Journal of Phytoallexins
Vol. 1, No. 2, Autumn & Winter 2024-25 (Serial 2)

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

The effect of *Punica granatum* and *Juglans regia* extracts on *Galleria mellonella* blood cells with their repellency and fumigant toxicity

Reza Sadeghi [1*] | **Zahra Tavakolizadeh** [2] | **Arsalan Jamshidnia** [3]

1. *Department of Entomology and Plant Pathology, College of Agricultural Technology (Aburaihan), University of Tehran, Tehran, Iran.*
2. *Department of Entomology and Plant Pathology, College of Agricultural Technology (Aburaihan), University of Tehran, Tehran, Iran.*
3. *Department of Entomology and Plant Pathology, College of Agricultural Technology (Aburaihan), University of Tehran, Tehran, Iran.*

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

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received: 11/10/2024
Accepted: 23/11/2024

Keywords:

granulocyte,
plasmatocyte,
repellency,
fumigant

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. 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.

Cite this article: Sadeghi, Reza; Tavakolizadeh, Zahra & Jamshidnia, Arsalan (2024-25). The effect of *Punica granatum* and *Juglans regia* extracts on *Galleria mellonella* blood cells with their repellency and fumigant toxicity. *Journal of Phytoallexines , 1(2).*

© The Author(s).

Publisher: Shahed University

Materials and Methods: In this study, effects of concentrations of (5%, 15% and 30% of *Punica granatum*) and concentrations of (5%, 10% and 20% of *Juglans regia* extract) on

Journal of Phytoallexins
Vol. 1, No. 2, Autumn & Winter 2024-25 (Serial 2)
https://gyahpad.shahed.ac.ir/

Galleria mellonella were studied. For this purpose, one microliter of the desired concentration was injected to the abdominal wall of the larva, and then one of the second abdominal pair's legs was cut, and the extracted hemolymph of the leg was studied and blood cells were counted. In addition, concentrations of 5%, 10%, 15% and 20% of extracts were evaluated to determine the degree of repellency by using an olfectometer tube and concentrations of (100, 170, 200, 300 and 400 µl) of *Juglans regia* extract and concentrations (500, 700, 900 and 1000 µl) of *Punica granatum* extract was studied to determine the fumigant toxicity.

Results and Discussion: The results showed that the highest amount of repellency for *J. regia* extract and *P. granatum* extract was obtained at 20% concentration and created 12 hours and 18 hours after treatment, respectively. In addition, the results showed that the fumigant toxicity of *J. regia* extract was much higher than that of *P. granatum* extract for *G. mellonella*. Also, the total number of blood cells and plasmatocytes after injection of *J. regia* extract and the number of granulocytes and the total number of cells after injection of *P. granatum* extract decreased with increasing concentrations and the number of granulocyte cells after injection of *J. regia* extract as well as the number of plasmutocytes after injection of *P. granatum* extract had a different process.

دوفصلنامه گیاه‌پاد
دوره ۱/ شماره ۲/ پاییز و زمستان ۱۴۰۳ (پیاپی ۲)
https://gyahpad.shahed.ac.ir/

بررسی تاثیر عصاره پوست انار (*Punica granatum*) و پوست گردو (*Juglans regia*) بر سلول های خونی، دورکنندگی و سمیت تدخینی لارو شب پره موم خوار، *Galleria mellonella*

رضا صادقی [۱*] | زهرا توکلی زاده [۲] | ارسلان جمشیدنیا [۳]

۱. گروه حشره شناسی و بیماریهای گیاهی، دانشکده فناوری کشاورزی ابوریحان، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۲. گروه حشره شناسی و بیماریهای گیاهی، دانشکده فناوری کشاورزی ابوریحان، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۳. 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: ۱۴۰۳/۰۷/۲۰
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۰۳

واژه‌های کلیدی:
گرانولوسیت،
پلاسماتوسیت،
دورکنندگی،
سمیت تدخینی

چکیده

عصاره‌های گیاهای اثرات گسترده‌ای را روی آفات از خود نشان داده‌اند و به سبب خواص حشره کشی، دورکنندگی توجه بسیاری از محققان را به خود جلب نموده‌اند، اما مشکل عمده این ترکیبات غیر اقتصادی بودن آنها است. از طرفی اگر بتوان از ضایعات کشاورزی استفاده نمود هزینه ها به شدت کاهش می‌یابد. به همین منظور در این پژوهش اثرات غلظت‌های (۵٪، ۱۵٪ و ۳۰٪ عصاره پوست انار، *Punica granatum* و غلظت‌های (۵٪، ۱۰٪، و ۲۰٪عصاره پوست گردو، *Juglans regia* روی سلول‌های خونی لارو شب‌پره موم‌خوار، *Galleria mellonella* مطالعه شد. غلظت‌های ۵٪، ۱۰٪، ۱۵٪ و ۲۰٪ عصاره‌ها به منظور بررسی میزان دورکنندگی و با استفاده از لولهٔ اولفکتومتر و غلظت‌های (۱۰۰، ۱۷۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر) از عصاره گردو و غلظت‌های (۵۰۰، ۷۰۰، ۹۰۰ و ۱۰۰۰ میکرولیتر) از عصاره انار به منظور بررسی خاصیت سمیت تدخینی مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیشترین میزان دورکنندگی برای عصاره گردو و عصاره انار در غلظت ۲۰ ٪ و به ترتیب در ۱۲ ساعت و ۱۸ ساعت پس از تیمار شدن ایجاد می شود. به علاوه نتایج نشان داد که سمیت تدخینی گردو بسیار بیشتر از عصاره انار برای لارو *G. mellonella* است. همچنین تعداد کل سلول‌های خونی و پلاسموتوسیت‌ها پس از تزریق عصاره گردو و تعداد گرانولوسیت‌ها و تعداد کل سلول‌ها پس از تزریق عصاره انار با افزایش غلظت کاهش یافت و تعداد سلول-های گرانولوسیت پس از تزریق عصاره گردو و نیز تعداد پلاسموتوسیت‌ها پس از تزریق عصاره انار روند متفاوتی را به همراه داشت.

