



Insecticidal Effects of the aqueous Extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Thymus vulgaris* on the Cotton Bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lep.: Noctuidae)

Reza Sadeghi^{1*} | Maryam Nazarahari¹ | Arsalan Jamshidnia¹

1. Department of Entomology and Plant Pathology Aburihan Faculty of Agricultural Technology, University of Tehran, Tehran, Iran.

* Corresponding Author Email: rsadeghi@ut.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received: 26/02/2024
Accepted: 22/04/2024

Keywords:
eucalyptus,
thyme,
formulation,
toxicity,
H. armigera.

EXTENDED ABSTRACT

Introduction: The use of plant pesticides in pest control has become necessary due to the expansion of the use of chemical pesticides that has led to environmental damage. Extracts obtained from plants, which are mainly extracted from natural sources and different parts of plants, have been considered as a natural and efficient alternative to replace chemical pesticides. One of the obvious advantages of plant pesticides is high biological degradability and less toxic effects on non-target organisms and plants. High biodegradability means the ability of these materials to be broken down and transformed into harmless materials by microorganisms and natural environmental processes. Unlike chemical pesticides that may remain in the soil for long periods and lead to the accumulation of toxic substances in the food chain, plant pesticides decompose quickly and cause fewer environmental hazards. In addition, these compounds are often designed to be effective only on specific pests and therefore pose less risk to local biodiversity. This issue is especially important in environments where the protection of native species is important. Plant pesticides can effectively help reduce the damage caused by pests to different parts of agricultural products without causing significant damage to the environment. The effect of plant extracts as pesticides often occurs through various mechanisms such as disruption of the nervous system of pests, inhibition of protein synthesis, changes in hormone production, and disruption of

Cite this article: Sadeghi, Reza; Nazarahari, Maryam & Arsalan Jamshidnia (2024). Insecticidal Effects of the aqueous Extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Thymus vulgaris* on the Cotton Bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lep.: Noctuidae). *Journal of Phytoallexines*, 1(1).





metabolic processes. In addition to direct effects, plant extracts can act as plant resistance enhancers, which means that they can increase the ability of plants to deal with pests and diseases. This is usually done by inducing the production of secondary metabolites that have defensive properties. In addition, with the advancement of extraction and purification technologies, the ability to use plant compounds in more accurate and efficient formulations has increased, which helps to produce environmentally friendly products. Also, plant pesticides can help reduce the emergence of resistance in pests because the mechanisms of action of these compounds are often different from those of chemicals. Among these mechanisms is inhibiting the vital functions of pests or disrupting their reproductive process. This diversity in mechanisms of action reduces the possibility of developing resistance in pests because pests need to adapt to several different types of mechanisms. These practices can include enhancing plants with specific plant compounds for greater resistance to pests, or developing plant pesticides based on these compounds. These chemical compounds, as natural inhibitors, can prevent the plant from being eaten by insects or slow down the growth of pests, which in turn can lead to reduced crop damage. These differences cause them to be proposed as effective and environmental alternatives. Plant pesticides usually contain compounds that are produced through natural processes in plants and are responsible for defending the plant against pests. The expansion of the use of plant pesticides is not only due to their efficiency in pest control but also due to their compatibility with the principles of sustainable agriculture and the protection of biological diversity.

Materials and Methods: In this study, *Eucalyptus camaldolensis* and *Thyme vulgaris* plants were selected as plant sources to extract active and effective compounds from them by using an aqueous solvent. For practical applications of plant compounds, extracts of two plants, thyme and eucalyptus, were prepared by percolation method. The purpose of this extraction was to investigate the effect of different concentrations of aqueous extract formulation on the mortality rate of 3rd instar larvae of the cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*) in a laboratory environment.

Results and Discussion: The results of this study showed that the use of different concentrations of aqueous extracts of eucalyptus and thyme produced statistically significant differences in the mortality rate of 3rd instar cotton bollworm larvae within 24 hours ($p \leq 0.05$). In the study of the lethality of the concentrations of 60%, 70%, 80% and 90% of aqueous extracts of eucalyptus and thyme, the results indicated that the concentrations of 80% and 90% caused the greatest losses to the 3rd larval instar of cotton bollworm *H. armigera* after 24 hours, which were equal to 25.00% and 25.00% for eucalyptus aqueous extract, respectively. While the concentration of 60% and 70% caused the lowest losses (20.00%), and for thyme aqueous extract it was equal to 25.00% and 25.00%, respectively, and the concentration of 60% and 70% caused the lowest losses (20.00%).

Conclusion: As a result, aqueous extract formulations of eucalyptus and thyme showed similar toxic effects on cotton bollworm pest. The use of an aqueous solvent to extract secondary metabolites from these plants was more efficient than other solvent.

اثرات حشره کشی عصاره آبی اکالیپتوس کامالدول (*Eucalyptus camaldulensis*) و آویشن معمولی (*Thymus vulgaris*) روی کرم غوزه پنبه، (*Helicoverpa armigera*) (Hübner) (Lep.: Noctuidae)

رضا صادقی^{۱*} | مریم نظر آهاری^۱ | ارسلان جمشیدینیا^۱

۱. گروه حشره شناسی و بیماریهای گیاهی دانشکده فناوری کشاورزی ابوریحان، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

