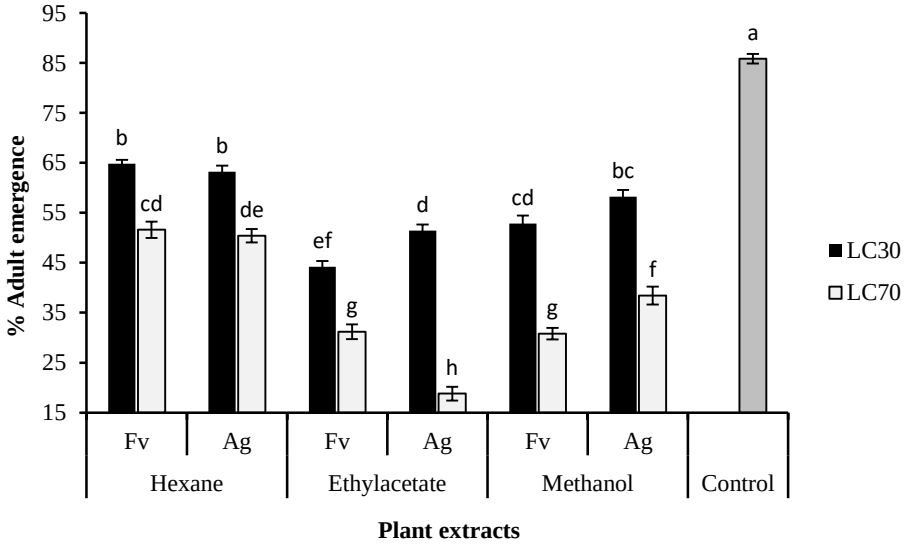
در بررسی اثرات زیستی غلظت‌های غیرکشنده عصاره‌های مختلف کرفس و علف‌داسی مشخص شد که طول دوره نشو و نمایی لاروی و همچنین درصد ظهور حشرات کامل به‌عنوان دو شاخص مهم زیستی تحت تاثیر قرار گرفت (شکل‌های ۲ و ۳). طول دوره نشو و نمایی لاروی به غلظت عصاره‌ها وابسته بود و در مقایسه با شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($F_{12,52}$= 7.55, p<0.001) (شکل ۲). عصاره‌های اتیل‌استاتی و متانولی گیاهان مورد بررسی اثرات معنی‌داری بر طول دوره نشوونمایی لاروی نشان دادند و در مقایسه با شاهد، در غلظت LC_{70} حدود ۷-۸ روز و در غلظت LC_{30} نیز دو الی ۵ روز بر طول دوره لاروی افزودند. عصاره هگزانی نیز در مجموع باعث طولانی شدن دوره لاروی به میزان دو الی پنج روز شد. اندازه این لاروها و همچنین میزان تغذیه آن‌ها نیز بسیار کمتر از تیمار شاهد بود (شکل ۴).

طبق نتایج، درصد ظهور حشرات کامل نیز در مقایسه با شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد ($F_{12,52} = 165.14, P < 0.01$). درصد ظهور حشرات کامل تحت تاثیر عصاره اتیل‌استاتی کرفس به ۱۸ درصد رسید که در تیمار شاهد ۸۵/۵ درصد بود (شکل ۳). در تمامی عصاره‌ها، غلظت LC_{70} آنها در مقایسه با غلظت LC_{30} درصد ظهور حشرات کامل را به‌طور معنی‌داری بیشتر تحت تاثیر قرار داد. عصاره هگزانی هر دو گیاه نیز ظهور حشرات کامل را بین ۴۹ الی ۳۵ درصد کاهش داد.



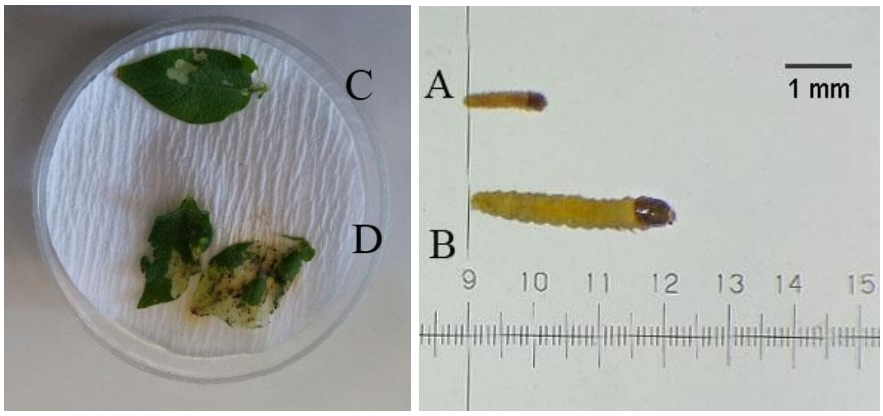
شکل ۲. تاثیر غلظت‌های غیرکشنده عصاره‌های گیاهان علف‌داسی و کرفس بر طول دوره نشوونمای لاروی بید سیب‌زمینی. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد با آزمون توکی می‌باشد. Fv: علف‌داسی، Ag: کرفس.

Figure 2. Effects of sub-lethal concentrations of *Falcaria vulgaris* and *Apium graveolens* extracts on larval life span of *Phthorimaea operculella*. Means with the same letters are not significantly different from each other (P = 0.05 ANOVA followed by tukey test). Fv: *Falcaria vulgaris*, Ag: *Apium graveolens*.