استناد: صادقی، رضا؛ توکلی‌زاده، زهرا؛ جمشیدنیا، ارسلان (۱۴۰۳). بررسی تاثیر عصاره پوست انار (*Punica granatum*) و پوست گردو (*Juglans regia*) بر سلول های خونی، دورکنندگی و سمیت تدخینی لارو شب پره موم خوار، *Galleria mellonella*. *دوفصلنامه گیاه‌پاد*، ۱ (۲)، ۲۷-۳۶.

ناشر: دانشگاه شاهد

حق‌مؤلف © نویسندگان.

مقدمه

بشر از روزی که کشاورزی را در روی زمین آغاز کرده همواره با رقبای سرسختی در استفاده از مواد غذایی مواجه بوده است. حشرات ازجمله عوامل رقیب بوده‌اند و بشر از مواد مختلفی ازجمله سموم آفت‌کش برای کنترل آن‌ها استفاده کرده است. اما کاربرد وسیع حشره‌کش‌ها به توسعه نژادهای حشرات، از بین رفتن موجودات زنده و اثرات نامطلوب زیست‌محیطی منجرگردیده است. از طرفی گیاهان بسیاری وجود دارند که دارای خاصیت حشره‌کشی می‌باشند. مشتقات گیاهی با خاصیت حشره‌کشی در مقایسه با مواد شیمیایی برای محیط و مواد انباری ایمن‌تر هستند و ماندگاری کمتر بر روی محصول ایجاد می‌کنند و کشاورز با هزینه کمتر می‌تواند آنها را تهیه نماید. اعتقاد بر این است که ترکیبات طبیعی با منشأ گیاهی مزیت‌هایی از قبیل سمیت کم روی پستانداران، تجزیه سریع و در دسترس بودن به‌صورت محلی را دارند (Belmain et al., 2001).

سلول‌های خونی در سیستم ایمنی حشرات نقش مهمی را ایفا می‌کنند و آن‌ها را در برابر استرس‌های ناشی از محیط و یا سموم شیمیایی و میکروبی محافظت می‌کنند. به علاوه تاثیر عصاره ها بر هموگرام حشرات نیز نتایج جالبی را به همراه داشته که ناشی از اثرگذاری آنها بر ایمنی حشرات است. لذا اگر بتوان در ارتباط با روند اثرگذاری عصاره‌ها بر سلول‌های خونی نتایج را به دست آورد می‌توان تا حدودی در ارتباط با نحوه ایمنی حشره نیز اطلاعاتی را کسب نمود.

یکی از آفات مهمی که امروزه بسیار موردتوجه قرارگرفته است و به خسارت جدی به یکی از مهم‌ترین مواد غذایی منجرشده است، شب‌پره موم خوار (*G. mellonella*) می باشد که یکی از آفت‌های کندوی زنبورعسل است. برای کنترل این آفت از روش‌های مختلفی استفاده می‌شود و مهم‌ترین آن‌ها استفاده از سموم شیمیایی است که دارای عوارض بسیاری می باشد. لذا اگر بتوان از ترکیبات گیاهی برای کنترل این آفت استفاده نمود گام موثری در جهت سلامت انسان ایجاد خواهد شد.

کرستف در تحقیقات خود نشان داد که گیاه *Artemisia absinthium* دارای خاصیت بازدارندگی تخم‌ریزی روی سفیده کلم است (Krstev et al., 2014). آنتونیوس و هگازی تحقیقاتی را روی عصاره زیره سبز (*Cuminum cyminum*) انجام دادند و بیان نمودند که این عصاره باعث دفع سن گندم و کاهش میزان تغذیه و خسارت آن می‌شود. همچنین نتایج تحقیقات آنها نشان داد که عصاره گیاه *Artemisia santonicum*، دارای خاصیت ضد تغذیه علیه لارو سن پنجم *Spodoptera littoralis*است (Antonious and Hegazy, 1987). لذا تلاش شد در تحقیق حاضر نیز خواص عصاره های گردو و انار در کنترل شب‌پره موم خوار موردمطالعه قرار گیرد.

۱. مواد و روش ها

۱-۱. پرورش شب‌پره موم خوار

برای پرورش حشره، ابتدا لاروها داخل ظروف پلاستیکی چهارگوش به ابعاد ۹×۱۸×۲۵ سانتی‌متر که حاوی جیرهٔ غذایی مصنوعی (۲۶۰ گرم سبوس گندم، ۱۲۰ گرم موم، ۱۰۰ گرم مخمر، ۲۰۰ گرم گلیسیرین، ۱۲۰ گرم آرد گندم، ۱۵۰ گرم عسل و ۵۰ گرم آب) بود قرار گرفتند و در دمای ۲±۲۸ درجهٔ سلسیوس و رطوبت نسبی ۱۰ ±۵۰ درصد و در تاریکی داخل انکوباتور نگهداری شدند. سپس لاروها از مواد غذایی تغذیه نموده و به شفیره تبدیل شدند. در همین زمان شفیره‌ها به ظروفی که دارای پارچه‌های تنظیف بودند، برای جفت‌گیری منتقل شدند.

