Journal of Phytoallexins
Vol. 1, No. 1, Spring & Summer 2024 (Serial 1)

https://gyahpad.shahed.ac.ir/

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

Reza Sadeghi [1*] | **Maryam Nazarahari** [1] | **Arsalan Jamshidnia** [1]

1. *Department of Entomology and Plant Pathology , College of Aburaihan, University of Tehran, Tehran, Iran.*

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

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received: 20/12/2023
Accepted: 12/03/2024

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

EXTENDED ABSTRACT

Introduction: The use of plant pesticides in pest management seems necessary due to the widespread use of chemical pesticides, which has led to environmental damage. Plant extracts are mainly obtained from natural sources of different parts of plants. Therefore, their use in pest management has been considered as a natural and effective alternative to chemical pesticides. Pesticides have become important in modern agriculture, especially in organic agriculture, for several reasons. Because they avoid chemicals that can be harmful to the environment. These pesticides are made from natural materials and aim to maintain soil health and provide food security with minimal damage to the environment. Herbal pesticides such as essential oils and plant extracts can control pests naturally. Using herbal pesticides instead of chemicals can help reduce the development of resistance among pests, as these pesticides often have different mechanisms of action. Plant materials used in pesticides can help improve the structure and fertility of the soil and have received great attention due to their effectiveness, biodegradability, diverse action methods, low toxicity, and availability of primary resources. The effectiveness of plant pesticides in controlling pests without creating resistance to pests is very important. The biodegradability of plant pesticides means that there is less risk of toxic accumulation in the soil, and this is a great advantage for environmental protection. The rapid biodegradability of these compounds helps reduce long-term

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

© The Author(s).

Publisher: Shahed University

environmental effects. Plant pesticides are much safer due to their low toxicity to non-target organisms. This feature makes them an ideal choice for use in agricultural products that are directly consumed by humans. Herbal compounds naturally increase the ability of plants to defend against pest attacks. These compounds work with different mechanisms such as inhibiting the nervous activity of pests or disrupting their metabolism. These compounds help control pest populations due to direct toxic effects or by creating an unfavorable environment for pests. These pesticides not only cause the least damage to the environment but also help to maintain the health of plants by strengthening the defense system of plants. Herbal pesticides repel pests from extracts and compounds found in plants that have natural repellent properties. Plant compounds usually have specific effects on pests and do less harm to beneficial insects and other soil organisms. This helps to maintain biodiversity in the agricultural environment. While many pests develop resistance to chemical pesticides, the use of plant pesticides with a greater variety of control mechanisms can reduce this resistance. Agricultural products produced with the help of pesticides usually have lower levels of harmful chemicals, which benefits the health of consumers. Pesticides can be easily and cheaply produced on a small scale, allowing farmers to switch to more sustainable practices. Some plant pesticides contain the main elements needed for plant growth. When these pesticides are applied to plants, they not only repel pests but also deliver essential nutrients directly to the plants. Some compounds in plant pesticides can stimulate the defense activities of plants. For example, some plant extracts may activate biochemical signals in the plant that make plants better able to resist attacks from pests and diseases. Plant pesticides help maintain soil health because they are highly degradable improve soil microbial activities and strengthen soil structure. This in turn improves plant growth.

Materials and Methods: In this research, eucalyptus and thyme plants were selected as plant sources to extract active and effective compounds, and plant extracts were extracted by percolation method using 70% ethanol solvent, and the mortality rate of 3rd instar larvae of the cotton bollworm, (*Helicoverpa armigera*) was determined concentrations of ethanol extract formulation was determined in laboratory conditions.

Results and Discussion: The results showed that different concentrations of eucalyptus and thyme ethanol extract formulations have a statistically significant difference in the mortality rate of 3rd instar larvae of the cotton bollworm during 24 hours ($p \leq 0.05$). In the study of the lethality of concentrations of 20%, 30%, 40% and 50% of the ethanol extracts of eucalyptus, the results indicated that the concentrations of 30%, 40% and 50% caused the highest losses to the 3rd instar larvae of the cotton bollworm *H. armigera* After 24 hours, they created 75.00%, 80.00% and 92.50%, respectively. While 20% concentration caused the lowest losses (70.00%). The lethality of concentrations of 20%, 30%, 40% and 50% of the ethanol extracts of thyme, the results indicated that the concentrations of 30%, 40% and 50% caused the highest losses to the 3rd instar larvae of the cotton bollworm *H. armigera* After 24 hours, they created 75.00%, 75.00% and 90.00%, respectively. While 20% concentration caused the lowest losses (45.00%).