* ایمیل نویسنده مسئول: rsadeghi@ut.ac.ir

| اطلاعات مقاله | چکیده |
|--|---|
| نوع مقاله: مقاله پژوهشی | عصاره‌های به دست آمده از گیاهان، که عمدتاً از منابع طبیعی و قسمت‌های متفاوت گیاهان استخراج می‌شوند، به عنوان گزینه‌ای طبیعی و کارآمد برای جایگزینی آفت‌کش‌های شیمیایی، مورد توجه قرار گرفته‌اند. در این مطالعه، گیاهان اکالیپتوس کامالدول و آویشن معمولی به عنوان منابع گیاهی انتخاب شدند تا ترکیبات فعال و کارآمدی از آنها به وسیله استفاده از حلال آبی استخراج شود. هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف فرمولاسیون عصاره آبی بر روی میزان مرگ و میر لاروهای سن سوم کرم غوزه پنبه، (<i>Helicoverpa armigera</i>) در محیط آزمایشگاهی بود. نتایج نشان داد که استفاده از غلظت‌های متفاوت عصاره‌های آبی اکالیپتوس و آویشن، تفاوت آماری معنی‌داری را در میزان مرگ و میر لاروهای سن سوم کرم غوزه پنبه طی ۲۴ ساعت به وجود آورد. در بررسی اثر کشندگی غلظت‌های ۶۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درصد عصاره آبی اکالیپتوس و آویشن نتایج حاکی از آن بود که غلظت‌های ۸۰ و ۹۰ درصد بیشترین تلفات را در سن لارو سوم کرم غوزه پنبه <i>H. armigera</i> پس از ۲۴ ساعت ایجاد کردند که برای عصاره آبی اکالیپتوس به ترتیب برابر با ۲۵ و ۲۵ درصد بود. در حالی که غلظت ۶۰ و ۷۰ درصد سبب کمترین تلفات (۲۰ درصد) گردید و برای عصاره آبی آویشن به ترتیب برابر با ۲۵ و ۲۵ درصد بود و در غلظت ۶۰ و ۷۰ درصد سبب کمترین تلفات (۲۰ درصد) گردید. در نتیجه، فرمولاسیون‌های عصاره آبی حاصل از اکالیپتوس و آویشن اثرات سمیت مشابهی بر روی آفت کرم غوزه پنبه نشان دادند. |
| تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۲/۰۳ | |
| واژه‌های کلیدی: آویشن، اکالیپتوس، فرمولاسیون، سمیت. | |

استناد: صادقی، رضا؛ نظر آهاری، مریم و جمشیدینیا، ارسلان (۱۴۰۳). اثرات حشره کشی عصاره آبی اکالیپتوس کامالدول (*Eucalyptus camaldulensis*) و آویشن معمولی (*Thymus vulgaris*) روی کرم غوزه پنبه، (*Helicoverpa armigera*) (Hübner) (Lep.: Noctuidae). *دوفصلنامه گیاه‌پاد*، ۱(۱)، ۱۳-۲۰.



حقوق مؤلف © نویسنده گان.