۱-۲. تهیهٔ عصارهٔ گردو

ابتدا پوست سبز گردو جدا و خشک شد و با استفاده از دستگاه آسیاب برقی کاملاً پودر گردید. سپس ۴ گرم از پودرهای حاصل در کاغذهای صافی بسته بندی شدند و در داخل مخزن سوکسله قرار گرفتند. فرآیند عصاره‌گیری با استفاده از حلال اتانول و به مدت ۴ ساعت انجام شد. محلول حاصل که حاوی عصاره و اتانول بود، با استفاده از دستگاه روتاری و در دمای ۳۰ درجه سلسیوس و دور ۲۸۰rpm به مدت ۲ ساعت خالص و سپس در درون ظروف شیشه‌ای تیره و در دمای ۴ درجهٔ

سلسیوس نگهداری شدند.

۱-۳. تهیه عصاره انار

پوست انار اکوتیپ اصفهان خشک و پودر گردید. سپس میزان ۷۰ گرم از پودرهای حاصل شده با استفاده از ۷۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰٪ مخلوط و به مدت ۵ ساعت روی دستگاه مگنت استریر با دور ۱۰۰۰ و دمای ۲۵ درجهٔ سلسیوس قرار گرفت پس از آن محلول به‌دست‌آمده از کاغذهای صافی واتمن عبور داده شد، عصاره و حلال با استفاده از دستگاه روتاری به مدت ۲ ساعت و در دمای ۴۰ درجهٔ سلسیوس و دور ۲۸۰ از یکدیگر خالص شدند. عصارهٔ پوست انار در شیشه‌های تیره و در دمای ۴ درجهٔ سلسیوس نگهداری شد.

۱-٤. تهیهٔ غلظت مناسب از عصاره‌ها

برای تهیه غلظت مناسب عصاره‌ها ابتدا میزان مرگ‌ومیر۲۰ تا ۸۰ درصد ثبت و سپس با استفاده از فاصله لگاریتمی غلظت‌های مناسب تعیین شد و از آب به عنوان تیمار شاهد استفاده گردید.

۱-۵. بررسی سمیت تدخینی عصاره ها

۱۰ میلی لیتر از هریک از غلظت‌های تعیین شده درون ظروف شیشه ای کوچک (۷۵ میلی لیتری) ریخته و درب آن را با توری محکم بسته شد. این ظروف درون ظرف ۷۵۰ میلی لیتری که حاوی ۱۰ عدد لارو *G. mellonella* بود قرار داده شدند و سپس به انکوباتوری با دمای ۲±۲۸ درجهٔ سلسیوس و رطوبت نسبی ۱۰ ±۵۰ درصد منتقل گردیدند، تلفات بعد از ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تیمار شدن در ۴ تکرار ثبت گردید.

۱-۶. بررسی دورکنندگی عصاره‌ها

در بررسی خاصیت دورکنندگی از غلظت‌های ۵٪، ۱۰٪، ۱۵٪ و ۲۰٪ عصاره‌های مورد آزمایش و با استفاده از لوله باسوین انجام شد. در هر مرحله تعداد ۵ عدد لارو پروانه موم خوار داخل لوله باسوینی گذاشته شد که دریک سمت ماده غذایی همراه با عصاره و در سمت دیگر ماده غذایی به همراه آب قرار داشت و سپس تعداد لارو های موجود در هر مسیر از لوله باسوسن در زمان های ۶، ۱۲، ۱۸ و ۲۴ ساعت پس از تیمار شدن و درچهار تکرار ثبت شد. برای محاسبه درصد تلفات از فرمول (۵۰ -x)۲ و برای تعیین میزان دورکنندگی از فرمول تالوکدر و هاوز استفاده شد (Talukder and Howse). در این فرمول مقدار x برابر با درصد حشرات باقی مانده می باشد.