Conclusion: Therefore, the formulation of ethanol extract of eucalyptus has more toxicity for cotton bollworm pest.

دوفصلنامه گیاه‌پاد
دوره ۱/ شماره ۱/ بهار و تابستان ۱۴۰۳ (پیاپی ۱)
https://gyahpad.shahed.ac.ir/

اثرات حشره‌کشی عصاره اتانولی اکالیپتوس (*Eucalyptus camaldulensis*) وآویشن (*Thymus vulgaris*) روی کرم غوزه پنبه، *Helivoverpa armigera* (Hübner) (Lep.: Noctuidae)

رضا صادقی [۱*] | مریم نظرآهاری [۲] | ارسلان جمشیدنیا [۳]

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

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

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۲۹

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۲۲

واژه‌های کلیدی:
آویشن،
اکالیپتوس،
سمیت،
فرمولاسیون عصاره،
کرم غوزه پنبه.

چکیده

استفاده از آفت‌کش‌های گیاهی در مدیریت آفات به دلیل گستردگی مصرف آفت‌کش‌های شیمیایی، که منجر به آسیب محیط زیست شده است، امری ضروری به نظر می‌رسد. عصاره‌های گیاهی عمدتاً از منابع طبیعی بخش‌های مختلف گیاهان بدست می‌آیند. از این رو، استفاده از آنها در مدیریت آفات به عنوان جایگزینی طبیعی و مؤثر برای آفت‌کش‌های شیمیایی مورد توجه قرار گرفته است. در این تحقیق، گیاهان اکالیپتوس کامالدولنسیس و آویشن ولگاریس به عنوان منابع گیاهی جهت استخراج ترکیبات فعال و مؤثر انتخاب شدند و عصاره‌های گیاهی با استفاده از حلال ا تانول ۷۰ ٪ استخراج گرد ید و میزان مرگ و میر لارو سن ۳ کرم غوزه پنبه (*Helicoverpa armigera*) با غلظت‌های مختلف فرمولا سیون عصاره اتانولی در شرایط آزمایشگاهی تعیین گردید. نتایج نشان دادند که غلظت‌های مختلف از فرمولا سیون عصاره اتانولی اکالیپتوس و آویشن تفاوت آماری معنی‌داری بر میزان مرگ و میر لارو سن ۳ آفت کرم غوزه پنبه در طی مدت زمان ۲۴ ساعت دارند. در بررسی اثرکشندگی غلظت‌های ۲۰ ٪، ۳۰ ٪، ۴۰ ٪ و ۵۰ ٪ عصاره اتانولی اکالیپتوس و آویشن نتایج حاکی از آن بود که غلظت‌های ۳۰ ٪، ۴۰ ٪ و ۵۰ ٪ بیشترین تلفات را به سن لارو ۳ کرم غوزه پنبه *H. armigera* پس از ۲۴ ساعت ایجاد کردند که برای عصاره اتانولی اکالیپتوس به ترتیب برابر با ۷۵/۰۰، ۸۰/۰۰ و ۹۲/۵۰ درصد بود. در حالی که غلظت ۲۰ ٪ سبب کمترین تلفات (۷۰/۰۰ درصد) گردید و برای عصاره اتانولی آویشن به ترتیب برابر با ۷۵/۰۰، ۷۵/۰۰ و ۹۰/۰۰ درصد بود و در غلظت ۲۰ ٪ سبب کمترین تلفات (۴۵/۰۰ درصد) گردید. بنابراین فرمولاسیون عصاره اتانولی اکالیپتوس دارای سمیت بیشتری برای آفت کرم غوزه پنبه است.

استناد: صادقی، رضا؛ نظرآهاری، مریم و جمشیدنیا، ارسلان (۱۴۰۳). اثرات حشره‌کشی عصاره آبی اکالیپتوس کامالدول (*Eucalyptus camaldulensis*) وآویشن معمولی (*Thymus vulgaris*) روی کرم غوزه پنبه، *Helivoverpa armigera* (Hübner) (Lep.: Noctuidae). *دوفصلنامه گیاه‌پاد*، ۱ (۱)، ۵۸-۵۱.

