



Evaluation of contact toxicity and biological effects of Chinaberry extract on different developmental stages of tomato leaf miner (*Tuta absoluta*) under laboratory conditions

Fatemeh Rasoli¹ | Alireza Rezazadeh^{2*}

1. MS.c graduated student, Agricultural Entomology, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran.

* Corresponding Author Email: Rezazadeh@shahed.ac.ir

Article Info

Article type:
Research Article

Article history:
Received: 11/10/2024
Accepted: 05/12/2024

Keywords:

Extract,
contact toxicity,
chinaberry,
Tuta absoluta,
GC/MS

EXTENDED ABSTRACT

Introduction: The tomato leaf miner moth, *Tuta absoluta* (Povolny) (Lep.: Gelechiidae), is one of the most significant pests of tomato, posing a serious threat to tomato production in Iran. One of the main tools for managing this pest is the use of chemical insecticides; however, excessive reliance on chemical insecticides quickly leads to the development of resistance in the pest. The use of essential oils and plant extracts in pest control is a suitable method for reducing the environmental side effects of chemical insecticides.

Cite this article: Rasoli, Fatemeh; & Rezazadeh, Alireza (2024-25). Evaluation of contact toxicity and biological effects of Chinaberry extract on different developmental stages of tomato leaf miner (*Tuta absoluta*) under laboratory conditions. *Journal of Phytoalexins*, 1(2).



© The Author(s).

Publisher: Shahed University

Materials and Methods: The contact toxicity of bitter olive oil extract was evaluated on the egg, second instar larva, and pupa stages. The plant extract was obtained using hexane as a solvent. All experiments were conducted at a temperature of $27 \pm 2^\circ\text{C}$, relative humidity of $65 \pm 5\%$, and a photoperiod of 16 hours light and 8 hours dark. The chemical compounds of the extract were identified using a GC/MS device.

Results and Discussion: In the chinaberry extract, the major chemical constituents were methyl linoleate (69.375%), methyl oleate (17.231%), and methyl palmitate (7.361%). The



results showed that increasing the concentration of the extract led to higher mortality rates in the egg, second instar larva, and pupa stages of the pest. Probit analysis of the data revealed that the LC_{50} values of the bitter olive extract for the egg, second instar larva, and pupa stages were 948.93, 346.72, and 1.75 $\mu\text{L}/\text{mL}$, respectively.

Conclusion: The results indicated that this extract has high potential for controlling the tomato leaf miner moth (*Tuta absoluta*) in both open-field and greenhouse environments, and is recommended for protecting the environment and user health.

ارزیابی سمیت تماسی و اثرات زیستی عصاره زیتون تلخ بر مراحل مختلف رشد شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی (*Tuta absoluta*) در شرایط آزمایشگاهی

فاطمه رسولی^۱ | علیرضا رضا زاده^{۲*}

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد حشره‌شناسی کشاورزی، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