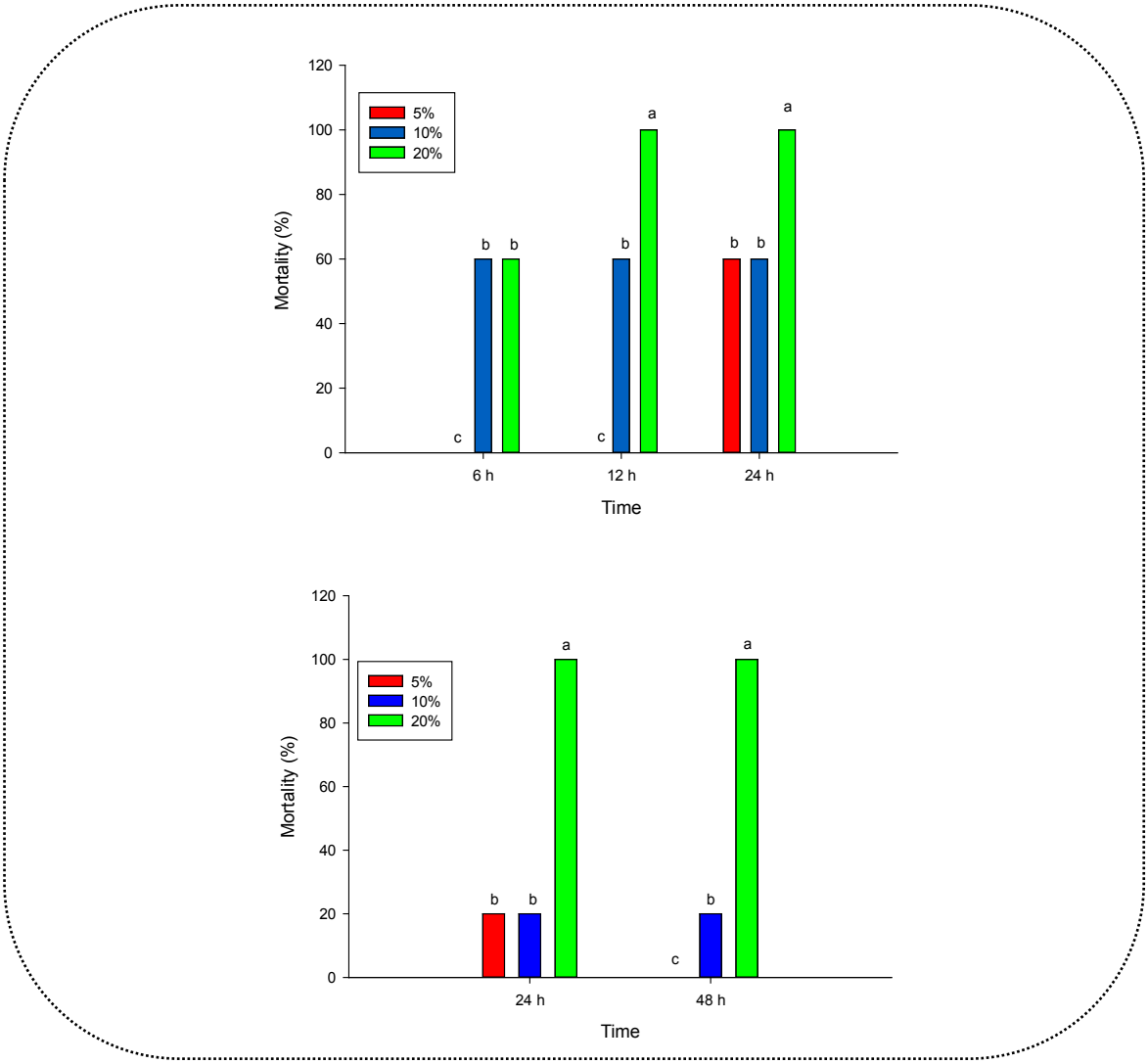
۱-۷. تزریق عصاره به حشره و شمارش سلول های خونی

برای بررسی تاثیر عصاره بر سلول‌های خونی حشره ابتدا با استفاده از سرنگ همیلتون یک میکرولیتر از غلظت‌های تهیه شده از عصاره‌های گیاهی در فاصله بین جفت دوم و سوم پای شکمی لارو سن چهارم لارو *G. mellonella* تزریق گردید. برای جلوگیری از خروج همولنف در محل تزریق از پارافین استفاده شد. و در فواصل زمانی ۳، ۶، ۱۲ و ۲۴ ساعت پس از تیمار شدن یک قطره از همولنف حشره درون ۱۰۰ میکرولیتر ماده ضد انعقادخون (۰/۰۱ اتیلن دی آمین تترا استیک اسید، ۰/۱ مول گلوکز، ۰/۰۶۲ مول سدیم کلرید، ۰/۰۲۶ مول اسیدسیتریک و PH= ۴/۶) ریخته و مخلوط شد. سپس ۱۰ میکرولیتر از مخلوط ماده در مرکز لام هموسایتومتر قرار داده شد و تعداد سلول‌ها ثبت گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با برنامه SAS و برای رسم نمودارها از اکسل استفاده شد.

۲. نتایج و بحث

نتایج حاصل از آزمون دورکنندگی نشان داد که میزان دورکنندگی ترکیبات با افزایش غلظت در هر دو ترکیب افزایش

یافته است به نحوی که بیشترین میزان دورکنندگی برای هر دو عصاره در غلظت ۲۰٪ مشاهده شد (شکل۱). همچنین میزان دورکنندگی عصاره گردو بیشتر از عصاره انار بود به نحوی که میزان ۱۰۰٪ دورکنندگی برای عصاره گردو در ۱۲ ساعت پس از تیمار بدست آمد. برای عصاره انار در ۱۸ ساعت پس از تیمارشدن میزان دور کنندگی صد درصد ثبت گردید که نشان دهنده آن است که هر دو ترکیب پتانسیل بالایی در دورکنندگی لارو *G. mellonella* را دارند (شکل۱).