ناشر: دانشگاه شاهد

حق‌مؤلف © نویسندگان.

مقدمه

کشاورزی با دو چالش عمده از جمله تولید غذای کافی برای تغذیه جمعیت در حال رشد و جلوگیری از تخریب محیط زیست مواجه است. بنابراین کاهش تلفات ناشی از آفات محصولات زراعی شامل حشرات و جوندگان راهبردی برای افزایش عرضه مواد غذایی است (Cramer, 1967). گیاهان زراعی که به عنوان غذا برای انسان استفاده می‌شود توسط بیش از ۱۰۰۰ گونه حشره آسیب می‌بینند. حشره آفت را می‌توان به هر گونه حشره‌ای اشاره کرد که فعالیت‌های آن با افزایش تراکم جمعیت، باعث زیان اقتصادی به محصولات زراعی می‌شود. با این حال، کمتر از ۱۰ درصد از کل گونه‌های آفت شناسایی شده به عنوان آفات اصلی در نظر گرفته می‌شوند. عمده آفات گیاهان زراعی حشراتی هستند که سبب کاهش عملکرد محصولات زراعی می‌شوند و با تنظیم چرخه زندگی خود در زمان مناسب به اندام‌های گیاهی حمله می‌کنند و سبب خسارت به گیاه می‌شوند (Dhaliwal et al., 2015). آفت *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) در میان آفات زراعی کرم غوزه پنبه، اصلی مزارع پنبه و طیف وسیعی از گیاهان اقتصادی دیگر است. خسارت این آفت پلی فاژ در آسیا، آفریقا، جنوب اروپا و استرالیا رخ می‌دهد. با این حال، روش اصلی کنترل آفات در بین کشاورزان استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی است، که به شدت آلودگی محیط زیست را افزایش می‌دهد و همچنین به کاهش جمعیت دشمنان طبیعی کمک می‌کند. استفاده مکرر از آفت‌کش‌های شیمیایی باعث مقاومت جمعیت حشرات می‌شود و به محصولات کشاورزی نیز خسارت می‌رساند. این امر باعث مشکلات اقتصادی و زیان به کشاورزان می‌شود (Gopalakrishnan et al., 2014). در سال‌های اخیر، استفاده از حشره‌کش‌های شیمیایی 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 این ترکیبات فعال بیولوژیکی به آسانی قابل تجزیه، بسیار خاص و کمتر برای طبیعت سمی هستند (Fite et al., 2009; Rahman et al., 2016).

ترکیبات گیاهی به عنوان ضدتغذیه، دافع، تنظیم‌کننده رشد، ضدعفونی‌کننده و بازدارنده تخمریزی عمل می‌کنند و دارای اثرات سمی آفت‌کش هستند. این اعمال به دز یا غلظت محصول بستگی دارد و به رفتار و فیزیولوژی سیستم‌های مختلف حشرات مربوط می‌شود. به عنوان مثال، محصولات تجاری شده از گیاهانی مانند پیرتروم گزارش شده است که اثرات سمی بر آفات حشرات دارند و باعث فلج، نابودی و مرگ‌ومیر می‌شود. آفت‌کش‌های گیاهی نیز در تولید آنزیم‌های مهم مانند آنزیم‌های مسئول پوست‌اندازی اختلال ایجاد می‌کنند و در نتیجه رشد و نمو را مهار می‌کنند. برخی از آفت‌کش‌های گیاهی با فلج و انسداد انتقال الکترون در فرآیندهای تنفسی حشرات، بی‌حرکتی و سمیت باعث می‌شوند. حشره‌کش‌های گیاهی بیشترین سهم از آفت‌کش‌های گیاهی موجود در بازار را در سراسر جهان تشکیل می‌دهند. ترکیبات گیاهی عمدتاً سموم معده هستند. سمیت تماس آنها در برابر حشرات و یا لاروهای نرم ، نسبتاً آهسته‌رهش گزارش شده است. این کاهش احتمالاً به این دلیل است که محصولات گیاهی باید توسط آفات بلعیده شوند تا مؤثر باشند. عمل سیستمیک زمانی اعمال می‌شود که محصولات گیاهی در خاک گنجانده می‌شوند یا روی قسمت‌های گیاه اعمال می‌شوند و نهال‌ها محصولات را جذب و انباشته می‌کنند. این عمل باعث افزایش کارایی زیستی و ماندگاری محصول در مزرعه می‌شود و گیاه را در برابر آفات مقاوم می‌کند (Miresmailli et al., 2014). به طورکلی، محصولات گیاهی ممکن است در هر مرحله از زندگی آفت یک عمل واحد یا چندین اثر را نشان دهند که ممکن است فوراً با یک اثر تخریبی از بین نرود اما ممکن است پس از چند ساعت آفت بمیرد. تأثیر ممکن است روی یک گونه آفت بیشتر از سایر گونه‌ها باشد. همچنین، تشخیص اینکه کدام روش عمل غالب است زمانی که تنوع بین‌گونه ای در واکنش‌های رفتاری یک گونه آفت وجود دارد، دشوار است. به عنوان مثال، ماده‌ای که در یک گونه آفت را از تغذیه بازدارد می‌تواند به عنوان یک جاذب، بازدارنده رشد یا محرک برای سایر آفات عمل کند. در مورد عصاره‌های خام، اثر مضر می‌تواند به دلیل تعدیل ماهیت عصاره‌ها و تغییر مسیرهای بیوشیمیایی در اندام‌های تولید مثل، درشت مولکول‌ها، سطوح مواد معدنی در مجرای گوارش و سطح آنزیم‌های سم‌زدایی در بدن چربی و روده رخ می‌دهد. تحریک گیرنده‌های