شکل ۳. تاثیر غلظت‌های غیرکشنده عصاره‌های گیاهان علف‌داسی و کرفس بر درصد ظهور حشرات کامل بید سیب‌زمینی. حروف مشابه نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون توکی می‌باشد. Fv: علف‌داسی، Ag: کرفس.

Figure 3. Effects of sub-lethal concentrations of *Falcaria vulgaris* and *Apium graveolens* extracts on adults' emergence of *Phthorimaea operculella*. Means with the same letters are not significantly different from each other (P = 0.05 ANOVA followed by tukey test). Fv: *Falcaria vulgaris*, Ag: *Apium graveolens*.



شکل ۴. مقایسه میزان تغذیه و اندازه لاروها در تیمار شاهد (B و D) و لاروهای تغذیه کرده از غلظت غیرکشنده عصاره هگزانی علف داسی (A و C) پس از ۴۸ ساعت تغذیه.

Figure 4. Comparing feeding rate and larval body size in control (B and D) with larvae treated with sub-lethal concentration of hexane extract of *Falcaria vulgaris* (A and C) after 48 hours' exposure.

بحث

عصاره‌های گیاهان مختلف کارایی خوبی در کنترل آفات دارند، به‌طوری که حتی در مواردی در شرایط آزمایشگاهی و مزرعه‌ای از برخی آفت‌کش‌ها موثرتر بوده‌اند (Giri *et al*. 2009; Pino *et al*. 2013; Sablon *et al*. 2013). این ترکیبات اثرات سوء آفت‌کش‌های مصنوعی را ندارند و به‌عنوان راهکاری نسبتا امن در برنامه‌های کنترل آفات قابل استفاده هستند (Rahman *et al*. 2016; Lengai *et al*. 2020). مزایایی متعدد آفت‌کش‌های گیاهی از جمله امنیت بالا نسبت به انسان و محیط زیست، عدم وجود بقایای مضر و قابلیت تلفیق با سایر روش‌های کنترل آنها را به‌عنوان جایگزین مناسب برای حشره‌کش‌های متداول در برنامه‌های مدیریت آفات قرار داده است (Göldel *et al*. 2020; Souto *et al*. 2021). در بررسی حاضر مشخص گردید که اثر لاروکشی عصاره‌های علف‌داسی و کرفس از حشره‌کش میکروبی *Bt* بهتر بود. نتایج مشابهی در برخی منابع گزارش شده‌اند از جمله عصاره گیاه *Acorus calamus* (Acoraceae) که بهتر از *Bt* غده‌های سیب‌زمینی را از حمله بید سیب‌زمینی محافظت کرد (Giri *et al*. 2009) و اسانس روغنی دانه سریش کارایی مشابهی با حشره‌کش *Bt* علیه بید سیب‌زمینی نشان داد (Salama & Salem 1999). در مطالعه دیگری تاثیر بهتر عصاره گیاهان در کاهش جمعیت بید کلم در مقایسه با دلتامترین و *Bt* نیز گزارش شده است (Dadang *et al*. 2009). با وجودی که این تاثیرات به صورت موردی بوده و سمیت آنها بدون بررسی‌های آزمایشگاهی تکمیلی قابل تعمیم به آفت یا آفات دیگری نیست، شاید نتایج به دست آمده مقدمات لازم را برای معرفی عاملی موثر جهت کنترل لاروهای بید سیب‌زمینی فراهم کرده باشد. با وجود کارایی خوب *Bt* در کنترل آفات مختلف از جمله بالپولکداران (Giri *et al*. 2009; Sanchis & Bourguet 2008) و مزایای متعدد آنها در مدیریت مقاومت علیه حشره‌کش‌های متداول (Roh *et al*. 2007) مواردی از بروز مقاومت در آفات مختلف گزارش شده است (Jurat-Fuentes *et al*. 2021). به نظر می‌رسد کارایی خوب متابولیت‌های گیاهی در کنترل آفات و مزایای متعدد آن‌ها، آینده خوبی را برای استفاده در برنامه‌های مدیریت آفات و حتی جایگزینی با آفت‌کش‌های متداول از جمله *Bt* ترسیم کند (Kumar *et al*. 2021).

علاوه بر سمیت خوب عصاره‌های گیاهی مورد بررسی در مقایسه با *Bt*، تفاوت در میزان تاثیر انواع عصاره‌های تهیه شده با استفاده از حلال‌های مختلف بر لاروهای بید سیب‌زمینی نیز مشاهده شد. تفاوت کشندگی عصاره‌ها در بررسی حاضر می‌تواند به تفاوت در گونه گیاه و نوع حلال به کار رفته برای عصاره‌گیری مربوط باشد. طبیعی است که میزان حلالیت متابولیت‌های گیاهی در حلال‌های مختلف یکسان نیست و هر حلالی گروهی از ترکیبات با حلالیت متفاوت را جدا می‌کند (Dailey & Vuong 2015; Abegunde & Ayodele-Oduola 2015; Dhawan & Gupta 2017). عصاره هگزانی اغلب حاوی ترکیبات غیرقطبی است، و عصاره متانولی ترکیباتی با قطبیت بیشتر را از گیاهان استخراج می‌کند (Nawaz *et al*. 2020) که هر کدام شامل طیفی از متابولیت‌هایی است که اثرات زیستی، فیزیولوژیک و رفتاری متفاوتی بر حشرات دارند. مشخص شده است که حلال‌های مختلف میزان متفاوتی از یک ترکیب شیمیایی را از یک منبع گیاهی استخراج می‌کنند، یعنی احتمال حضور یک ترکیب به