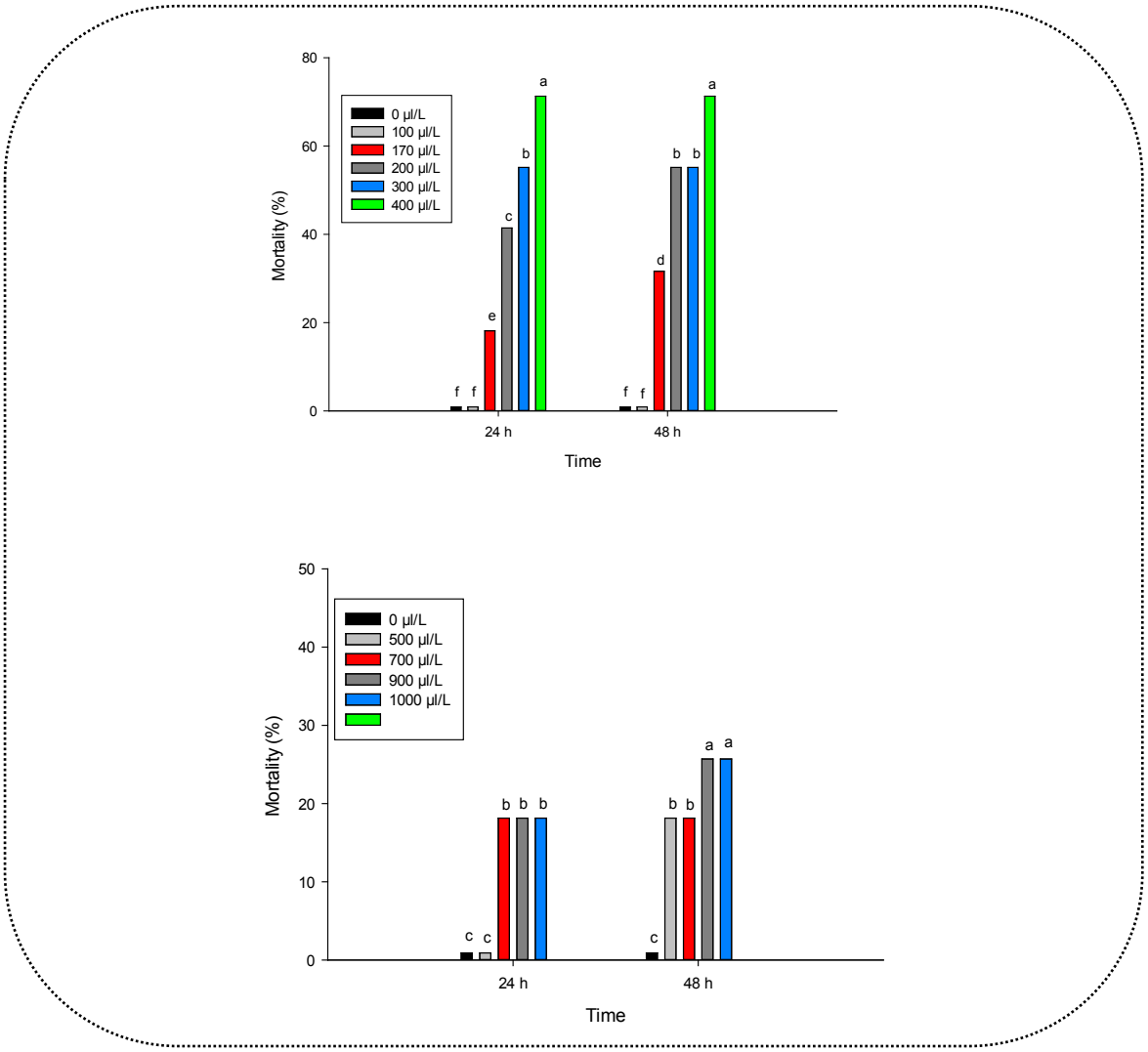


شکل ۱- میانگین دور کنندگی عصاره *Juglans regia* (شکل بالا) و عصاره *Punica granatum* (شکل پایین)روی *G. mellonella* (ستون‌های با حروف غیر مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار هستند)

Fig. 1- The mean repellency of *Juglans regia* extract (upper figure) and *Punica granatum* extract (lower figure) against *G. mellonella* (Means followed by a different letter in columns are significantly different by Duncan test at $P \leq 0.05$)

نتایج حاصل از آزمون سمیت تدخینی (شکل ۲) نشان داد که هر دو ترکیب برای لارو شب‌پره موم خوار دارای سمیت تدخینی می باشند. اما میزان سمیت عصاره انار به صورت معنی‌داری با عصاره گردو متفاوت بود. به نحوی که دامنه غلظت‌های تدخینی مورد استفاده برای عصاره انار شامل غلظت‌های ۵۰۰، ۷۰۰، ۹۰۰ و ۱۰۰۰ میکرو لیتر می باشد در صورتی‌که دامنهٔ غلظت‌های مورد استفاده برای عصاره گردو بسیار پایین تر از موارد قبل و شامل غلظت‌های ۱۰۰، ۱۷۰،

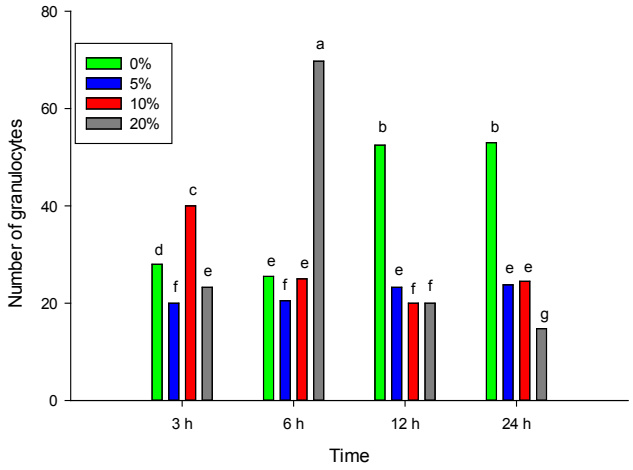
۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میکرولیتر است. همچنین در بالاترین غلظت عصاره گردو میزان ۷۱/۳۰٪ مرگ‌ومیر آفت در ۲۴ ساعت مشاهده شد. در صورتی‌که در بالاترین غلظت عصاره انار تنها ۳۱/۶۳٪ تلفات مشاهده شد. بنابراین عصاره گردو دارای سمیت تدخینی بهتری نسبت به عصاره انار است.