چشایی مهار می‌شود یا پاسخ منفی دریافت می‌کند و در نتیجه آفت قادر به تشخیص غذای مناسب نیست. تغییرات بیوشیمیایی در سیستم گوارشی رخ می‌دهد که بر مصرف و استفاده از غذا تأثیر می‌گذارد. با این وجود، حساسیت‌زدایی سریع نسبت به یک ماده بازدارنده تغذیه آفت را در مواجهه مکرر یا مداوم مقاوم می‌کند یا بازدارندگی تغذیه در دزهای پایین‌تر آفت‌کش‌ها تولید نمی‌شود. جفت‌گیری حشرات مختل شده و از تخمریزی جلوگیری می‌شود و یا تعداد بسیار کمی تخم گذاشته می‌شود. این اثرات ممکن است به نسل بعدی منتقل شود. سنتز و آزادسازی ترشحات عصبی به تأخیر می‌افتد که بر ترشح هورمون جوانی و آنزیم‌های پوست‌اندازی (اکدایزن) اثر می‌گذارد و محصول به عنوان تنظیم‌کننده رشد حشرات (IGR) شناخته می‌شود. در سیکل زندگی آفات غالباً حدواسط دو مرحله یا سن‌لاروی تولید می‌شوند و چرخه زندگی آنها را مختل می‌کنند (Isman, 2006).

از میان خانواده‌های گیاهی گزارش شده گیاه اکالیپتوس، *Eucalyptus camaldulensis* از خانواده Myrtaceae و گیاه آویشن، *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 با استفاده از قسمت‌های خشک شده گیاه که به صورت پودر و با حلال‌های آلی انجام می‌شود و سپس عصاره‌های گیاهی بدست آمده تغلیظ و فرموله شده و برای کارایی در شرایط آزمایشگاهی و یا مزرعه ارزیابی می‌شوند (Gahukar, 2014; Parul Panigrahi et al., 2021). با هدف دستیابی به ترکیبات گیاهی کم‌خطر برای کنترل آفات کشاورزی در این پژوهش اثر حشره‌کشی عصاره اتانولی اکالیپتوس و آویشن روی کرم غوزه پنبه، *H. armigera* بررسی شد.

مواد و روش ها

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 ۲±۲۷ درجه سلسیوس، رطوبت‌نسبی ۵±۶۰ درصد، و دوره روشنایی ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی برای پرورش استفاده شد. به منظور تهیهٔ جیرهٔ 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 ۰/۶گرم، مخمر نانوایی ۲۰ گرم، پودر جوانه گندم ۱۷/۵ گرم، آب مقطر ۲۰۰ سی سی، روغن مایع آفتابگردان ۳ میلی‌لیتر، مقادیر مرحله دوم: نیپاژین 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 (مدلGF300، 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 *Eucalyptus camaldulensis* و *Thymus 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 پرکولاسیون 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 (2009, 2017) با کمی تغییرات انجام شد. به منظور استخراج عصاره اتانولی اکالیپتوس، با در نظر گرفتن شرایط ثابت آزمایشگاهی و زمان ثابت در مرحله اول، روز اول به ۱۰۰ گرم پودرگیاه اکالیپتوس، ۱۰۰۰ میلی‌لیتر حلال اتانول ۷۰ درصد 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 بوخنر سرامیکی با قطر دهانه ۱۲ سانتیمتر (ساخت کشور چین)