ناشر: دانشگاه شاهد

مقدمه

در حال حاضر، جمعیت جهان به سرعت در حال افزایش است. برای تغذیه این جمعیت در حال رشد سریع، نیاز بیشتری به تولید مقدار زیادی محصول غذایی در مدت زمان کوتاه وجود دارد. در عین حال، به دلیل آسیب آفات حشرات در مزرعه و همچنین در شرایط انبار، زیان زیادی در محصولات کشاورزی و غلات غذایی وجود دارد. از این رو، استفاده از آفت‌کش‌های مصنوعی در کنترل آفات حشرات بیشتر شده است. اما استفاده مکرر از آفت‌کش‌های مصنوعی برای چندین دهه باعث شد که جمعیت حشرات در برابر آن آفت‌کش‌های شیمیایی مقاومت کنند و به جانوران و گیاهان زمین آسیب وارد کنند و به شرایط اقتصادی زیان وارد شود (Dhaliwal et al., 2015; Cramer, 1967). سمیت ذاتی و مشکل زیست محیطی پیش‌بینی نشده که با استفاده گسترده از آفت‌کش‌های مصنوعی تشدید شده است. توسط سازمان حفظ نباتات از طریق ممنوعیت، محدود کردن استفاده از آفت‌کش‌های سمی در کشاورزی مورد توجه قرار گرفته است. در نتیجه، توجه زیادی به کشف تنوع زیستی گیاهان معطوف شده است، زیرا گیاهان مجموعه‌ای غنی از مواد شیمیایی گیاهی را تولید می‌کنند که تا حدی به عنوان مولکول‌های دفاعی در برابر موجودات زنده تکامل یافته است. با این حال، آنها غیرسمی و به راحتی قابل تجزیه زیستی هستند و تأثیر جزئی بر سلامت محیط و انسان دارند. بنابراین، محصولات طبیعی به طور کلی ایمن در نظر گرفته می‌شوند. حشره‌کش‌های ایمن در حال حاضر مورد تقاضا هستند زیرا حشرات نسبت به محصولات موجود با سرعت بیشتری نسبت به تولید حشره‌کش‌های جدید مقاوم می‌شوند. با این حال، حفاظت مناسب گونه‌ها و جوامع بوم‌شناختی باید سال‌های مختلف در نظر گرفته شود تا از منابع تنوع زیستی در برابر تهدیدها محافظت شود (Gopalakrishnan et al., 2014). در سال‌های اخیر، استفاده از حشره‌کش‌ها نه به طور کامل تا حدودی کاهش یافته است. بنابراین امکان محدود کردن بیشتر استفاده از آفت‌کش‌ها با جستجوی ابزارهای جایگزین وجود دارد. در میان گزینه‌های موجود، بخش‌های گیاهی و محصولات مشتق شده از گیاه اخیراً اهمیت پیدا کرده‌اند، زیرا تنوع زیستی گیاهی منبع عالی از ترکیبات فعال بیولوژیکی یا متابولیت‌های ثانویه برای استفاده در حفاظت از محصولات کشاورزی است (Fite et al., 2018; Rahman et al., 2016). امروزه محصولات گیاهی (خام یا فرموله شده) به طور کلی با سایر محصولات گیاهی مخلوط می‌شوند. بخش‌های مختلف گیاه برای تهیه عصاره‌های خام با حلال آب استخراج شده و استفاده می‌شود در حالی که محصولات تجاری با فرآیندهای شیمیایی فرموله می‌شوند. درحقیقت، همه محصولات به یک شکل عمل می‌کنند، زیرا مواد فعال نقش اصلی را ایفا می‌کنند (Isman, 2006). در مورد آفات محصولات زراعی، اینها یکی از محدودیت‌های اصلی برای افزایش تولید مواد غذایی هستند زیرا به گیاهان زراعی آسیب جدی وارد می‌کنند و کیفیت غلات و محصولات غذایی را کاهش می‌دهند، که ضررهای اقتصادی قابل توجهی را به همراه دارد (Srivastava & Subramanian, 2018). در میان آفات زراعی کرم غوزه پنبه، (*Helicoverpa armigera* (Lep. Noctuidae))، آفت اصلی پنبه، ذرت، سورگوم، نخود، آفتابگردان، گوجه‌فرنگی و طیف وسیعی از گیاهان اقتصادی دیگر است. در آسیا، آفریقا، جنوب اروپا و استرالیا رخ می‌دهد. از این رو، برای کنترل پایدار این آفت پلی‌فاژ نیاز به توسعه روش‌های سازگار با محیط‌زیست برای سرکوب جمعیت آفات وجود دارد که باعث می‌شود که مشکلات کمتری برای محیط زیست ایجاد شود (Gopalakrishnan et al., 2014). البته حساسیت این آفت به برخی عصاره‌های گیاهی گزارش شده است لذا می‌توان برای کنترل این آفت از عصاره‌های گیاهی استفاده کرد. از آنجایی که گیاهان طیفی از متابولیت‌های ثانویه را برای محافظت از خود در برابر آفات مختلف حشرات تولید می‌کنند، علاقه روزافزونی برای استفاده از آنها در کنترل بسیاری از آفات حشرات به عنوان عصاره یا مواد فعال جدا شده وجود دارد. این مواد شیمیایی به آسانی قابل تجزیه، بسیار خاص و کمتر برای طبیعت سمی هستند. در دسترس بودن آنها را ارزان می‌کند و از این رو به راحتی در سیستم‌های تولید کشاورزی گنجانده می‌شوند. آفت‌کش‌های گیاهی مانند پیرتروم، چریش کم‌ترین سمیت را به‌ویژه برای ارگانوسم‌های غیرهدف دارند (Packiam et al., 2014). این ویژگی باعث می‌شود آفت‌کش‌های گیاهی در حفاظت پایدار محصولات موثر، قابل اعتماد و قابل قبول باشند. علاوه بر این، آنها بقایایی روی محصولات زراعی و محیط زیست باقی نمی‌گذارند و در نتیجه به حفظ محیط زیست و تضمین ایمنی برای مصرف‌کنندگان کمک می‌کنند. برهمکنش بین آفت‌کش‌های گیاهی و آفات به‌طور طبیعی بیوشیمیایی است بنابراین بعید است آفات مقاومت ایجاد کنند (Peshin et al., 2009). ترکیبات شیمیایی گیاهی موجود در عصاره‌ها از ترکیبات

ضروری است که ایمنی را برای موجودات غیرهدف به ویژه موجودات مفید از جمله زنبورهای گرده‌افشان تضمین می‌کند. بسته به گیاه منبع و غلظت‌های مورد استفاده، آفت‌کش‌های گیاهی اثر آللوپاتیک صفر یا کمی بر محصولات زراعی دارند. کارایی آنها به گونه‌های گیاه منشا، چه خشک و چه تازه، حلال‌های مورد استفاده برای استخراج و روش‌های استخراج بستگی دارد (Miresmailli & Isman, 2014). استفاده از محصولات گیاهی مانند عصاره‌آبی گیاهان، پودرهای گیاهی و محصولات گیاهی مخلوط در کنترل آفات حشرات موثر است. بسیاری از گیاهان مانند چریش به عنوان دافع، ضدتغذیه و حشره‌کش عمل می‌کنند. آفت‌کش‌های گیاهی شیوه‌های عمل متفاوتی را نشان می‌دهند. از جمله سمیت، دافع، تنظیم رشد و اصلاح ساختاری آنها جایگزین مناسبی در مدیریت آفات محصول نقش ایفا می‌کند. آنها با رفتار حشرات، فعالیت‌های فیزیولوژیکی، فرآیندهای بیوشیمیایی، مورفولوژی و مسیرهای متابولیک تداخل می‌کنند. فعالیت متابولیت‌ها در اثر آنها بر آفت خاص است، به عنوان مثال ترپن‌ها گل‌کوز را روی سلول‌های گیرنده شیمیایی در دهان لارو بالپولکداران مسدود می‌کنند (Hikal et al., 2017) از میان خانواده‌های گیاهی گزارش شده گیاه اکالیپتوس کامالدول، *Eucalyptus camaldulensis* از خانواده Myrtaceae و گیاه آویشن معمولی، *Thymus vulgaris* از خانواده Lamiaceae حاوی ترکیبات فعال زیستی با فعالیت در برابر آفات مهم محصولات زراعی به ویژه آفت کرم غوزه پنبه در مزارع پنبه هستند. استخراج ترکیبات مورد نظر از طریق استفاده از قسمت‌های خشک شده گیاهانی که به صورت پودر درآمده‌اند و با استفاده از حلال آبی صورت می‌گیرد، انجام می‌شود. سپس، عصاره‌های گیاهی به دست آمده تغلیظ و فرموله می‌شوند تا برای ارزیابی کارایی آنها در شرایط آزمایشگاهی یا مزرعه‌ای آماده باشند (Gahukar, 2014; Parul Panigrahi et al., 2021) با هدف یافتن ترکیبات گیاهی کم‌خطر برای کنترل آفات کشاورزی در این پژوهش اثرات حشره‌کشی عصاره‌های آبی اکالیپتوس کامالدول و آویشن معمولی روی کرم غوزه پنبه، *H. armigera* مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