میزان متفاوتی در حلال‌های با تفاوت قطبیت کم نیز وجود دارد (Umar *et al*. 2013). با توجه به این که در بررسی حاضر از دو گیاه متفاوت و حلال‌هایی با قطبیت متفاوت استفاده شده است، انتظار می‌رود که متابولیت‌های مختلفی در هر کدام از عصاره‌ها استخراج شده باشند (Lezoul *et al*. 2020). این ترکیبات می‌توانند از نظر ماهیت فیزیکی و شیمیایی و نیز اثرات زیستی کاملا متفاوت باشند. بنابراین، مشاهده سمیت متفاوت در بررسی تاثیر عصاره‌های مختلف گیاهان علف‌داسی و کرفس بر لاروهای بید سیب‌زمینی دور از انتظار نیست.

با بررسی منابع مختلف به نظر می‌رسد که قضاوت در مورد سازوکار عمل عصاره‌های گیاهی با توجه به طیف نسبتا وسیعی از ترکیبات شیمیایی مختلف موجود در آنها آسان نباشد. با وجود این، در مطالعات مختلف، سمیت عصاره‌های گیاهی را به تاثیر بر سامانه‌های مختلف فیزیولوژیک حشرات نسبت داده‌اند (López & Pascual-Villalobos 2010; El-Wakeil 2013). عصاره‌های کرفس و علف‌داسی دارای درصد بالایی از مونوترپن‌ها هستند (Jaberian *et al*. 2013). مشخص شده که مونوترپن‌های گیاهی می‌توانند با مهار آنزیم استیل‌کولین استراز سبب مرگ سریع حشرات شوند (Ryan & Byrne 1988; Ul Hassan & Militky 2012). اثرات مشابهی در اسانس دانه‌های سریش *Azadirachta indica* A.Juss.,1830 (Meliaceae) و پودر سیر *Allium sativum* L. (Amaryllidaceae) (Sing and Sing 2000)، نعناع آبی *M. aquatic* L. (Lamiaceae) و نعناع وحشی *M. arvensis* L.(Lamiaceae) نیز گزارش شده است (Miyazawa *et al*. 1998). موضوع قابل توجه در تحقیق حاضر، سرعت بالای تاثیر و اثرات حاد عصاره‌ها بر لاروهای سن اول بید سیب‌زمینی بود که تاثیر احتمالی عصاره‌ها بر دستگاه عصبی حشرات را تقویت می‌کند (Rattan 2010). نتایج بررسی حاضر نیز نشان داد که دو عصاره گیاهی مورد بررسی اثرات مهارکنندگی قابل توجهی بر سیستم آنزیمی استیل‌کولین استراز لاروهای بید سیب‌زمینی داشتند، به خصوص عصاره‌های اتیل‌استاتی و هگزانی هر دو گیاه اثر مهارکنندگی قابل توجهی نشان را دادند. یکی از دلایل احتمالی کشندگی عصاره‌ها، ممکن است مهار آنزیم استیل‌کولین استراز باشد. اثر ترکیبات گیاهی بر دستگاه عصبی حشرات به دلیل تاثیر و کنترل سریع جمعیت آفات مورد توجه محققان مختلف بوده است و این ویژگی آنها را به عنوان رقبایی امن‌تر برای آفت‌کش‌های مصنوعی مطرح کرده است (Shivanandappa & Rajashekar 2014). گروهی از محققان معتقدند مونوترپن‌ها علاوه بر مهار آنزیم استیل‌کولین استراز (Ge *et al*. 2008) می‌توانند با تاثیر بر سیستم اوکتاپامین و سیتوکروم P_{450} نیز سبب مرگ حشرات شوند (Enan 2001). در حالت کلی، احتمالا محل‌های هدف مونوترپن‌ها می‌توانند یکی از گروه‌های ذکر شده باشند و حتی بر چندین بخش از سامانه‌های بدن حشرات نیز تاثیر بگذارند (Tayoub *et al*. 2016) که تعیین دقیق سازوکار عمل عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی را مشکل می‌سازد (El-Wakeil 2013; Lengai *et al*. 2020). حتی در مواردی، سازوکار عمل متعدد به ترکیب مشخصی از عصاره یک گیاه نسبت داده شده است (Walia *et al*. 2014; Dhra *et al*. 2018).

عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهان تیره چتریان حاوی ترکیبات موثر بر بیولوژی و رفتار حشرات می‌باشند و در خصوص بررسی این اثرات بر حشرات مختلف مطالعات متعددی انجام شده‌اند. اثرات دورکنندگی، ضدتغذیه‌ای، کشندگی، ضدتخم‌گذاری و عقیم‌کنندگی حشرات در منابع مختلف مشاهده می‌شوند (Wawrzyniak & Lamparski 2006; Babri *et al*. 2012; Sagheer *et al*. 2014; Lucca *et al*. 2015). از ترکیبات موثر و با درصد بالای عصاره علف‌داسی می‌توان به مونوترپن کارواکرول (Carvacrol)، اسپاتولنول (Spathulenol) و فیتول (Phytol) اشاره کرد (Shafaghat 2011; Jaberian *et al*. 2013). لیمونن (Limonene) ، پینن (Pinene) و کاریوفیلن (Caryophyllen) نیز به عنوان ترکیبات عمده در عصاره گیاه کرفس گزارش شده‌اند (Sorour *et al*. 2015; Hassanen *et al*. 2015). اثرات حاد و مزمن برخی از این ترکیبات بر مراحل مختلف زیستی حشرات بررسی و گزارش شده‌اند (You *et al*. 2015; Park *et al*. 2017; Bendre *et al*. 2018). عصاره‌های گیاهی می‌توانند با تاثیر بر آنزیم‌های گوارشی و دارا بودن اثرات ضدتغذیه‌ای نیز باعث مرگ‌ومیر حشرات شوند. اثرات ضدتغذیه‌ای به صورت‌های مختلفی مانند کاهش نرخ رشد لاروها، طولانی شدن دوره نشوونمایی و تغییر در میزان ظهور حشرات کامل خود را نشان می‌دهند (Koul 2008; Arivoli & Tennyson 2013). مشخص شده است که متابولیت‌های گیاهان مختلف حاوی ترکیبات مهارکننده آلفا- آمیلازها و پروتئازهای گوارشی هستند (Bouayad *et al*. 2013; Tatun *et al*. 2014). این ترکیبات به نوبه خود با اختلال در فرایند گوارش، موجب مهار نشوونمای حشرات می‌شوند. اثرات جمعیتی مهار نشوونما به صورت کاهش و یا افزایش طول دوره نشوونمایی، کاهش سنین لاروی، کاهش توده زیستی لاروها، افزایش مرگ و میر طی دوره لاروی، درصد ظهور کم شفیره‌ها، بدشکلی در شفیره‌ها و حشرات کامل، کاهش

ظهور حشرات کامل و برهم خوردن نسبت جنسی، و در نهایت کاهش شدید باروری و حتی عقیم شدن حشرات، قابل مشاهده هستند (Devi & Bora 2017; Smith *et al*. 2018; Tian *et al*. 2020; Nisar *et al*. 2021).

در بررسی اثر ترپن‌های مختلف بر فیزیولوژی تغذیه‌ای سوسک کلرادوی سیب‌زمینی، *Leptinotarsa decemlineata* مشخص شد که کارواکرول، لیمونن، ترپینن و پینن اثرات ضدتغذیه‌ای خوبی داشتند (Elguea-Culebras *et al*. 2017). با توجه به این که این ترکیبات از ترکیبات عمده گیاهان مورد بررسی در این تحقیق نیز هستند، احتمالا اثرات ضدتغذیه‌ای مشاهده شده علیه بید سیب‌زمینی به حضور این ترکیبات در عصاره‌های مختلف مربوط باشند. ترپن‌ها و آلکالوئیدهای موجود در بسیاری از گیاهان، فعالیت آنزیم‌های گوارشی را کاهش می‌دهند، یا از طریق کاهش حساسیت گیرنده‌های محرک تغذیه (Phagostimulant) باعث کاهش تغذیه و در نتیجه کاهش وزن لاروها و به دنبال آن کاهش درصد ظهور حشرات کامل و سایر اثرات ضدتغذیه‌ای می‌شوند (Isman 2002). ترپن‌ها بیشترین مقدار ترکیبات تشکیل دهنده در عصاره‌های علف‌داسی و کرفس هستند، بنابراین می‌توان چنین بیان کرد که شاید کشندگی عصاره‌ها به دلیل وجود مقادیر بالای ترپن‌ها باشد که با تاثیر بر سامانه گوارشی و آنزیم‌های گوارشی سبب کاهش تغذیه از برگ‌های تیمار شده می‌شود (Elguea-Culebras 2017)، به طوری که دالان‌های لاروی ایجاد شده در برگ‌های تیمار شده با غلظت‌های بالا نسبت به برگ‌های شاهد خیلی کوچک‌تر، میزان تغذیه کمتر، و اندازه لاروهای تیمارشده نیز به طور چشمگیری از شاهد کوچک‌تر بود.

در بررسی حاضر، طول دوره نشوونمایی لاروهایی که تحت تاثیر عصاره‌های مختلف علف‌داسی و کرفس قرار گرفتند در مقایسه با شاهد افزایش یافت. مشخص شده که نشوونمای حشرات علاوه بر وابستگی به مواد غذایی و گوارش‌پذیری آنها، به کارکرد صحیح سیستم هورمونی که فعالیت‌های فیزیولوژیک مختلف مانند پوست‌اندازی، دگردیسی و متابولیسم را کنترل می‌کند نیز وابسته است (Bodlakova *et al*. 2017; Wu *et al*. 2020). در تحقیقات مختلف، گزارش شده که عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی با اختلال در سیستم هورمونی و تاثیر بر فرآیند انتقال انرژی (Breuer *et al*. 2003)، مهار گیرنده‌های هورمون جوانی (Lee *et al*. 2014)، تاثیر بر دستگاه ایمنی (Maulina *et al*. 2018)، تاثیر بر میکروارگانیسم‌های همزیست دستگاه گوارش (Wu *et al*. 2016) و چندین سازوکار وابسته هورمونی دیگر نیز روی حشرات اثرات زیستی و فیزیولوژیک سوئی داشته‌اند (Bowers 1997; Breuer *et al*. 2003). در بررسی حاضر شاید اختلالات هورمونی به واسطه تغذیه از عصاره‌های گیاهان از دلایل علایم مشاهده شده و اثرات زیستی بر لاروهای بید سیب‌زمینی باشد.