قرار داده شده روی استوانه مدرج عبور داده شد. بعد از عبور مایع از صافی مجددا مایع داخل استوانه مدرج وزن شد و با اضافه کردن دوباره ۱۰۰ گرم پودر گیاه اکالیپتوس و اضافه کردن حلال اتانول ۷۰ درصد 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 مجددا 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 مجددا 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 فالکون ۵۰ میلی‌لیتری آزمایشگاهی ریخته شد و درب آنها با پارافیلم 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 ۵۰ درصد، محلول حاصله از سانتریفوژ در دستگاه تبخیرکننده دوار متصل با پمپ خلاء به نام روتاری اواپراتور (مدل BUCHI B-480 ، ساخت کشور آلمان) ریخته شد. محلول حاصل از پودر گیاه اکالیپتوس در دمای ۶۵ درجه و با سرعت ۵۹ دور در دقیقه تغلیظ گردید. وزن عصاره تغلیظ شده ۴۵۰ میلی‌لیتر شد. عمل تغلیظ ۵۰ درصد تا تبخیر 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 ۵۰ درصد درچهار غلظت اصلی مشخص گردید و با تعداد ۴۰ لارو سن ۳ کرم غوزه، *H. armigera* و با تعیین غلظت‌های ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ درصد که در مقادیر مشخصی از عصاره اتانولی و آب مقطر مخلوط شدند انجام گرفت. برای هر غلظت از عصاره اکالیپتوس از ۱۰ لارو سن ۳ استفاده شده که برای ۴۵ ثانیه درون آن غوطه‌ور شدند و سپس لاروها به مدت ۱۰ ثانیه از ظروف حاوی محلول خارج گردیدند. این عمل برای یک مرتبه تکرار گردید و برای هر غلظت از عصاره آویشن از ۱۰ لارو سن ۳ استفاده شده که برای یک دقیقه درون آن غوطه‌ور شدند و سپس لاروها به مدت یک دقیقه از ظروف حاوی محلول خارج گردیدند. پس از تیمار لاروها به روش غوطه‌وری با غلظت‌های موثر عصاره‌های اتانولی اکالیپتوس و آویشن، شمارش تلفات لاروی در فاصله زمانی ۲۴ ساعت در چهار تکرار و چهار تیمار انجام شد. برای تیمار لاروهای سن ۳ شاهد از آب استفاده شد. اثر کشندگی عصاره‌های اتانولی اکالیپتوس و آویشن روی لاروهای سن ۳ تیمار شده، بررسی گردید. داده‌ها براساس آزمون تجزیه تحلیل واریانس با استفاده از نرم افزار SAS 8.1 و غلظت کشنده ۵۰ درصد (LC_{50}) به روش پروبیت با استفاده از نرم افزار SPSS 16.0 محاسبه و بررسی شدند.

نتایج و بحث

در جدول ۱ نتایج اثر کشندگی عصاره اتانولی اکالیپتوس و آویشن بر مرحله لاروی کرم غوزه پنبه نشان داده شده است. مقادیر بدست آمده از تجزیه پروبیت در مورد میزان کشندگی (LC_{50}) فرمولاسیون عصاره اتانولی، آویشن و اکالیپتوس مشخص گردید، که به دلیل متفاوت بودن حدود اطمینان ۹۵ درصد محاسبه شده پس از ۲۴ ساعت از نظر کشندگی تفاوت معنی‌دار آماری وجود دارد. بنابراین غلظت کشنده ۵۰ درصد (LC_{50}) فرمولاسیون عصاره اتانولی اکالیپتوس روی سن ۳ لاروی کرم غوزه، *H. armigera* ۱۰/۱۷۱درصد به دست آمد. فرمولاسیون عصاره اتانولی اکالیپتوس نسبت به فرمولاسیون عصاره اتانولی آویشن در روی سن ۳ لاروی کرم غوزه، *H. armigera* سمی‌تر است. همچنین، با توجه به جدول ۲ که تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره‌های اتانولی اکالیپتوس و آویشن بر میانگین تلفات (±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 ۳۰ درصد (۷۵/۰۰ درصد)، تیمار ۴۰ درصد (۸۰/۰۰ درصد) و تیمار ۵۰ درصد (۹۲/۵۰ درصد) عصاره اتانولی اکالیپتوس از نظر تلفات روی