پرورش حشرات کرم غوزه پنبه مطابق با روش شوری و هال (Shorey and Hale, 1965) با اندکی تغییرات انجام شد و در شرایط آزمایشگاهی یک دستگاه انکوباتور آنالوگ (مدل Gallenkamp، ساخت کشور انگلستان) با دمای 27 ± 2 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 60 ± 5 درصد، و دوره روشنایی ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی برای پرورش استفاده شد. به منظور تهیه جیره غذایی مصنوعی مناسب برای رشد و نمو و پرورش کرم غوزه پنبه یک فرمول غذایی تهیه شد. از این رو، مقادیر مرحله اول: آرد نخود ۱۲۵ گرم، قرص مولتی ویتامین ۱ عدد، سوربیک اسید ۰/۶ گرم، مخمر نانویی ۲۰ گرم، پودر جوانه گندم ۱۷/۵ گرم، آب مقطر ۲۰۰ سی سی، روغن مایع آفتابگردان ۳ میلی‌لیتر، مقادیر مرحله دوم: نیبازین ۶ گرم، آب مقطر ۲۲۵ سی سی، آگار صنعتی ۵ گرم، مقادیر مرحله سوم: اسید آسکوربیک ۱/۷ گرم، فرم آلدهید ۱/۲ میلی‌لیتر، استفاده شد. برای اندازه‌گیری و آماده کردن هر یک از ترکیبات غذایی و شیمیایی مورد نیاز، تمام ترکیبات را با استفاده از ترازوی آزمایشگاهی دیجیتالی AND (مدل GF300، ساخت کشور ژاپن) و با دقت ۰/۰۰۱ گرم توزین و در طی سه مرحله با همدیگر مخلوط شدند. برای تهیه عصاره‌های گیاهی ابتدا برگ‌های *E. camaldulensis* و *T. vulgaris* از شرکت تعاونی گیاهان دارویی سلامت محور شهرستان داراب در استان فارس خریداری و مورد تایید سازمان تحقیقات علمی و صنعتی ایران قرار گرفت. برگ‌های گیاهان اکالیپتوس و آویشن با استفاده از آسیاب برقی به شکل پودر درآورده شدند. برای استخراج عصاره‌ها از گیاهان اکالیپتوس و آویشن، از روش پراکولاسیون استفاده شد، که یکی از روش‌های صنعتی استخراج عصاره‌های گیاهی است و میزان و نوع مواد استخراجی (با یک حلال) را متفاوت می‌کند. روش کار بر اساس فارماکوپه گیاهان دارویی (British Pharmacopoeia, 2009). با کمی تغییرات انجام شد. به منظور استخراج عصاره آبی اکالیپتوس، با در نظر گرفتن شرایط ثابت آزمایشگاهی و زمان ثابت در مرحله اول، روز اول به ۱۰۰ گرم پودر گیاه اکالیپتوس، ۱۰۰۰ میلی‌لیتر حلال آب اضافه و داخل بالن ۱۰۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد و برای بدست آوردن مایع یکسان به وسیله همزن (ورتکس) هم زده شد. در آزمایشگاه با شرایط ثابت و زمان ثابت نگهداری شد. در مرحله دوم، روز دوم با توجه به شرایط ثابت و زمان ثابت مایع حاصله از کاغذ صافی قطر ۱۱ سانتیمتر (مدل MN آلمان، شماره ۶۱۶) موجود در قیف بوختر سرامیکی با قطر دهانه ۱۲ سانتیمتر (ساخت کشور چین) قرار داده شده روی استوانه مدرج عبور داده شد. بعد از عبور مایع از صافی مجدداً مایع داخل استوانه مدرج وزن شد و با اضافه