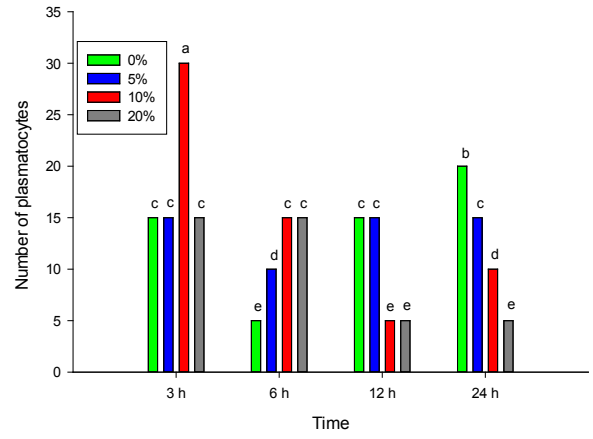


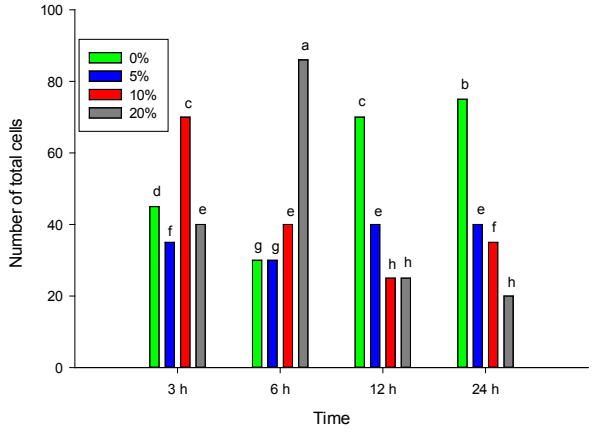
شکل ۲- میانگین تلفات عصاره *Juglans regia* (شکل بالا) و عصاره *Punica granatum* (شکل پایین)روی *G. mellonella*
(ستون‌های با حروف غیر مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار هستند)

Fig. 2- The percentage of mortality of *Juglans regia* extract and *Punica granatum* extracts against *G. mellonella*
(Means followed by a different letter in columns are significantly different by Duncan test at P ≤ 0.05)

نتایج حاصل از تزریق عصاره‌های گردو و انار به سطح شکمی لارو و نیز شمارش تعداد پلاسموتوسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها و تعداد کل سلول‌های خونی (شکل ۳ و شکل۴) نشان داد که تعداد کل سلول‌های خونی و پلاسموتوسیت‌ها پس از تزریق عصاره گردو و تعداد گرانولوسیت‌ها و تعداد کل سلول‌ها پس از تزریق عصاره انار با افزایش غلظت کاهش یافت و تعداد سلول‌های گرانولوسیت پس از تزریق عصاره گردو و نیز تعداد پلاسموتوسیت‌ها پس از تزریق عصاره انار روند متفاوتی را نشان داد. به نحوی که بالاترین غلظت به کار گرفته شده برای عصاره گردو و انار به ترتیب ۲۰٪ و ۳۰٪ بود.

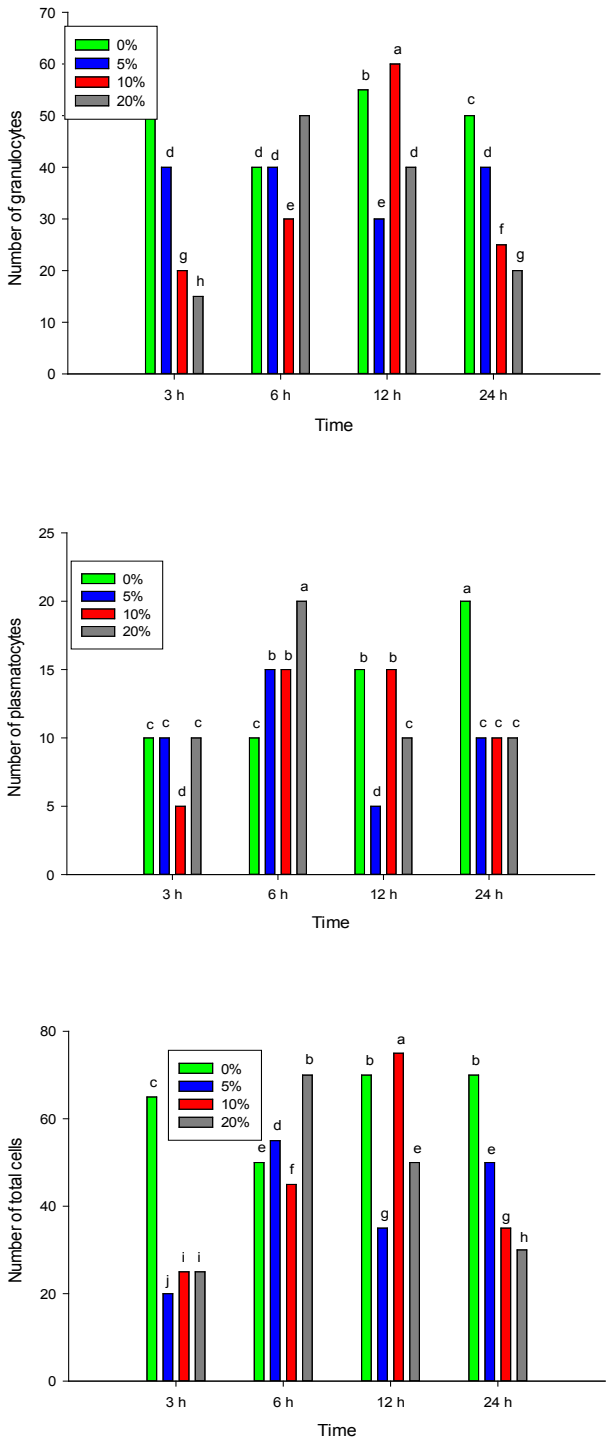






شکل ۳- میانگین تعداد کل سلول‌های خونی، گرانولوسیت‌ها و پلاسماتوسیت‌های لارو *G. mellonella* بعد از تزریق عصاره *Juglans regia* (ستون‌های با حروف غیر مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار هستند)