کاهش درصد شفیرگی و ظهور حشرات کامل نیز از اثرات تغذیه از عصاره‌های گیاهی است که در مطالعاتی چند گزارش شده است (Tatun *et al*. 2014; Taha-Salaime *et al*. 2020). تاثیر متابولیت‌های گیاهی به صورت کاهش سطح انرژی لازم برای نشو و نما و استفاده از آن برای غیر سمی کردن مواد خارجی با تاثیر بر سیستم آنزیمی سیتوکروم P_{450} نیز گزارش شده است (Breuer *et al*. 2003; Scapinello *et al*. 2014). همچنین، در تحقیقات دیگری تاثیر مهارکنندگی متابولیت‌های گیاهی بر سامانه‌های آنزیمی مختلف مانند فسفاتازها، کربوکسیل استرازها و استیل‌کولین استرازها نیز گزارش شده است و اثرات کشندگی و زیستی را به دلیل تاثیر متابولیت‌ها بر این آنزیم‌ها نیز ذکر کرده‌اند (Ali *et al*. 2021). سامانه آنزیمی آلفا- آمیلاز، پروتئاز و لیپاز در دستگاه گوارش حشرات مسئول هضم مواد غذایی خورده شده و تامین نیاز به قندها، اسیدهای آمینه مختلف و اسیدهای چرب هستند که در تامین انرژی لازم برای نشوونما و متابولیسم نقش مستقیم دارند. هر گونه اختلال در فرآیند گوارش می‌تواند ویژگی‌های زیستی حشرات را تحت تاثیر قرار دهد و باعث کاهش رشد و بروز اثرات زیستی و فیزیولوژیک مانند کاهش درصد شفیره شدن و ظهور حشرات کامل گردد (Tatun *et al*. 2014). با توجه به کاهش میزان تغذیه و سرعت رشد در لاروهای بید سیب‌زمینی در مقایسه با شاهد، کاهش درصد شفیره شدن و حتی ظهور حشرات کامل قابل انتظار است. یکی از مهم‌ترین مزایای یک آفت‌کش علاوه بر اثرات حاد، تاثیر بر کاهش جمعیت حشرات است که در مطالعه حاضر با توجه به کاهش شدید ظهور حشرات کامل مشاهده شده است.

در مجموع، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که عصاره‌های گیاهان علف‌داسی و کرفس اثرات کشندگی و غیرکشندگی علیه لاروهای سن اول بید سیب‌زمینی داشتند و تاثیر آنها در شرایط آزمایشگاهی قابل مقایسه و رقابت با حشره‌کش *Bt* بود. همچنین، احتمال تاثیر عصاره‌های این دو گیاه بر دستگاه عصبی مرکزی حشرات، به واسطه تاثیر خوب آنها بر مهار آنزیم استیل‌کولین استراز، وجود دارد، هرچند انجام مطالعات تکمیلی برای خالص‌سازی و معرفی ترکیبات موثر لازم است. بروز اثرات زیستی مهمی مانند افزایش طول دوره نشوونمای لاروی و کاهش بسیار زیاد

درصد ظهور حشرات کامل در اثر استفاده از برخی عصاره‌ها، پتانسیل بالای آن‌ها را در کنترل بید سیب‌زمینی نشان می‌دهد.

سپاس‌گزاری

این مقاله حاصل بخشی از نتایج پایان‌نامه کارشناسی ارشد حشره‌شناسی کشاورزی است که با حمایت معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه شهید مدنی آذربایجان انجام شده است. بدین وسیله، از حمایت‌های آن معاونت محترم تقدیر و تشکر می‌گردد.

Referenes

Abbott, WS, 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18 (1): 265–266.

Abegunde SM, Ayodele-Oduola RO, 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.

Ahmadi K, Ebadzadeh H, Hatami F, Abdshah B, Kazemian A, 2020. Agricultural statistics (2019-2020), 1st Issue, Crops, Ministry of Agriculture-Jahad publication. 89 pp.

Ali K, Sagheer M, ul Hasan M, Rashid A, Shahid M, 2021. Bioactivity of medicinal plant extracts as toxicants and enzyme inhibitors against insect pests of stored commodities. *Journal of Crop Protection* 10 (1): 95–109.

Allahverdizadeh NM, Mohammadi D, 2016. Bioactivity of *Marrubium vulgare* and *Achillea millefolium* leaf extracts on potato tuber moth *Phthorimaea operculella* Zeller. *Munis Entomology and Zoology* 11 (1): 114–122.

Alvarez JM, Dotseth E, Nolte P, 2005. Potato tuberworm: a threat for Idaho potatoes. University of Idaho Extention Bulletine. http://info.ag.uidaho.edu/pdf/CIS/CIS1125.pdf. [Accessed on 4 July 2021].

Arivoli S, Tennyson S, 2013. Antifeedant activity, developmental indices and morphogenetic variations of plant extracts against *Spodoptera litura* (Fab) (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies* 1 (4): 87–96.