۲. استادیار گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

* ایمیل نویسنده مسئول: Rezazadeh@shahed.ac.ir

اطلاعات مقاله	چکیده
نوع مقاله: مقاله پژوهشی	شب‌پره مینوز برگ گوجه‌فرنگی، (<i>Tuta absoluta</i> Povolny (Lep.: Gelechiidae) یکی از مهمترین آفات گوجه‌فرنگی است که می‌تواند به عنوان یک تهدید جدی برای تولید گوجه‌فرنگی ایران محسوب شود. یکی از ابزارهای اصلی مدیریت این آفت استفاده از حشره‌کش‌های شیمیایی می‌باشد ولی اتکای بیش از حد به استفاده از حشره‌کش‌های شیمیایی به سرعت منجر به بروز مقاومت آفت به آفت‌کش‌ها می‌شود. استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی در کنترل آفت روشی مناسب برای کاهش اثر جانبی حشره‌کش‌های شیمیایی در محیط زیست می‌باشد. در این تحقیق، سمیت تماسی عصاره روغنی زیتون تلخ روی مراحل تخم، لارو سن دوم و شفیره مورد بررسی قرار گرفت. عصاره گیاه به وسیله حلال هگزان گرفته شد. کلیه آزمایش‌ها در دمای 27 ± 2 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 65 ± 5 درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شد. ترکیبات گیاهی عصاره فوق با استفاده از دستگاه GC/MS شناسایی شدند. در عصاره زیتون تلخ، ترکیباتی متیل لینولئات، متیل اولئات و متیل پالمئات به ترتیب با $69/375$ ، $17/231$ و $7/361$ درصد ترکیبات شیمیایی عمده بودند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت عصاره، مرگ‌ومیر تخم، لارو و شفیره آفت هم افزایش یافت. تجزیه و تحلیل پروبیت داده‌ها نشان داد میزان LC_{50} برای عصاره زیتون تلخ در مرحله تخم، لارو سن دوم و شفیره به ترتیب $948/93$ ، $346/72$ و $1/75$ میکرولیتر بر میلی‌لیتر به دست آمد. غلظت‌های زیرکشنده LC_{10} و LC_{25} این عصاره در مدت زمان ۲۴ ساعت اثر ضد تغذیه‌ای به جا گذاشت. نتایج حاصل نشان داد این عصاره پتانسیل بالایی برای کنترل شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی در محیط‌های باز و بسته دارد و برای حفاظت از محیط زیست و سلامت کاربران توصیه می‌شود.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۷/۲۰	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۹/۱۶	
واژه‌های کلیدی: عصاره، سمیت تماسی، زیتون تلخ، شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی، GC/MS	

استناد: رسولی، فاطمه؛ رضاراده، علیرضا؛ (۱۴۰۳). ارزیابی سمیت تماسی و اثرات زیستی عصاره زیتون تلخ بر مراحل مختلف رشد شب‌پره مینوز

گوجه‌فرنگی (*Tuta absoluta*) در شرایط آزمایشگاهی. دوفصلنامه گیاه‌پاد، ۱ (۲)، ۵۰-۳۷.



حق مؤلف © نویسنده‌گان.

ناشر: دانشگاه شاهد

مقدمه

شب‌پره مینوز برگ گوجه‌فرنگی، (*Tuta absoluta* (Meyrick)(Lep.: Gelechiidae) یکی از آفات کلیدی گوجه‌فرنگی و بومی بخش غربی آمریکای جنوبی است که حدود سال ۱۹۸۰ وارد برزیل شد (Souza and Reis, 1992). این آفت اکنون به عنوان یکی از مخرب‌ترین آفات گوجه‌فرنگی در آمریکای جنوبی، اروپا، آفریقا و آسیا شناخته می‌شود (Tropea Garzia et al., 2013; Zappalà et al., 2012).

این آفت در حال عبور از مرزها و تخریب تولید گوجه‌فرنگی در مزارع محافظت‌شده و فضای باز است (EPPO, 2008; FERA, 2009; 2009). در ایران، *Tuta absoluta* برای نخستین بار در آبان‌ماه سال ۱۳۹۰ در مزارع گوجه‌فرنگی فضای باز توسط سازمان حفظ نباتات ارومیه در استان آذربایجان غربی شناسایی شد (Baniameri and Cheraghian, 2012). این حشره در ایران به سرعت گسترش یافته و در حال حاضر به عنوان یکی از آفات کلیدی گوجه‌فرنگی در گلخانه‌ها و مزارع فضای باز شناخته می‌شود. خسارت ناشی از این آفت به دلیل تونل‌زنی لاروها است که می‌تواند به ساقه‌های جوان و میوه‌ها نفوذ کرده و در نهایت منجر به از دست رفتن بیش از ۸۰٪ محصول شوند (Desneux et al., 2011).