سن لاروی ۳ کرم غوزه پنبه در ۲۴ ساعت پس از تیمار شدن تفاوت معنی‌داری وجود ندارد و در یک گروه قرار گرفتند، اما غلظت ۲۰ درصد با سایر تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار آماری بود. در عصاره اتانولی آویشن بین تیمارهای ۳۰ درصد (۷۵/۰۰ درصد)، تیمار ۴۰ درصد (۷۵/۰۰ درصد) و تیمار ۵۰ درصد (۹۰/۰۰ درصد) از نظر تلفات روی سن لاروی ۳ کرم غوزه پنبه در ۲۴ ساعت پس از تیمار شدن تفاوت معنی‌داری وجود ندارد و در یک گروه قرار گرفتند، اما غلظت ۲۰ درصد با سایر تیمارها دارای تفاوت معنی‌دار آماری بود. در بررسی اثر کشندگی غلظت‌های ۲۰، ۳۰، ۴۰ و۵۰ درصد عصاره اتانولی اکالیپتوس نتایج حاکی از آن بود که غلظت‌های ۳۰، ۴۰ و۵۰ درصد بیشترین تلفات را به سن لاروی ۳ کرم غوزه پنبه، *H. armigera* پس از ۲۴ ساعت ایجاد کردند که به ترتیب برابر با ۷۵/۰۰، ۸۰/۰۰ و ۹۲/۵۰ درصد بود. در حالی که غلظت ۲۰ درصد سبب کمترین تلفات (۷۰/۰۰ درصد) گردید. در بررسی اثر کشندگی غلظت‌های ۲۰، ۳۰، ۴۰ و۵۰ درصد عصاره اتانولی آویشن نتایج حاکی از آن بود که غلظت‌های ۳۰، ۴۰ و۵۰ درصد بیشترین تلفات را به سن لاروی ۳ کرم غوزه پنبه، *H. armigera* پس از ۲۴ ساعت ایجاد کردند که به ترتیب برابر با ۷۵/۰۰، ۷۵/۰۰ و ۹۰/۰۰ درصد بود. در حالی که غلظت ۲۰ درصد سبب کمترین تلفات (۴۵/۰۰ درصد) گردید. به طورکلی رابطه مستقیمی بین میزان تلفات و زمان در معرض عامل کنترل حشرات داخل پتری‌دیش‌ها مشاهده گردید. همچنین، اثر حفاظتی غلظت‌های ۲۰، ۳۰، ۴۰ و۵۰ درصد فرمولاسیون عصاره اتانولی اکالیپتوس و آویشن بر مرحله لارو آزمایش‌ها نشان دادند که در سن لاروی ۳ کرم غوزه پنبه، *H. armigera* ۲۴ ساعت بعد از تیمار شدن با فرمولاسیون عصاره اتانولی اکالیپتوس بین تیمار ۵۰ درصد (با میانگین ۳۷ عدد لارو) و تیمار ۴۰ درصد (با میانگین ۳۲ عدد لارو) و تیمار ۳۰ درصد (با میانگین ۳۴ عدد لارو) و تیمار ۲۰ درصد (با میانگین ۲۸ عدد لارو) و فرمولاسیون عصاره اتانولی آویشن بین تیمار ۵۰ درصد (با میانگین ۳۶ عدد لارو) و تیمار ۴۰ درصد (با میانگین ۳۰عدد لارو) و تیمار ۳۰ درصد (با میانگین ۳۰ عدد لارو) و تیمار ۲۰ درصد (با میانگین ۱۸ عدد لارو) از لحاظ ظهور حشرات کامل بین تیمارهای عصاره اتانولی اکالیپتوس و آویشن با شاهد (آب مقطر) تفاوت معنی‌دار آماری وجود دارد ($P\leq$۰/۰۵ ، df= ۷). بنابراین در جدول ۳ نتایج بدست آمده از تجزیه و تحلیل آماری داده‌های مربوط به تاثیر عصاره‌های اتانولی اکالیپتوس و آویشن بر میزان مرگ‌ومیر لاروی سن ۳ کرم غوزه پنبه، *H. armigera* نشان داد هر کدام از عصاره‌های اتانولی از نظر تلفات لاروی با یکدیگر تفاوت معنی‌دار آماری ندارند. در مورد تیمارها با اطمینان ۹۵ درصد می‌توان گفت بین غلظت‌های مختلف از نظر میزان مرگ‌ومیر لاروی سن ۳ کرم غوزه پنبه تفاوت معنی‌داری وجود دارد و به علاوه تفاوت معنی‌داری بین اثرات ترکیبی عصاره‌های اتانولی اکالیپتوس و آویشن و غلظت‌های آزمایش شده آنها وجود نداشت. بنابراین بین دو عامل عصاره‌ها و غلظت‌ها اثر متقابل معنی‌داری مشاهده نشد ($P\leq$۰/۰۵). با توجه به غلظت‌های مختلف در آزمایشات انجام شده با اطمینان ۹۵ درصد