کردن دوباره ۱۰۰ گرم پودر گیاه اکالیپتوس و اضافه کردن حلال آب به مایع حاصله به وزن اولیه رسانده شد و داخل بالن ۱۰۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد. در آزمایشگاه با شرایط ثابت و زمان ثابت نگهداری شد. در مرحله سوم، روز سوم با توجه به شرایط ثابت و زمان ثابت مایع حاصله از کاغذ صافی عبور داده شد. بعد از عبور مایع از صافی مجدداً مایع داخل استوانه مدرج وزن شد. در این مرحله فقط ۱۰۰ گرم پودر گیاه اکالیپتوس به مایع حاصله افزوده شده و در داخل بالن ۱۰۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد. در روز بعد و عبور مایع از صافی مجدداً مایع داخل استوانه مدرج وزن شد و در همه مراحل عصاره‌گیری به روش پرکولاسیون از عمل همزدن برای استخراج بهتر مواد موثره گیاه استفاده شد. مقدار ۴۵ میلی‌لیتر محلول حاصله در لوله فالتون ۵۰ میلی‌لیتری آزمایشگاهی ریخته شد و درب آنها با پارافیلیم مسدود گردید و هر بار به تعداد ۶ عدد لوله در محل قرارگیری در روتورهای زاویه ثابت در دستگاه سانتریفوژ (مدل SIGMA 3K15، ساخت کشور آلمان) گذاشته شد و با ثابت دمایی ۲۵ درجه سلسیوس در دور ۵۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. بعد از جداسازی محلول رویی حاصل از سانتریفوژ را در بطری‌های ۱/۵ لیتری ریخته شدند و تا زمان عمل تغلیظ در دمای ۵ تا ۷ درجه سلسیوس در یخچال نگهداری شدند. به منظور انجام عمل تغلیظ ۱۰۰ درصد، محلول حاصله از سانتریفوژ در دستگاه تبخیرکننده دوار متصل با پمپ خلاء به نام روتاری اوپراتور (مدل BUCHI B-480، ساخت کشور آلمان) ریخته شد. مقدار ۱۵۰ میلی‌لیتر محلول حاصل از پودر گیاه اکالیپتوس در دمای ۷۰ درجه و با سرعت ۲۵۰ دور در دقیقه در مدت زمان بیشتری تغلیظ گردید و وزن عصاره تغلیظ شده ۱۰۰ میلی‌لیتر شد و عمل تغلیظ ۱۰۰ درصد تا تبخیر کامل حلال و استحصال حلال ادامه یافت و عصاره حاصل در بطری‌های ۱۵۰ میلی‌لیتری شیشه‌ای تیره استریل شده در دمای ۵ درجه سلسیوس نگهداری شده و جهت تهیه غلظت‌های مختلف در انجام آزمایشات زیست‌سنجی به کار رفت. آزمایشات اصلی برای هر یک از عصاره گیاهان مورد آزمایش با تغلیظ ۱۰۰ درصد در چهار غلظت اصلی مشخص گردید و با تعداد ۴۰ لارو سن سوم کرم غوزه، *H. armigera* و با تعیین غلظت‌های ۶۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درصد که در مقادیر مشخصی از عصاره آبی و آب مقطر مخلوط شدند انجام گرفت. برای هر غلظت از عصاره اکالیپتوس و عصاره آویشن از ده لارو سن سوم استفاده شده که برای ۴۵ ثانیه درون آن غوطه‌ور شدند و سپس لاروها به مدت ده ثانیه در خارج از ظروف حاوی محلول قرار گرفتند. این عمل برای سه مرتبه تکرار گردید. پس از تیمار لاروها به روش غوطه‌وری با غلظت‌های موثر عصاره‌های آبی اکالیپتوس و آویشن، شمارش تلفات لاروی در فاصله زمانی ۲۴ ساعت در چهار تکرار و چهار تیمار انجام شد. برای تیمار لاروهای سن سوم شاهد از آب استفاده شد. اثر کشندگی عصاره‌های آبی اکالیپتوس و آویشن روی لاروهای سن سوم تیمار شده، بررسی گردید. داده‌ها براساس آزمون تجزیه تحلیل واریانس با استفاده از نرم افزار SAS 8.1 محاسبه و بررسی شدند.

نتایج و بحث

با توجه به جدول ۱ که تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌های آبی اکالیپتوس و آویشن بر میانگین تلفات ($\pm SE$) لاروهای کرم غوزه پنبه است و نتایج بدست آمده از مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد نشان داد که بین تیمارهای ۶۰ درصد (۲۰ درصد)، تیمار ۷۰ درصد (۲۰ درصد)، تیمار ۸۰ درصد (۲۵ درصد) و تیمار ۹۰ درصد (۲۵ درصد) عصاره آبی اکالیپتوس از نظر تلفات روی سن لاروی سوم کرم غوزه پنبه در ۲۴ ساعت پس از تیمار شدن تفاوت معنی‌داری وجود ندارد و در یک گروه قرار گرفتند، در عصاره آبی آویشن بین تیمارهای ۶۰ درصد (۲۰ درصد)، تیمار ۷۰ درصد (۲۰ درصد)، تیمار ۸۰ درصد (۲۵ درصد) و تیمار ۹۰ درصد (۲۵ درصد) عصاره آبی آویشن از نظر تلفات روی سن لاروی سوم کرم غوزه پنبه در ۲۴ ساعت پس از تیمار شدن تفاوت معنی‌داری وجود ندارد و در یک گروه قرار گرفتند. در بررسی اثر کشندگی غلظت‌های ۶۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درصد عصاره آبی اکالیپتوس نتایج حاکی از آن بود که غلظت‌های ۸۰ و ۹۰ درصد بیشترین تلفات (۲۵ درصد) را به سن لاروی سوم کرم غوزه پنبه، *H. armigera* پس از ۲۴ ساعت ایجاد کردند. در حالی که غلظت‌های ۶۰ و ۷۰ درصد سبب کمترین تلفات (۲۰ درصد) گردید. در بررسی اثر کشندگی غلظت‌های ۶۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درصد عصاره آبی آویشن نتایج حاکی از آن بود که غلظت‌های ۸۰ و ۹۰ درصد بیشترین تلفات (۲۵ درصد) را به سن لاروی سوم کرم غوزه پنبه، *H. armigera* پس از ۲۴ ساعت ایجاد کردند. در حالی که غلظت‌های ۶۰ و ۷۰ درصد سبب کمترین