در دهه‌های اخیر، کنترل شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی (TLM) عمدتاً با استفاده از حشره‌کش‌های شیمیایی انجام شده است. ایمنی زیست‌محیطی حشره‌کش‌ها نخستین و مهم‌ترین معیار در برنامه‌های کنترل این آفت محسوب می‌شود (Tropea Garzia et al., 2012). در اغلب کشورهایی که مینوز گوجه‌فرنگی در آن‌ها وجود دارد، راهبرد اصلی کنترل شامل سم‌پاشی‌های مکرر با حشره‌کش‌های شیمیایی است، زیرا در صورت عدم کنترل، این آفت می‌تواند تا حدود ۱۰۰٪ کاهش عملکرد و افت شدید کیفیت میوه در مزارع فضای باز و گلخانه‌ای گوجه‌فرنگی ایجاد کند (Tropea Gilardón et al., 2001; Garzia et al., 2012). با این حال، به دلیل بروز مقاومت، کنترل شیمیایی حتی با استفاده از انواع مختلف آفت‌کش‌ها و افزایش دفعات مصرف، اثربخشی محدودی نشان داده است (Lietti et al., 2005; Siqueira et al., 2000). این موضوع به استفاده از راهبردهای غیرشیمیایی مانند بهره‌گیری از کنترل زیستی توسط دشمنان طبیعی بومی (Zappalà et al., 2013) و یا استفاده از مقاومت گیاهی با تأثیرات زیست‌محیطی کمتر منجر شده است (Gilardón et al., 2001). در سال‌های اخیر، استفاده از محصولات گیاهی دوستدار محیط‌زیست و قابل‌تجزیه با فعالیت حشره‌کشی طبیعی افزایش یافته است. برای کنترل آفات بدون آسیب به محیط‌زیست، محصولات طبیعی به عنوان منابع بالقوه حشره‌کش مورد بررسی قرار گرفته‌اند. مواد گیاهی با خواص حشره‌کشی از دیرباز در سراسر جهان برای نابودی حشرات استفاده شده‌اند. این مواد به دلیل سمیت پایین برای پستانداران خون‌گرم و فرار بودن بالا، به عنوان جایگزینی برای آفت‌کش‌های سنتی در نظر گرفته می‌شوند. حشره‌کش‌های گیاهی ممکن است برای محیط‌زیست ایمن‌تر از حشره‌کش‌های سنتزی باشند و معمولاً به راحتی توسط کشاورزان و صنایع کوچک فرآوری و استفاده می‌شوند (Belmain et al., 2001).

درخت *Melia azedarach* L. که با نام «زیتون تلخ هندی» نیز شناخته می‌شود، گونه‌ای زینتی از خانواده Meliaceae بومی آسیا است و در مناطق مختلفی از آمریکای شمالی تا جنوبی، شمال استرالیا، آفریقا و جنوب اروپا نیز رشد می‌کند (Phua et al., 2008). این درخت خزان‌پذیر و همیشه‌سبز با ارتفاعی بین ۳ تا ۱۰ متر، دارای گل‌های یاسی خوش‌بو در فصل‌های پاییز و بهار، برگ‌های سبز تیره و میوه‌هایی گرد است که ابتدا سبز بوده و در زمان رسیدن به رنگ زرد مایل به سبز درمی‌آیند (Botha and Penrith, 2009). این درخت در کشورهایی با اقلیم معتدل تا گرم کشت می‌شود و در آرژانتین به راحتی در خانه‌ها و پارک‌ها به عنوان درختی زینتی برای محافظت در برابر نور خورشید و باد یافت می‌شود.

درخت *M. azedarach* دارای خواص دارویی و سم‌شناسی است. ترکیب شیمیایی میوه‌های این گیاه شامل موادی مانند ملیانونینول، ملیانول، ملیانول، وانیلین و اسید وانیلیک می‌باشد (Han et al., 1991). ترکیبات سمی آن، تترانورتی‌ترین‌ها هستند که با نام ملیاتوکسین شناخته می‌شوند و در تمام بخش‌های گیاه وجود دارند، اما بیشترین غلظت آن‌ها در میوه‌های رسیده مشاهده می‌شود (Botha and Penrith, 2009). عصاره‌های آبی و الکلی تهیه‌شده از بخش‌های مختلف