Babri RA, Khokhar I, Mahmood Z, Mahmud S, 2012. Chemical composition and insecticidal activity of the essential oil of *Anethum graveolens* L. *Science International* 24 (4): 453–455.

Bendre R, Bagul S, Rajput J, 2018. Carvacrol: An Excellent Natural Pest Control Agent. *Natural Products Chemistry and Research* 6: 1–3.

Bodlakova K, Jedlicka P, Kodrik D, 2017. Adipokinetic hormones control amylase activity in the cockroach (*Periplaneta americana*) gut. *Insect Science* 24: 259–269.

Bouayad N, Rharrabe K, Ghailani NN, Jbilou R, Castañera P, *et al*., 2013. Insecticidal effects of Moroccan plant extracts on development, energy reserves and enzymatic activities of *Plodia interpunctella*. *Spanish Journal of Agricultural Research* 11 (1): 189–198.

Bowers WS, 1997. Phytochemical defenses targeting the insect endocrine system. *Acta Botanica Gallica* 144 (4): 391–400.

Breuer M, Hoste B, Loof AD, Naqvi SNH, 2003. Effect of *Melia azedarach* extract on the activity of NADPH-cytochrome-c reductase and cholinesterase in insects. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 76: 99–103.

Capinera JL, 2020. Handbook of Vegetable Pests. 2st edition, Academic press. UK., 799 pp.

Dadang D, Fitriasari ED, Prijono D, 2009. Effectiveness of two botanical insecticide formulations to two major cabbage insect pests on field application. *Journal of the International Society for Southeast Asian Agricultural Sciences* 15 (1): 42–51.

Dailey A, Vuong QV, 2015. Effect of extraction solvents on recovery of bioactive compounds and antioxidant properties from macadamia (*Macadamia tetraphylla*) skin waste. *Cogent Food and Agriculture* 1: 1–10.

Devi U, Bora D, 2017. Growth inhibitory effect of phenolic extracts of *Ziziphus jujuba* Mill. in dengue vector *Aedes aegypti* (L) in parent and F1 generation. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* 10 (8): 787–791.

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.

Dhra G, Ahmad M, Kumar J, Patanjali PK, 2018. Mode of action of azadirachtin: a natural insecticide. *International Research Journal of Biological Sciences* 7: 41–46.

Ebadollahi A, 2013. Plant essential oils from apiaceae family as alternatives to conventional insecticides. *Ecologia Balkanica* 5: 149–172.

Elguea-Culebras O, Sanchez-Vioque G, Berruga R, Isabel M, David HP, *et al*., 2017. Antifeedant effects of common terpenes from Mediterranean aromatic plants on *Leptinotarsa decemlineata*. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 17 (2): 475–485.

Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM, 1961. A new and rapid colorimetric determination of Acetyl cholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology* 1 (7): 88–95.

El-Wakeil NE, 2013. Botanical pesticides and their mode of action. *Gesunde Pflanzen* 5:125–149.

Enan E, 2001. Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C* 130: 325–337.

Eze S, Echezona B, 2012. Agricultural pest control programmes, food security and safety. *African Journal and Food, Agriculture, Nutrition and Development* 12 (5): 6582–6592.

Furong G, Zhengue L, 2003. A method for rearing the potato tuber moth *Phthorimaea operculella* on potato. *Kunchong Zhishi* 40 (2): 187–189.

Ge HM, Zhu CH, Shi DH, Zhang LD, Xie DQ, *et al*., 2008. Hopeahainol A: An acetylcholinesterase inhibitor from *Hopea hainanensis*. *Chemistry- A European Journal* 14: 376–381.

Giri YP, Maharjan R, Dochen T, Nidup K, Sporleder M, *et al*., 2009. Efficacy of botanicals and *Bacillus thuringiensis* to control potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller), in potato stores in Nepal. International Society for Tropical Root Crops, *15th Triennial ISTRC Symposium*, November 2-7, Lima, Peru P.163.

Göldel B, Lemic D, Bažok R, 2020. Alternatives to synthetic insecticides in the control of the Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) and their environmental benefits. *Agriculture* 10-611.

Guerra PC, Molina IY, Yabar E, Gianoli E, 2006. Oviposition deterrence of shoots and essential oils of *Minthostachys* spp. (Lamiaceae) against the potato tuber moth. *Journal of Applied Entomology* 131 (2): 134–138.

Handa SS, Singh Khanuja SP, Longo G, Rakesh DD, 2008. Extraction technologies for medicinal and aromatic plants. United Nations Industrial Development Organization and the International Centre, for Science and High Technology, Trieste, 266 pp.

Hassanen N, Eissa AMF, Hafez SAM, Mosa EAM, 2015. Antioxidant and antimicrobial activity of celery (*Apium graveolens*) and coriander (*Coriandrum sativum*) herb and seed essential oils. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 4 (3): 284–296.

Hatami A, Mohammadi D, Eivazian Kary N, 2019. Lethal effects and oviposition deterrency of Celery, *Apium graveolens*, and Sickleweed, *Falcaria vulgaris*, against the potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* in laboratory conditions. *Journal of Applied Research in Plant Protection* 8 (4): 1–13. (In Persian with English abstract).

Hematpoor A, Liew SY, Azirun MS, Awang K, 2017. Insecticidal activity and the mechanism of action of three phenylpropanoids isolated from the roots of *Piper sarmentosum* Roxb. *Science Reports* 7:12576.