تلفات (۲۰ درصد) گردید. به طور کلی رابطه مستقیمی بین میزان تلفات و زمان در معرض عامل کنترل حشرات داخل پتری دیش‌ها مشاهده گردید. همچنین، اثر حفاظتی غلظت‌های ۶۰، ۷۰، ۸۰ و ۹۰ درصد فرمولاسیون عصاره آبی اکالیپتوس و آویشن بر مرحله لارو آزمایش‌ها نشان دادند که در سن لاروی سوم کرم غوزه پنبه، *H. armigera* ۲۴ ساعت بعد از تیمار شدن با فرمولاسیون عصاره آبی اکالیپتوس بین تیمار ۶۰ درصد (با میانگین ۸ عدد لارو) و تیمار ۷۰ درصد (با میانگین ۸ عدد لارو) و تیمار ۸۰ درصد (با میانگین ۱۰ عدد لارو) و تیمار ۹۰ درصد (با میانگین ۱۰ عدد لارو) و فرمولاسیون عصاره آبی اکالیپتوس و آویشن بین تیمار ۶۰ درصد (با میانگین ۸ عدد لارو) و تیمار ۷۰ درصد (با میانگین ۸ عدد لارو) و تیمار ۸۰ درصد (با میانگین ۱۰ عدد لارو) و تیمار ۹۰ درصد (با میانگین ۱۰ عدد لارو) از لحاظ ظهور حشرات کامل بین تیمارهای عصاره آبی اکالیپتوس و آویشن تفاوت معنی‌دار آماری وجود ندارد ($P \leq 0/05$, $df = 7$). بنابراین فرمولاسیون‌های عصاره آبی حاصل از اکالیپتوس و آویشن اثرات سمیت مشابهی روی آفت کرم غوزه پنبه نشان دادند. در حالت کلی بین تیمارهای عصاره آبی اکالیپتوس و آویشن با شاهد (آب مقطر) در ظهور حشرات کامل تفاوت معنادار آماری وجود دارد. بنابراین در جدول ۲ نتایج بدست آمده از تجزیه و تحلیل آماری داده‌های مربوط به تاثیر عصاره‌های آبی اکالیپتوس و آویشن بر میزان مرگ و میر لاروی سن سوم کرم غوزه پنبه، *H. armigera* نشان داد هر کدام از عصاره‌های آبی از نظر تلفات لاروی با یکدیگر تفاوت معنی‌دار آماری ندارند. در مورد تیمارها با اطمینان ۹۵ درصد می‌توان گفت بین غلظت‌های مختلف از نظر میزان مرگ و میر لاروی سن سوم کرم غوزه پنبه تفاوت معنی‌داری وجود ندارد و به علاوه تفاوت معنی‌داری بین اثرات ترکیبی عصاره‌های آبی اکالیپتوس و آویشن و غلظت‌های آزمایش شده آنها وجود نداشت. بنابراین بین دو عامل عصاره‌ها و غلظت‌ها اثر متقابل معنی‌داری مشاهده نشد ($P \leq 0/05$). با توجه به غلظت‌های مختلف در آزمایشات انجام شده با اطمینان ۹۵ درصد می‌توان نتیجه گرفت $F = 1/33$ محاسبه شده کمتر از F جدول آماری است. پس تفاوت معنی‌دار آماری وجود ندارد. با توجه به عصاره‌های آبی اکالیپتوس و آویشن در آزمایشات انجام شده با اطمینان ۹۵ درصد می‌توان نتیجه گرفت $F = 0/00$ محاسبه شده کمتر از F جدول آماری است و تفاوت معنی‌دار آماری وجود ندارد. با توجه به اثر متقابل بین عصاره‌های آبی اکالیپتوس و آویشن و غلظت‌ها در آزمایشات انجام شده با اطمینان ۹۵ درصد می‌توان نتیجه گرفت $F = 0/00$ محاسبه شده کمتر از F جدول آماری است. پس تفاوت معنادار آماری وجود ندارد ($P \leq 0/05$). در حالت کلی لاروهای تیمار شده تا زمان تبدیل به شفیره و تکمیل چرخه پرورش درجات مختلفی از ناهنجاری‌ها مانند: حد واسط لارو-شفیرگی و شفیرگی-بالغ در لاروهای سنین مختلف نشان دادند. همچنین مشاهده شد که اکثر لاروهای تیمار شده قادر به عبور از مراحل رشد بعدی نبودند و اثر مهاری عصاره آبی اکالیپتوس و آویشن بر کرم غوزه پنبه، *H. armigera* به صورت لارو نرمال، لارو تیمار شده، حشره کامل، حشره ناقص، شفیره نرمال، شفیره تیمار شده، حدواسط لارو-شفیرگی، شفیرگی متوسط مشاهده شد. در تیمارهای عصاره آبی اکالیپتوس و آویشن هیچ حشره‌ای ظاهر نشد که حاکی از کنترل مناسب این ترکیبات در ظهور نتایج حشرات مورد آزمایش باشد ($P \leq 0/05$). در تحقیق حاضر فرمولاسیون‌های عصاره آبی حاصل از اکالیپتوس و آویشن اثرات سمیت مشابهی روی آفت کرم غوزه پنبه نشان دادند. استخراج ترکیبات مختلف گیاهی موجود در عصاره گیاهان اکالیپتوس و آویشن می‌تواند اثر معنی‌دار متفاوتی را در حشرات داشته باشند که بستگی به حلال مورد آزمایش دارد. این نتایج با تحقیقات War و همکاران (۲۰۱۲) همسو می‌باشد. آنها اظهار داشتند که تعداد زیادی از گیاهان مورد آزمایش طیف وسیعی از مواد فعال فیزیولوژیکی هستند که با استخراج مناسب و استفاده از حلال‌های مناسب، اثربخشی حشره‌کشی این ترکیبات افزایش می‌یابد (War et al., 2012). نتایج تحقیقات در مورد اثربخشی عصاره‌های گیاهی اکالیپتوس و آویشن برای مقابله با آفات، از جمله کرم غوزه پنبه، *H. armigera* مورد بررسی و تایید قرار گرفته است. این عصاره‌ها به دلیل داشتن ترکیبات فعال زیستی، به طور قابل توجهی در کاهش جمعیت لارو برتری داشتند (Amjad et al., 2018). در تحقیق مشابه گزارش شده است که اثرات سمیت عصاره‌های آبی گیاهان بیش از ۵۰ درصد مرگ و میر سنین لاروی را روی آفت کرم غوزه پنبه، *H. armigera* نشان دادند و تمام عصاره‌های گیاهی آزمایش شده خاصیت حشره‌کشی دارند. در نتیجه، نتایج این مطالعه با تحقیقات (Sundararajan et al., 2001) مطابقت دارد و آشکار می‌سازد که عصاره‌های آبی گیاهی به عنوان آفت‌کش‌های زیستی سازگار با محیط زیست برای کنترل آسیب مخرب ناشی از آفت کرم غوزه پنبه، *H. armigera* استفاده شوند. در یک تحقیق مشابه، گزارش‌هایی در مورد اثرات حشره‌کشی عصاره‌های