این گیاه دارای خواص ضد باکتری (Sen and Batra, 2012)، ضد انگل (Szewczuk et al., 2003)، ضد قارچ (Carpinella et al., 2003)، ضد ویروس (Alche et al., 2003) و آنتی‌اکسیدان (Marimuthu et al., 2013) هستند. همچنین، فعالیت حشره‌کشی این گیاه نیز مورد بررسی قرار گرفته است. Carpinella و همکاران (۲۰۰۳) بیان کرده‌اند که این خاصیت به اثر ضد تغذیه‌ای تری‌ترپنوئیدها مربوط می‌شود که توانایی تغذیه را در حشرات گیاه‌خوار کاهش داده و به مرگ و بروز ناهنجاری در نسل‌های بعدی منجر می‌شود. عصاره‌های گیاهی تهیه‌شده از برگ‌ها یا میوه‌های این گیاه روی آفات مختلفی مانند شپشک لوبیا (Mazzonetto and Vendramim, 2003)، پشه‌ها (Pérez-Pacheco et al., 2004؛ Parra Henao et al., 2007) و شب‌پره‌ها آزمایش شده‌اند. اطلاعاتی نیز درباره خواص دورکنندگی و حشره‌کشی این گیاه روی *T. infestans* وجود دارد، اما داده‌های به‌روز در دسترس نیست.

هدف این پژوهش ارائه نتایج آزمایش‌هایی است که با عصاره هگزانی تهیه‌شده از میوه‌های گیاه *M. azedarach* (زیتون تلخ هندی) انجام شده‌اند، با تمرکز بر توانایی حشره‌کشی این عصاره در مراحل مختلف رشد آفت *T. absoluta*، به‌منظور ارائه جایگزینی اقتصادی و قابل اجرا در کنار آفت‌کش‌های سنتی در مدیریت تلفیقی آفات است.

۱. مواد و روش‌ها

۱-۱. تهیه مواد گیاهی و عصاره

میوه‌های سبز درخت *Melia azedarach* L. از درختان بالغ (بیش از ۱۵ ساله) واقع در پردیس دانشگاه شاهد، دانشکده کشاورزی، مطابق با روش شرح داده‌شده توسط Chiffelle et al., (2019) جمع‌آوری شدند. مقدار ۳ کیلوگرم از میوه‌ها با روش خشک‌کردن در سایه خشک شدند و سپس با آسیاب مکانیکی پودر شدند. پودر حاصل در ارلن مایر ۵۰۰ میلی‌لیتری ریخته شد و حجم آن با حلال هگزان (Merck, Germany) تا ۱۰۰ میلی‌لیتر افزایش یافت. سپس محلول با همزن مغناطیسی در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت یک ساعت و سپس در دمای محیط تا تکمیل ۲۴ ساعت هم زده شد. پس از آن، ظرف با فویل و پارافیلیم کاملاً پوشانده شده و در یخچال قرار گرفت. پس از یک روز، مخلوط همگن‌شده از طریق کاغذ صافی واتمن شماره ۱ صاف شد و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ g × سانتریفیوژ شد تا سوپرناتانت (عصاره) به‌دست آید. پس از یک ساعت، محلول باقی‌مانده مجدداً صاف شد و درون پتری‌دیش زیر هود به مدت ۳ تا ۷ ساعت قرار گرفت تا حلال هگزان کاملاً تبخیر شود و در نهایت عصاره خالص به‌دست آمد.

برای تعیین غلظت‌ها، آزمایش‌های مقدماتی انجام شد و پنج غلظت اولیه انتخاب گردید. این غلظت‌ها به‌عنوان حدود بالایی و پایینی در نظر گرفته شدند که انتظار می‌رفت منجر به مرگ‌ومیر بین ۵ تا ۹۵ درصد شوند. سپس غلظت‌های مختلفی از عصاره با استفاده از فواصل لگاریتمی بین غلظت‌های حداقل و حداکثر تهیه شد و آزمایش‌های اصلی انجام گرفت.