Isman MB, 2002. Insect antifeedant. *The Royal Society of Chemistry* 13: 152–157.

Jaberian H, Piri Kh, Nazari J, 2013. Phytochemical composition and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of some medicinal plants. *Food Chemistry* 136: 237–244.

Jurat-Fuentes JL, Heckel DG, Ferré J, 2021. Mechanisms of resistance to insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis*. *Annual Review of Entomology* 66: 121–40.

Kay IR, 2006. Testing insecticides against *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelichiidae) using a tomato plant bioassay. *Plant Protection Quarterly* 21: 20–24.

Koul O, 2008. Phytochemicals and insect control: An antifeedant approach. *Critical Reviews in Plant Sciences* 27: 1–24.

Kumar J, Ramlal A, Mallick D, Mishra V, 2021. An overview of some biopesticides and their importance in plant protection for commercial acceptance. *Plants* 10 (6), 1185.

Lee SH, Oh HW, Fang Y, An SB, Park DS, *et al*. 2014. Identification of plant compounds that disrupt the insect juvenile hormone receptor complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 112 (6): 1733-1738.

Lengai GMW, Muthomi JW, Mbega ER, 2020. Phytochemical activity and role of botanical pesticides in pest management for sustainable agricultural crop production. *Scientific African* 7: 1–13.

Lezoul NH, Belkadi M, Habibi F, Guillén F, 2020. Extraction processes with several solvents on total bioactive compounds in different organs of three Medicinal plants. *Molecules* 25 (20): 4672.

López MD, Pascual-Villalobos MJ, 2010. Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. *Industrial Crops and Products* 31: 284–288.

Lucca PS, Nóbrega LHP, Alves LFA, Cruz-silva CTA, Pacheco FP, 2015. The insecticidal potential of *Foeniculum vulgare* Mill., *Pimpinella anisum* L. and *Caryophillus aromaticus* L. to control aphid on kale plants. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais* 17: 585–591.

Maulina D, Sumitro SB, Amin M, Lestari SR, 2018. Identification of bioactive compounds from *Mirabilis jalapa* L. (Caryophyllales: Nyctaginaceae) extracts as biopesticides and their activity against the immune response of *Spodoptera litura* F. (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Biopesticides* 11 (2): 89 –97.

Melo ALA, Soccol VT, Soccol CR, 2016. *Bacillus thuringiensis*: mechanism of action, resistance, and new applications: a review. *Critical Reviews in Biotechnology* 36 (2): 317–326.

Miyazawa M, Watanabe H, Umemoto K, Kameoka H, 1998. Inhibition of acetylcholin esterase activity by essential oils of *Mentha* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46: 3431–3434.

Nawaz H, Shad MA, Rehman N, Andaleeb H, Ulla N, 2020. Effect of solvent polarity on extraction yield and antioxidant properties of phytochemicals from bean (*Phaseolus vulgaris*) seeds. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 56: 117–129.

Nisar MS, İsmail MA, Ramzan H, Maqbool MM, Ahmed T, *et al*., 2021. The impact of different plant extracts on biological parameters of Housefly [*Musca domestica* (Diptera: Muscidae)]: Implications for Management. *Saudi Journal of Biological Sciences* 28: 3880–3885.

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 (3): 1441–1445.

Park JH, Jeon YJ, Lee CH, Chung N, Lee HS, 2017. Insecticidal toxicities of carvacrol and thymol derived from *Thymus vulgaris* Lin. against *Pochazia shantungensis* Chou & Lu., newly recorded pest. *Scintific Reports* 1-6.

Pino O, Sánchez Y, Rojas MM, 2013. Plant secondary metabolites as an alternative in pest management. I: Background, research approaches and trends. *Revista de Protección Vegetal* 28 (2): 81–94.

Rafiee-Dastjerdi H, Mashhadi Z, Sheikhi Garjan A, 2013. Lethal and sublethal effects of abamectin and deltamethrin on potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Crop Protection* 2 (4): 403–409.

Rahman AKM, Haque MH, Alam SN, Mahmudunnabi M, Dutta NK, 2014. Efficacy of microbials as insecticides for the management of tomato (*Lycopersicon esculentum*) fruitworm, *Helicoverpa armigera* (Hubner). *A Scientific Journal of Krishi Foundation* 12 (1): 68–74.

Rahman S, Biswas SK, Barman NC, Ferdus T, 2016. Plant extract as selective Pesticide for integrated pest management. *Biotechnological Research* 2 (1): 6–10.

Rattan RS, 2010. Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. *Crop Protection* 29: 913–920.

Rayan MF, Byrne O, 1988. Plant- insect coevolution and inhibition of acetylcholinesterase. *Journal of Chemical Ecology* 14 (10): 1965–1975.

Roh JY, Choi JY, Li MS, Jin BR, Je YH, 2007. *Bacillus thuringiensis* as a specific, safe, and effective tool for insect pest control. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 17 (4): 547–559.

Rondon SI, 2010. The Potato Tuberworm: A literature review of its biology, ecology, and control. *American Journal of Potato Research* 87: 149–166.

Sablon L, Dickens JC, Haubruge É, Verheggen FJ, 2013. Chemical ecology of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae), and potential for alternative control methods. *Insects* 4: 31–54.