آبی گیاهان خانواده Rutaceae وجود دارد که حدود ۹۰ درصد محافظت در برابر تغذیه آفت کرم غوزه پنبه، *H. armigera* را نشان می‌دهند (Dodia et al., 1998). نتایج تحقیق حاضر مبنی بر امکان مدیریت این آفت با ترکیبات مستخرج از گیاهان را تایید می‌کند. مشابه نتایج فوق و تحقیقات انجام شده توسط Murugan و همکاران در سال ۱۹۹۸ که بیان نمودند برای ارزیابی سمیت یا اثربخشی عصاره‌های گیاهی روی سنبل لاروی آفت کرم غوزه پنبه اگر مقدار دقیق و مطلوبی از عصاره به حشره داده شود، این امکان را می‌دهد که دزهای بالای عصاره‌های گیاهی باعث مرگ و میر آفت می‌شود. دزهای پایین‌تر ممکن است برای از بین بردن حشره آفت کافی نباشد، اما گاهی اوقات می‌تواند باعث بروز ناهنجاری‌ها شود. بروز ناهنجاری‌های مورفوژنتیک در دوران رشد لاروی یا دگردیسی، تأثیر چشمگیری بر روی جمعیت آفت کرم غوزه پنبه، *H. armigera* دارد (Ahmad, 2007). نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که مدیریت آفت مورد نظر با استفاده از ترکیبات استخراج شده از گیاهان امکان‌پذیر است. در مطالعه حاضر با توجه به بررسی‌های انجام شده، مشاهده شد که میزان کشندگی هر دو عصاره آبی اکالیپتوس و آویشن در روی سن سوم لاروی کرم غوزه، *H. armigera* یکسان است. حلال آب قابلیت استخراج متابولیت‌های ثانویه در میان سایر حلال‌ها از گیاه اکالیپتوس و آویشن را داشت. همچنین، با افزایش غلظت و مدت زمان قرار گرفتن لاروها در معرض عصاره، میزان مرگ و میر حشرات تحت تاثیر عصاره افزایش یافته است. استفاده از آفت‌کش‌های گیاهی در مدیریت آفات نه تنها به حفظ سلامت محیط زیست کمک می‌کند بلکه در کاهش اثرات جانبی ناشی از استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی نیز نقش مؤثری دارد. آفت‌کش‌های گیاهی به عنوان یک روش طبیعی و پایدار، امکان کنترل آفات در بخش کشاورزی را فراهم می‌آورند. بنابراین، به حفظ تعادل اکوسیستم‌های کشاورزی و کاهش وابستگی به آفت‌کش‌های شیمیایی کمک می‌کنند.

جدول ۱- تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره آبی اکالیپتوس و آویشن بر میانگین میزان مرگ و میر (\pm SE) لارو کرم غوزه پنبه،

H. armigera

Table 1- Effects of the different concentrations water extracts of eucalyptus and thyme on the average mortality rates (\pm SE) of the cotton bollworm, *H. armigera* larvae

| Extract concentration | Mortality rate (\pm SE) | |
|-----------------------|----------------------------|---------------|
| Eucalyptus | 60% | 20 \pm 0 |
| | 70% | 20 \pm 0 |
| | 80% | 25 \pm 3.27 |
| | 90% | 25 \pm 3.27 |
| Thymus | 60% | 20 \pm 0 |
| | 70% | 20 \pm 0 |
| | 80% | 25 \pm 3.27 |
| | 90% | 25 \pm 3.27 |

* In the columns, the mortality rates (\pm SE) with the same letters show no significant differences based on Duncan's test ($p \leq 0.05$).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به تاثیر عصاره‌های آبی اکالیپتوس و آویشن بر میزان مرگ‌ومیر لارو کرم غوزه

پنبه، *H. armigera*

Table 1- Results of the analysis of variance of the data related to the effects of water extracts of eucalyptus and thyme on the mortality rates of the cotton bollworm, *H. armigera* larvae

| Source of variable | Water extracts of eucalyptus and thyme | | | |
|--------------------------------|--|---------|-------|------|
| | df | MS | F | P |
| Extract | 1 | 0.00 | 0.00 | 1.00 |
| Concentration | 3 | 66.66 | 1.33 | 0.28 |
| Extract \times concentration | 3 | 0.00 | 0.00 | 1.00 |
| Experimental error | 24 | 1200.00 | 50.00 | |
| Total | 31 | 1400.00 | | |

** is significant at 1%.

نتیجه گیری

براساس نتایج حاصل از مطالعه اثرات حشره‌کشی عصاره‌های اکالیپتوس کامالدول، *E. camaldulensis* و آویشن معمولی، *T. vulgaris* توصیه می‌شود که تحقیقات بیشتری در جهت توسعه فرمولاسیون‌هایی با پایداری بالا انجام شود تا استفاده از این عصاره‌ها در کنترل کرم غوزه پنبه و آفات مشابه دیگر امکان‌پذیر شود. به دلیل اثرات جانبی نامطلوب آفت‌کش‌های شیمیایی و خطرات زیست‌محیطی آنها، استفاده از ترکیبات گیاهی به عنوان گزینه‌های کارآمد و کم‌خطر در کنترل آفات پیشنهاد می‌شود. این ترکیبات گیاهی نه تنها دارای سمیت حاد هستند بلکه می‌توانند اثرات زیرکشنده‌ی متعددی نیز داشته باشند، که آنها را به راهکارهای مناسبی برای کنترل حشرات آفت تبدیل می‌کند.