۱-۲. پرورش مینوز گوجه فرنگی

برگ‌های گوجه‌فرنگی یا بخش‌هایی از برگ که دارای لارو بودند، از گلخانه‌های آلوده به آفت در مناطق کرج، پاکدشت و ورامین جمع‌آوری شدند. پس از ظهور حشرات بالغ، شب‌پره‌های *T. absoluta* با استفاده از مکنده جمع‌آوری شده و درون ظرف پلی‌استری شفاف حاوی برگ تازه و جداشده گوجه‌فرنگی قرار گرفتند؛ انتهای بریده‌شده برگ درون ظرف استریل (۴ × ۱ سانتی‌متر) حاوی آب قرار داده شد. حشرات در اتاقک پرورش در دمای ۲۷±۲ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۶۵±۵ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. به حشرات آب و منبع انرژی (محلول ۱۰ درصد ساکارز) داده شد و به آن‌ها اجازه داده شد به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت تخم‌گذاری کنند. در صورت مشاهده تعداد کافی تخم، برگ‌های آلوده درون قفس پرورش حشره قرار داده شدند تا لاروها تا مرحله دوم رشد کنند. همچنین، برگ‌های آلوده به‌طور ملایم روی گیاه گوجه‌فرنگی گلدانی قرار داده شدند تا تغذیه کافی برای لاروها فراهم شود. لاروهای سن دوم، تخم‌ها و

شفیره‌ها برای آزمایش‌های زیستی مورد استفاده قرار گرفتند.

۱-۳. سمیت تماسی عصاره بر مراحل رشدی مینوز گوجه فرنگی

برای بررسی سمیت تماسی عصاره زیتون تلخ، مراحل تخم، لارو سن دوم و شفیره آفت مورد استفاده قرار گرفتند. برای تعیین LC₅₀ در مرحله تخم، پنج غلظت (۶۰، ۱۴۴، ۵۲۴، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر) انتخاب شد و هر غلظت در سه تکرار و در هر تکرار ۲۰ عدد تخم ۲۴ ساعته مورد آزمایش قرار گرفت. با استفاده از سمپلر، مقدار مورد نیاز عصاره روی کاغذ صافی (واتمن شماره ۴۲) ریخته شد، سپس کاغذها در شرایط آزمایشگاهی خشک شدند و به‌صورت جداگانه درون پتری‌دیش‌هایی با قطر ۸ سانتی‌متر قرار گرفتند که درب آن‌ها با پارافیلیم بسته شده بود. برای تیمار شاهد از آب مقطر استفاده شد. پتری‌دیش‌های تیمار شده درون ژرمیناتور با دمای ۲۷±۲ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۶۵±۵ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند. مرگ‌ومیر و تفریح تخم‌ها پس از ۲۴ ساعت و تا ۵-۷ روز با استفاده از بینوکولر بررسی شد.

برای تعیین LC₅₀ در مرحله لارو سن دوم، شش غلظت (۶۰، ۱۲۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر) مورد استفاده قرار گرفت و هر غلظت در سه تکرار و در هر تکرار ۱۰ عدد لارو سن دوم هم‌سن آزمایش شد. پس از آماده‌سازی غلظت‌های مورد نظر با استفاده از سمپلر، روش غوطه‌وری برگ برای بررسی سمیت عصاره بر لاروها به کار گرفته شد. برای این منظور، دیسک‌های برگ گوجه‌فرنگی (با قطر ۸ سانتی‌متر) به مدت ۱۰ ثانیه در ۵۰ میکرولیتر از غلظت‌های مختلف عصاره غوطه‌ور شدند. سپس دیسک‌های برگ در شرایط آزمایشگاهی خشک شده و به‌صورت جداگانه به پتری‌دیش‌هایی منتقل شدند که کف آن‌ها با کاغذ صافی مرطوب‌شده با آب مقطر پوشانده شده بود. سپس ۱۰ عدد لارو سن دوم هم‌سن روی هر دیسک برگ درون پتری‌دیش قرار داده شدند و درب پتری‌دیش‌ها با پارافیلیم بسته شد تا از فرار لاروها جلوگیری شود. برای تیمار شاهد از آب مقطر استفاده شد. پتری‌دیش‌های تیمار شده درون ژرمیناتور با دمای ۲۷±۲ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۶۵±۵ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند. مرگ‌ومیر لاروها در زمان‌های ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از تیمار ثبت شد (Kim et al., 2002). سپس بر اساس تعداد حشرات مرده، درصد تلفات برای هر غلظت محاسبه گردید.