Sagheer M, Ul-Hasan M, Najam-ul-Hassan M, Farhan M, Ahmad Khan FZ, *et al*., 2014. Repellent effects of selected medicinal plant extracts against Rust-Red Flour Beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies* 2: 107–110.

Salama HS, Salem SA, 1999. *Bacillus thuringiensis* and neem seed oil (*Azadirachta indica*) effects on the potato tuber moth *Phthorimaea operculella* Zeller in the field and stores. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 33: 73–80.

Sanchis V, Bourguet D, 2008. *Bacillus thuringiensis*: applications in agriculture and insect resistance management-A review. *Agronomy for Sustainable Development* 28: 11–20.

Sansinenea E, 2012. The Role of entomopathogenic *Bacillus thuringiensis*: is it only insect pathogen? *Biochemistry and Pharmacology* 1 (7): 1–2.

Scapinello J, Oliveira JV, Chiaradia LA, Junior OT, Niero R, *et al*., 2014. Insecticidal and growth

inhibiting action of the supercritical extracts of *Melia azedarach* on *Spodoptera frugiperda*. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental* 18 (8): 866–872.

Shafaghat A, 2011.Volatile oil constituents and antibacterial activity of different parts of *Falcaria vulgaris* Bernh. growing wild in two localities from Iran. *Natural Products Research* 25: 368–373.

Sharaby A, Abdel Rahman H, Abdel-Aziz S, Moawad S, 2014. Natural plant oils and terpenes as protector for the potato tubers against *Phthorimaea operculella* infestation by different application methods. *Ecologia Balkanica* 6 (1): 45–59.

Shivanandappa T, Rajashekar Y, 2014. Mode of action of plant-derived natural insecticides. In: Singh D. (ed). Advances in Plant Biopesticides. Springer, New Delhi. Pp. 323-345.

Singh K, Singh DK, 2000. Toxicity to the snail *Limnaea acuminata* of plant-derived molluscicides in combination with synergists. *Pest Management Science* 56: 889–898.

Smith GH, Roberts JM, Pope TW, 2018. Terpene based biopesticides as potential alternatives to synthetic insecticides for control of aphid pests on protected ornamentals. *Crop Protection* 110: 125–130.

Sorour MA, Hassanen NHM, Ahmed MHM, 2015. Natural antioxidant changes in fresh and dried celery (*Apium graveolens*). *American Journal of Energy Engineering* 3 (2-1): 12–16.

Souto AL, Sylvestre M, Tölke ED, Tavares JF, Barbosa-Filho JM, *et al*., 2021. Plant-derived pesticides as an alternative to pest management and sustainable agricultural production: prospects, applications and challenges. *Molecules* 26 (16): 1–34.

Sporleder MM, Kroschel J, 2013. Efficacy of botanicals and *Bacillus thuringiensis* to control potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller), in potato storage in Nepal. *Nepal Agricultural Research Journal* 13: 40–47.

Taha-Salaime L, Lebedev G, Abo-Nassar J, Marzouk S, Inbar M, *et al*., 2020. Activity of *Ajuga iva* extracts against the African cotton leafworm *Spodoptera littoralis*. *Insects* 11: 1–13.

Tatun N, Vajarasathira B, Tungjiyvitayakol J, Sakurai S, 2014. Inhibitory effects of plant extracts on growth, development and α-amylase activity in the red flour beetle *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *European Journal of Entomology* 111 (2): 181–188.

Tayoub G, Alorfi M, Ismail H, 2016. Fumigant toxicities of essential oils and two monoterpenes against potato tuber moth (*Phthorimaea operculella* Zeller). *From Botanical to Medical Research* 62 (4): 82–96.

Tian X, Li Y, Hao N, Su X, Du J, *et al*., 2020. The antifeedant, insecticidal and insect growth inhibitory activities of triterpenoid saponins from *Clematis aethusifolia* Turcz against *Plutella xylostella* (L.). *Pest Management Science* 77: 455–463.

Ul Hassan SZ, MilitkyJ, 2012. Acetylcholinesterase based detection of residual pesticides on cotton. *American Journal of Analytical Chemistry* 3: 93–98.

Umar MI, Javeed A, Ashraf M, Riaz A, Mukhtar MM, *et al*., 2013. Polarity-based solvents Extraction of *Opuntia dillenii* and *Zingiber officinale* for in vitro antimicrobial activities. *International Journal of Food Properties* 16: 114–124.

Walia S, Saha S, Rana VS, 2014. Phytochemical pesticides. In: Singh D (ed). Advances in Plant Biopesticides. Springer, India, pp 295–322.

Wawrzyniak M, Lamparski R, 2006. Effect of Umbelliferae (Apiaceae) plant water extracts on Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) feeding and development. *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities* 9 (4): 1–12.

Wu K, Li S, Wang J, Ni Y, Huang W, *et al*., 2020. Peptide hormones in the insect midgut. *Frontiers in Physiology* 11: 1–10.

Wu K, Yang B, Huang W, Dobens L, Song H, Ling E, 2016. Gut immunity in Lepidopteran insects. *Developmental and Comparative Immunology* 64: 65–74.

You CX, Guo SS, Zhang WJ, Yang K, Wang CF, *et al*., 2015. Chemical constituents and activity of *Murraya microphylla* essential oil against *Lasioderma serricorne*. *Natural Product Communications* 10 (9): 1635–1638.

This is an open access article under the CC BY NC license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/)