می‌توان نتیجه گرفت F= ۷/۴۷ محاسبه شده کمتر از F جدول آماری است. پس تفاوت معنی‌دار آماری وجود ندارد. با توجه به عصاره‌های اتانولی اکالیپتوس و آویشن در آزمایشات انجام شده با اطمینان ۹۵ درصد می‌توان نتیجه گرفت F= ۳/۳۳ محاسبه شده کمتر از F جدول آماری است و تفاوت معنی‌دار آماری وجود ندارد. با توجه به اثر متقابل بین عصاره‌های اتانولی اکالیپتوس و آویشن و غلظت‌ها در آزمایشات انجام شده با اطمینان ۹۵ درصد می‌توان نتیجه گرفت F=۱/۲۸ محاسبه شده کمتر از F جدول آماری است. پس تفاوت معنادار آماری وجود ندارد ($P\leq$۰/۰۵). درحالت کلی لاروهای تیمار شده تا زمان تبدیل به شفیره و تکمیل چرخه پرورش درجات مختلفی از ناهنجاری‌ها مانند: حد واسط لارو–شفیرگی و شفیرگی–بالغ در لاروهای سنین مختلف نشان دادند. همچنین مشاهده شد که اکثر لاروهای تیمار شده قادر به عبور از مراحل رشد بعدی نبودند. و اثر مهاری عصاره اتانولی اکالیپتوس و آویشن برکرم غوزه پنبه، *H. armigera* به صورت لارو نرمال، لارو تیمار شده، حشره کامل، حشره ناقص، شفیره نرمال، شفیره تیمار شده، حدواسط لارو–شفیرگی، شفیرگی متوسط مشاهده شد. در تیمارهای عصاره اتانولی اکالیپتوس و آویشن هیچ حشره‌ای ظاهر نشد که حاکی از کنترل مناسب این ترکیبات در ظهور نتایج حشرات مورد آزمایش باشد ($P\leq$۰/۰۵). در تحقیق حاضر میزان LC_{50} عصاره اکالیپتوس و آویشن به ترتیب مقادیر ۱۰/۱۷۱ و ۲۳/۲۶۴ درصد بود که فرمولاسیون عصاره اکالیپتوس دارای سمیت بیشتری نسبت به فرمولاسیون عصاره آویشن بود. 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 در صورت استخراج مناسب و استفاده از حلال مناسب بر میزان حشره‌کشی آن ترکیب افزوده خواهد شد (War et al., 2012). در تحقیقی دریافتند عصاره گیاهان اکالیپتوس و آویشن در برابر سن‌های مختلف لاروی کرم غوزه پنبه، *H. armigera* موثر است و ۲۴–۴۸ ساعت برای از بین بردن سنین اولیه لاروی کرم غوزه پنبه، *H. armigera* کافی است. با این حال، نتایج تحقیق نشان داد که حداکثر مرگ و میر پس از ۷۲ ساعت استفاده از اسپری ثبت شد که ممکن است به دلیل تغییر در دوز و شرایط تجربی باشد. مشاهده شده است که محلول‌پاشی عصاره اکالیپتوس و آویشن با میانگین کاهش لاروی به ترتیب ۳۲/۵۰و ۳۰/۲۹ درصد به طور یکسان مؤثر بوده و باعث کاهش جمعیت آفت شده است. نتایج تحقیقات در مورد اثربخشی عصاره گیاهان اکالیپتوس و آویشن در برابر آلودگی لاروی کرم غوزه پنبه، *H. armigera* نشان داد که تمام تیمارهای آزمایش شده به طور قابل توجهی در کاهش جمعیت لارو برتری داشتند (Amjad et al., 2018). نتایج تحقیق حاضر مبنی بر امکان مدیریت این آفت با ترکیبات مستخرج از گیاهان را تایید می‌کند. در مطالعه حاضر با توجه به بررسی‌های انجام شده، مشاهده شد که میزان کشندگی عصاره اکالیپتوس با حلال اتانولی بیشتر از عصاره آویشن با همان حلال است. 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 می‌تواند به حفظ سلامت محیط زیست و کاهش اثرات جانبی آفت‌کش‌های شیمیایی کمک کند. آفت‌کش‌های گیاهی می‌توانند به عنوان یک راهکار طبیعی و پایدار برای کنترل آفات در کشاورزی مورد استفاده قرار گیرند.