برای تعیین LC₅₀ در مرحله شفیرگی، شفیره‌های هم‌سن برای انجام آزمایش مورد نیاز بودند. برای دستیابی به شفیره‌ها، برگ‌های حاوی لاروهای سن آخر آفت جمع‌آوری شده و در ظروف پلاستیکی با درپوش توری قرار داده شدند تا فرآیند شفیره‌سازی انجام شود. شفیره‌های حاصل به مدت ۲۰ ثانیه در محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف عصاره (۶۰، ۱۲۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ میکرولیتر بر میلی‌لیتر) یا آب مقطر (تیمار شاهد) غوطه‌ور شدند. برای هر غلظت، بین ۱۵ تا ۲۰ شفیره در هر تکرار در نظر گرفته شد. پس از خشک شدن، شفیره‌ها به پتری‌دیش منتقل شده و تا زمان خروج حشرات نگهداری شدند (Park et al., 2002). این آزمایش برای هر غلظت در سه تکرار انجام شد. پتری‌دیش‌های تیمار شده درون ژرمیناتور با دمای ۲۷±۲ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۶۵±۵ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند. سپس بر اساس تعداد شفیره‌های تلف‌شده، درصد مرگ‌ومیر برای هر غلظت محاسبه گردید.

۱-۴. تجزیه و تحلیل آماری

تمام آزمایش‌ها بر اساس طرح کاملاً تصادفی انجام شدند. داده‌های حاصل از آزمایش‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس (ANOVA) و نرم‌افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. پس از تحلیل واریانس، در صورتی که تفاوت‌ها معنی‌دار بودند، برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی استفاده شد. مقادیر LC₁₀، LC₂₅، LC₅₀ و LC₉₀ همراه با حدود اطمینان ۹۵٪ (FL) با استفاده از تحلیل پروبیت محاسبه گردید (SAS Institute, 2004).

۲. نتایج

۱-۲. ترکیب شیمیایی عصاره

ترکیب شیمیایی میوه درخت زیتون تلخ، *M. azedarach* بر اساس آنالیز ترکیبی با استفاده از دستگاه کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنجی جرمی (GC-MS) در جدول ۱ خلاصه شده است. در مجموع ۱۳ ترکیب توسط GC-MS شناسایی شد که ۱۰۰٪ عصاره را تشکیل می‌دهند. سه ترکیب از آن‌ها در مجموع ۹۴ درصد ترکیب را تشکیل می‌دهند. ترکیبات اصلی شناخته شده شامل ۹،۱۲-*octadecadienoic acid (Z,Z)-*، methyl ester (C19H34O2)، ۶۹/۳۷۵٪، ۹-*octadecenoic acid (Z)-*، methyl ester (C19H36O2)، ۱۷/۲۳۱٪، methyl ester (C17H34O2) و hexadecanoic acid می‌شوند (جدول ۱).

جدول ۱. ترکیبات فیتوشیمیایی موجود در عصاره هگزانی میوه‌های تازه درخت زیتون تلخ (*Melia azedarach*) شناسایی شده توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی-طیف‌سنجی جرمی (GC-MS)

Table 1. Phytochemical compounds in the hexane extract of the fresh fruits from the chinaberry tree, *Melia azedarach* identified by gas chromatography-mass spectrometry.