Fig. 3- The mean number of ($\times 10^4$) total blood cells, granulocyte and plasmatocyte cells of *G. mellonella* after *Juglans regia* extract injection (Means followed by a different letter in columns are significantly different by Duncan test at $P \leq 0.05$)



شکل ٤- میانگین تعداد کل سلول‌های خونی، گرانولوسیت‌ها و پلاسماتوسیت‌های لارو *G. mellonella* بعد از تزریق عصاره *Punica granatum* (ستون‌های با حروف غیر مشابه بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار هستند)

Fig. 4- The mean number of ($\times 10^4$) total blood cells, granulocyte and plasmatocyte cells of *G. mellonella* after *Punica granatum* extract injection (Means followed by a different letter in columns are significantly different by Duncan test at $P \leq 0.05$)

نتایج این تحقیق نشان داد که هر دو عصاره گردو و انار در تمامی غلظت‌ها دارای اثرات دورکنندگی معنی‌داری روی لارو شب‌پره موم خوار می‌باشند (عصاره انار df=7, F=88, P<0.0001 و عصاره گردو df=8, F=2464.29, P<0.0001) که البته با توجه به زمان های مختلف میزان دورکنندگی نیز متفاوت می‌باشد و در واقع هرچه زمان طولانی‌تر شود، میزان دورکنندگی نیز افزایش می‌یابد (شکل ۱). نتایج این تحقیق با نتایج مطالعه Hamouda et al., 2014 در زمینه تاثیر عصاره پوست انار بر سوسک آرد(*Tribolium castaneum*) مطابقت دارد. همچنین در تحقیقی که بر روی اثرات حشره‌کشی عصاره برگ گردو روی شپشه برنج، *Sitophilus oryzae* انجام شد (Bennacer et al., 2025) نتایج بیانگر تاثیر معنی دار این عصاره روی آفت مذکور بود.

به طورکلی می‌توان گفت هر دو عصاره انار و گردو دارای سمیت تدخینی معنی‌داری هستند، اما میزان سمیت تدخینی عصاره گردو بسیار بیشتر از عصاره انار بود که شاید بتوان به نوع ترکیبات این گیاه نسبت داد. در واقع می‌توان گفت به علت بوی بسیار شدید این ترکیب، اثرگذاری آن بسیار زیاد است و به تلفات حداکثری در مدت زمان کوتاهی منجر می‌شود که این ویژگی نیز به عنوان عامل بسیار مهمی در کنترل آفات انباری می‌تواند مورد توجه قرار گیرد (شکل۲a). به علاوه لازم به ذکر است در بین تمامی ساعات و نیز بین تمامی غلظت‌ها و عصاره‌های به کار رفته تفاوت معنی‌داری وجود دارد. بهترین نتایج کشندگی مربوط به غلظت ۴۰۰ میکرولیتر عصاره گردو در ۴۸ ساعت پس از تیمارشدن و در غلظت۱۰۰۰ میکرولیتر از عصاره انار در ۷۲ ساعت پس از تیمار است (شکل۲). اکبری و همکاران (۲۰۲۱) در تحقیقی که به منظور کنترل شب‌پره هندی انجام دادند متوجه شدند که عصاره گیاه ریحان و پوست پسته دارای سمیت معنی‌داری روی حشره مورد نظر می‌باشد (Akbari et al., 2021)، نتایج تحقیقات فوق موید تاثیر اسانس‌های گیاهی در کنترل آفت است. بنابراین از عصاره انار و عصاره گردو نیز می‌توان در کنترل لارو شب پره موم خواراستفاده نمود.

نتایج حاصل از تزریق عصاره‌های گردو و انار به سطح شکمی لارو و شمارش تعداد پلاسموتوسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها و تعداد کل سلول‌های خونی نشان داد که تعداد کل سلول‌های خونی و پلاسموتوسیت‌ها پس از تزریق عصاره گردو و تعداد گرانولوسیت‌ها و تعداد کل سلول‌ها پس از تزریق عصاره انار با افزایش غلظت کاهش یافت. بنابراین نتایج بدست آمده شبیه نتایج تعدادی از محققان می‌باشد. برای مثال گزارشات مربوط به بررسی تأثیر اسانس پوست پسته روی سلول‌های خونی *شب پره هندی* نشان داد که با افزایش غلظت تعداد سلول‌های خونی کاهش می‌یابد (Akbari et al., 2021).

همچنین محققان، حشره بالغ سن گندم، *Eurygaster integriceps* را توسط غلظت‌های متفاوت *Artemisia annua* تیمار کردند و نتایج نشان داد که تعداد هر دو سلول پلاسماتوسیت و گرانولوسیت با افزایش غلظت *A. annua* کاهش می‌یابد (Zibaee and Bandani, 2010).

تأثیر عصاره برگ سه گیاه Eucalyptus globulus، Ageratus conizoides و Allium sativum نیز روی لارو Spodoptera litura توسط محققان بررسی شد و کاهش قابل ملاحظه‌ای در تعداد کل سلول‌های خونی با افزایش غلظت گزارش شد (Pandey et al., 2008). به علاوه کاهش در تعداد سلول های پلاسموتوسیت گردو در ۶ و ۱۲ ساعت پس از تیمار و سپس افزایش آن در ۲۴ ساعت پس از تیمار با نتایج عده‌ای از محققان مطابقت دارد.

بررسی تأثیر اسانس A. annua نیز روی سلول‌های خونی سوسک برگخوار نارون نشان داد که تیمارکردن با اسانس گیاه درمنه باعث کاهش شدید سلول‌های خونی در ۲۴ ساعت اول و افزایش تعداد سلول‌ها پس از ۴۸ ساعت از انجام آزمایش می شود (Kohan and Sendi, 2013).