جدول ۱- مقادیر LC_{50} عصاره اتانولی اکالیپتوس و آویشن روی لارو کرم غوزه پنبه، *H. armigera*

Table 1- LC_{50} values of the ethanol extract of eucalyptus and thyme on the cotton bollworm, *H. armigera* larvae

				95% confidence limits	
	Herbal extract	Time (hour)	*P*	LC_{50}	Lower bound	Upper bound
Probit	Ethanol extract of thyme	24	0.01	23.26	17.00	27.35
	Ethanol extract of eucalyptus	24	0.01	10.17	0.001	18.71

جدول ۲- تاثیر غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی اکالیپتوس و آویشن بر میانگین میزان مرگ و میر (±SE) لارو کرم غوزه پنبه، *H. armigera*

Table 2- Effects of the different concentrations ethanol extracts of eucalyptus and thyme on the average mortality rates (±SE) of the cotton bollworm, *H. armigera* larvae

Extract concentration		Mortality rate (±SE)
Eucalyptus	20%	70.00 ± 4.20b
	30%	75.00 ± 4.50a
	40%	80.00 ± 6.40a
	50%	92.50 ± 2.50a
Thymus	20%	45.00 ± 3.50b
	30%	75.00 ± 4.50a
	40%	75.00 ± 4.50a
	50%	90.00 ± 2.00a

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

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس داده‌های مربوط به تاثیر عصاره‌های اتانولی اکالیپتوس و آویشن بر میزان مرگ‌ومیر لارو کرم غوزه پنبه، *H. armigera*

Table 3- Results of the analysis of variance of the data related to the effects of ethanol extracts of eucalyptus and thyme on the mortality rates of the cotton bollworm, *H. armigera* larvae

	Ethanol extracts of eucalyptus and thyme			
Source of variable	df	MS	F	P
Extract	1	703.68	3.33	0.08n.s
Concentration	3	1577.36	7.47	0.00**
Extract × concentration	3	269.55	1.28	0.30n.s
Experimental error	24	5069.00	211.20	
Total	31	11313.44		

** is significant at 1%; n.s is not significant at 5%.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج حاصل از بررسی اثرات حشره‌کشی عصاره اکالیپتوس *Eucalyptus camaldulensis* و آویشن *Thymus vulgaris* پیشنهاد می‌شود تحقیقات بیشتر در راستای فرمولاسیون‌هایی با پایداری بالاتر جهت امکان استفاده از عصاره آویشن و اکالیپتوس در کنترل کرم غوزه پنبه و یا آفات مشابه دیگر انجام شود. به دلیل وجود اثرات جانبی نامطلوب آفت‌کش‌های شیمیایی، استفاده از ترکیبات مستخرج از گیاهان به عنوان عوامل کارآمد و کم‌خطر در کنترل آفات که علاوه بر سمیت حاد دارای اثرات زیرکشندگی متعددی هم می‌باشند، راهکار مناسبی برای کنترل حشرات آفت هستند.

سپاسگزاری

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

References

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.

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.

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*, 235-255pp.

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

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

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.* Vol (51), 45-66.

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.

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.

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.

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*. 152: 17-19.

British Pharmacopoeia. (2009). *Volume III*. HerbalDrugs and Herbal Drug Preparations Book 2009. Evans WC. *Trease and Evans Pharmacognosy*. 16th edition. LondenCity: 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.

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.

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.