سپاسگزاری

نویسندگان از حمایت و کمک‌های فنی ارزشمند گروه حشره‌شناسی و بیماری‌های گیاهی دانشکده فناوری کشاورزی ابوریحان، دانشگاه تهران، ایران سپاسگزاری می‌کنند.

References

- Ahmad, M. (2007). Insecticide resistance mechanisms and their Management in *Helicoverpa armigera* (Hübner) - A review *Journal of agricultural research*, 45(4): 319-335.
- Amjad, U., Mian, I.A., Maqsood, Sh., Fazale, A., & Jawad, S. (2018). Comparative efficacy of indigenous plant extracts and a synthetic insecticide for the management of tomato fruit worm (*Helicoverpa armigera* Hub.) and their effect on natural enemies in tomato crop. *Pure and Applied Biology*, 7(3): 1014-1020.
- Azadbakht, M., Hosseini, A.S., & Fakhri, M. (2017). Necessity of standardization of medicinal plant extracts in investigations and the manner to perform it. *Razi Journal of Medical Sciences*, 23(152): 9-17.
- British Pharmacopoeia. (2009). *Volume III. Herbal Drugs and Herbal Drug Preparations Book 2009*. Evans WC. *Trease and Evans Pharmacognosy*. 16th edition. London City: Saunders Elsevier; 2009. p. 1-7, 121-147.
- Chatterjee, S., Sugilal, G., & Prabhu, S.V. (2019). Heat transfer in a partially filled rotary evaporator. *International Journal of Thermal Sciences*, 142:407-421.
- Cramer, H.H. (1967). *In book: Plant protection and world crop protection*. 524pp.ref.23pp.
- Dhaliwal, G.S., Jindal, V., & Mohindru, B. (2015). Crop Losses due to insect pests: Global and Indian Scenario. *Indian Journal of Entomology*, 77(2): 165-168.
- Dodia, D.A., Patel, I.S., & Pathak, A.R. (1995). Antifeedant properties of some indigenous plant extracts against larvae of *Helicoverpa armigera* *Pestol*. 19:21-22.
- Fite, T., Tefera, T., Negeri, M., Damte, T., & Sori, W. (2018). Management of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) by Nutritional Indices and Botanical Extracts of *Millettia ferruginea* and *Azadirachta indica*. *Book of Advances in Entomology*, 6: 235-255.
- Gahukar, R.T. (2014). Chapter8- Potential and Utilization of Plant Products in Pest Control. In book: Abrol, D. P. (eds.): *Integrated Pest Management*. Arag Biotech Pvt. Ltd., Nagpur India. 125-139 pp.

Gopalakrishnan, S., Ratna Kumari, B., Vijayabharathi, R., Sathya, A., Srinivas, V., & Ranga Rao G.V. (2014). Efficacy of Major Plant Extracts/Molecules on Field Insect Pests. In: Singh, D. (ed.), *Advances in Plant Biopesticides*, 5: 63-88 pp.

Hikal, W.M., Baeshen, R.S., & Said-Al Ahl, H.A.H. (2017). Botanical insecticide as simple extractives for pest control. *Journal of Cogent Biology*, 3: 16.

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

Miresmailli, S., & Isman, M.B. (2014). Botanical insecticides inspired by plant-herbivore chemical interactions. *Journal of Plant Science, Trends in Plant Science*, 19(1): 29-35.

Murugan, K., Sivaramakrishnan, S., Senthilkumar, N., Jayabalan, D., & Senthil, N.S. (1998). Syneristic interaction of botanicals and Biocides Nuclear polyhedrosis virus on pest control *JSIR*, 57:732-739.

Packiam, S.M., Baskar, K., & Ignacimuthu, S. (2014). Feeding deterrent and growth inhibitory activities of Ponneem, a newly developed phytopesticidal (Hubner), Asian Pac. *Journal of Tropical Biomedicine*, 4(1): 323- 328.

Parul Panigrahi, A., Jena, N.C., Tripathi, S., Tiwari, V., & Sharma, V. (2021). Eucalyptus: A Review on Agronomic and Medicinal Properties. *Biological Forum – An International Journal*, 13(1): 342-349.

Peshin, R., Bandral, R.S., Zhang, W.J., Wilson, L., & Dhawan, A.K. (2009). Chapter 1- Integrated Pest Management. A Global Overview of History Programs and Adoption. R. Peshin, A.K. Dhawan (eds.), *Integrated Pest Management: Innovation-Development Process*. Springer Science+Business Media B.V. 1-49 pp.

Rahman, S., Kumar Biswas, S., Chandra Barman, N., & Ferdous, T. (2016). Plant Extract as Selective Pesticide for Integrated Pest Management. *Biotechnological Research Journal*, 2(1): 6-10.

Shorey H. H., & R. L. Hale. (1965). Mass rearing of the larvae of nine noctuid species on a simple artificial medium. *Journal of Economic Entomology*, 58: 522-524.

Srivastava, C.H., & Subramanian, S. (2018). Storage Insect Pests and Their Damage Symptoms, an overview. *Journal of Grain Storage research. Or Indian Journal of Entomology*, 78: 53-58.

Sundararajan, G., & Kumuthakalavalli, R. (2001). Antifeedant activity of aqueous extract of *Gnidia glauca* Gilg. and *Toddalia asiatica* Lam. on the gram pod borer, *Helicoverpa armigera* (Hbn). *Journal of Environmental Biology*, 22(1): 11-14.

War, A.R., Paulraj, M.G., Ahmad, T., Buhroo, A.A., Hussain, B., Ignacimuthu, S., & Sharma, H., (2012). Mechanisms of plant defense against insect herbivores. *Journal of Plant Signaling and Behavior*, 10: 1306-20