آزمایشات تیمارکردن حشره Spodoptera litura توسط neemgold افزایش تعداد کل سلول‌های خونی را تا ۲۴ ساعت پس از تیمار و کاهش کل سلول‌های خونی را ۴۸ ساعت پس از تیمار ثبت کردند (Sharma et al., 2003). در بررسی تعداد پلاسموتوسیت‌های G. mellonella با عصاره انار مشاهده گردید که بین ۶ ساعت پس از تیمار کردن با سایر زمان‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد اما تفاوت میان غلظت‌ها بیشتر روی تعداد پلاسموتوسیت‌ها اثر گذاشته بود به گونه ای که به

صورت دقیق نمی توان گفت که با کاهش یا افزایش غلظت تعداد سلول‌ها چگونه تغییر کرده اند.

۳. نتیجه گیری

از تحقیق حاضر نتیجه گیری شد که بین تعداد سلول‌های خونی *G. mellonella* در زمان‌ها و عصاره‌های مختلف تفاوت‌هایی مشاهده می‌شود که می‌تواند ناشی از تفاوت در نوع سلول‌های خونی در سنین مختلف رشدی و فیزیولوژی در گونهٔ حشره یا نوع متابولیت‌های ثانویه عصاره‌های گیاهی باشد.

همچنین وجود عصاره‌های گیاهی در همولنف حشرات می‌تواند روی سیستم دفاعی آنها اثرگذار باشد و باعث تغییرات در تعداد کل سلول‌های خونی شود. کاهش در تعداد سلول‌های خونی *G. mellonella* می‌تواند مربوط به تشکیل گره و کپسول در اطراف ترکیب خارجی و همچنین تأثیر متابولیت‌های ثانویه عصاره های گیاهی باشد. اما افزایش تعداد سلول‌های خونی در برخی موارد به علت تحریک hemopoiesis ناشی از وجود عصاره‌های گیاهی در خون تلقی گردد. تغییرات در تعداد پلاسماتوسیت‌ها یا به علت از بین رفتن سلول‌های خونی می‌باشد یا به دلیل فعالیت‌های دفاع سلولی می‌تواند حادث شود بنابراین سلول‌های خونی که در شرایط آزمایشگاهی تحت تأثیر عصاره انار و گردو تیمار شدند به شکل گره یا به صورت تجمعی در آمدند. تغییرات در تعداد گرانولوسیت‌ها نشان دهنده‌ی عملکرد آنها در فعال شدن سیستم دفاع حشرات در مقابل اجسام خارجی می‌باشد.

References

Akbari, G., R. Sadeghi., Mirzaei, A. Jamshidnia and A. Ebadollahi. 2021. Toxicity and Enzymatic-Changes Efficiency of Pistachio Peel and Basil Essential Oils against *Plodia interpunctella* (Hűbner) Larvae. *Entomological News*, 130: 34-46.

Antonious, A. G., and G. Hegazy.1987. Feeding deterrent activities of certain botanical extracts against the cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (Boisd.) [Egypt]. *Annals of Agricultural Science,* 32: 1765-1778

Bennacer, A., Sahir-Halouane, F., Smaili, O. et al. 2025. Insecticidal and Histological Effects of Extracts from Leaves of *Juglans regia* L. Against *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) Isolated from Soft Wheat in Post-harvest. *International Journal of Environmental Research,* 19: 2.

Belmain, S.R., Neal, G.E., Ray, D.E., and P. Golob. 2001. Insecticidal and vertebrate toxicity associated with ethnoboanicals used as post-harvest protectants in Ghana. *Food and Chemical Toxicology,* 39: 287-291.

Blandin, S. A., and E. A. Levashina. 2007. Phagocytosis in mosquito immune responses. *Journal Immunological Reviews*, 219: 8-16.

Hamouda, A.B., Mechi, A., Chaieb, I., and A. Laarif. 2014. Insecticidal Activities of Fruit Peel Extracts of Pomegranate (*Punica granatum*) against the red flour beetle *Tribolium castaneum*. *Tunisian Journal of Plant Protection,* 9: 91-100.

Krstev, T.M., Jovanović, B., Jović, J., and B. Ilić. 2014. Antimicrobial, antioxidative, and insect repellent effects of Artemisia absinthium essential oil. *Planta MedIcine*, 80: 698-705.

Kohan, R., and J. J. Sendi. 2013. Immune responses of elm leaf beetle *Xanthogaleruca luteola* Mull. (Col: Chrysomellidae) to *Beaveria bassiana* and *Artemisia annua* essential oil. *Entomological Studies*, 2:16-25.

Pandey, J. P., R. K. Tiwari, and D. Kumar. 2008. Reduction in hemocyte mediated immune response in *Danais chrysippus* following treatment with neem- based insecticides. *Journal of Entomology,* 5: 200-206.

Sharma, P. R., O. P. Sharma, and B. P. Saxena. 2003. Effect of neem gold on hemocytes of the tobacco armyworm, *Spodoptera litura* (*fabricius*) (Lep.: Noctuidae). *Journal of Current Science*, 84: 690–695.

Talukder, F.A., and E. Howse. 1995. Evaluation of Aphanamixis polystachya as a source of repellents, antifeedants, toxicants and protectants in storage against *Tribolium castaneum. Journal of Stored Products Research,* 31: 55-61.

Zibaee, A., and A. R. Bandani. 2010. Effects of *Artemisia annua* L. (Asteracea) on the digestive enzymatic profiles and the cellular immune reactions of the Sunn pest, *Eurygasterintegriceps* (Heteroptera: Scutellaridae), against *Beauveria bassiana*. *Bulletin of Entomological*, Cambridge University Press. 1–12.