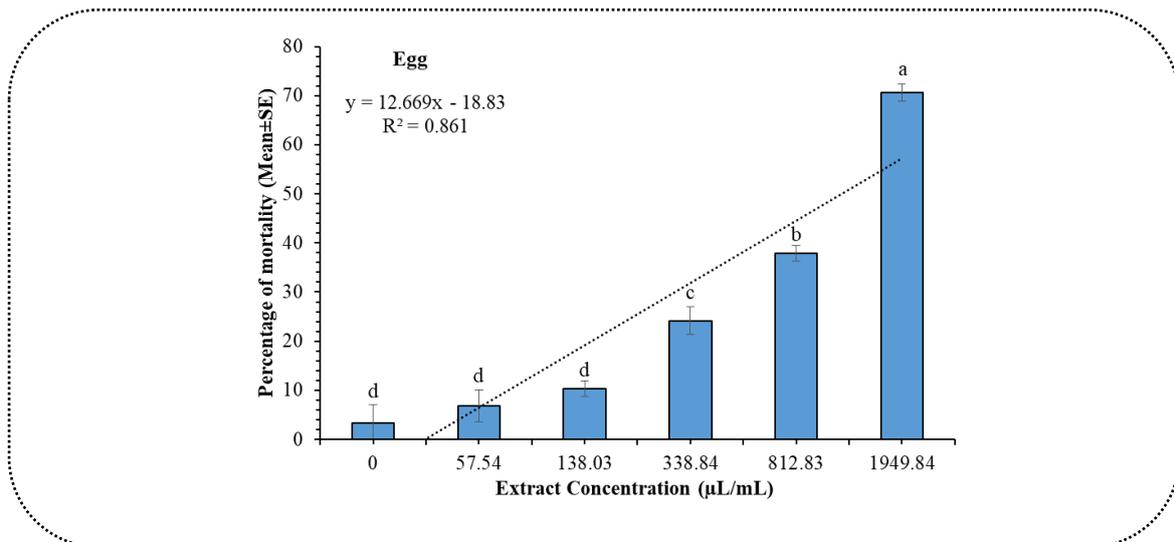
Sr.no.	Retention Time (min)	Formula	Phytochemical compound	Composition %
1	3.773	C ₉ H ₂₀	Hexane, 2,3,4-trimethyl-	0.102%
2	6.933	C ₁₀ H ₂₂	Decane	0.460%
3	14.337	C ₁₂ H ₂₆	Dodecane	0.741%
4	16.435	C ₁₀ H ₁₆	3-Octen-5-yne, 2,7-dimethyl-, (Z)-	0.083%
5	22.677	C ₁₁ H ₂₄	Undecane	0.299%
6	30.549	C ₆ H ₁₄	Butane, 2,2-dimethyl-	0.095%
7	42.002	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	Hexadecanoic acid, methyl ester	7.361%
8	47.378	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester	69.375
9	47.503	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester	17.231%
10	47.589	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	11-Octadecenoic acid, methyl ester	0.603%
11	48.205	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	Octadecanoic acid, methyl ester	3.189%
12	53.151	C ₁₄ H ₂₆ O ₂	E-9-Tetradecenoic acid	0.356%
13	53.9	C ₈ H ₁₆ O	2,2-Dimethyl-5-hexen-3-ol	0.107%

۲-۲. سمیت تماسی عصاره بر مراحل رشدی *T. absoluta*

الف- مرحله تخم

نتایج آزمایش مرحله تخم نشان داد که کاربرد عصاره *M. azedarach* به‌طور معنی‌داری باعث افزایش تعداد تخم‌های مرده مینوز شد ($P < 0.01$; $df = 5$; $F = 97.69$). همچنین نتایج نشان داد که میانگین مرگ‌ومیر تخم‌ها در مقایسه با تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۱). مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی نشان داد که تیمار شاهد با ۳/۳٪ کمترین میزان مرگ‌ومیر تخم‌ها را داشت ($\alpha = 0.05$). با این حال، در دو سطح اولیه غلظت (۵۷/۵۴ و ۱۳۸/۰۳ میکرولیتر بر میلی‌لیتر)، میزان مرگ‌ومیر (به ترتیب ۶/۸ و ۱۰/۳٪) تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد نشان نداد ($\alpha = 0.05$). مرگ‌ومیر تخم‌ها در سطح چهارم

۲۳۸/۸۴ میکرولیتر بر میلی‌لیتر) و پنجم (۸۱۲/۸۳ میکرولیتر بر میلی‌لیتر) غلظت به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و به‌ترتیب به ۲۴/۱۲ و ۳۷/۸۹٪ رسید. سپس با رشد ۳۲٪، بیشترین میزان مرگ‌ومیر (۷۰/۶۱٪) در بالاترین غلظت تیمار مشاهده شد، جایی که تخم‌ها در معرض ۱۹۴۹/۸۴ میکرولیتر بر میلی‌لیتر از عصاره زیتون تلخ قرار گرفتند (شکل ۱). تحلیل رابطه بین غلظت‌های اعمال‌شده عصاره و میانگین مرگ‌ومیر تخم‌ها نشان داد که همبستگی خطی بسیار معنی‌داری وجود دارد (شکل ۱) ($P < 0.001$).



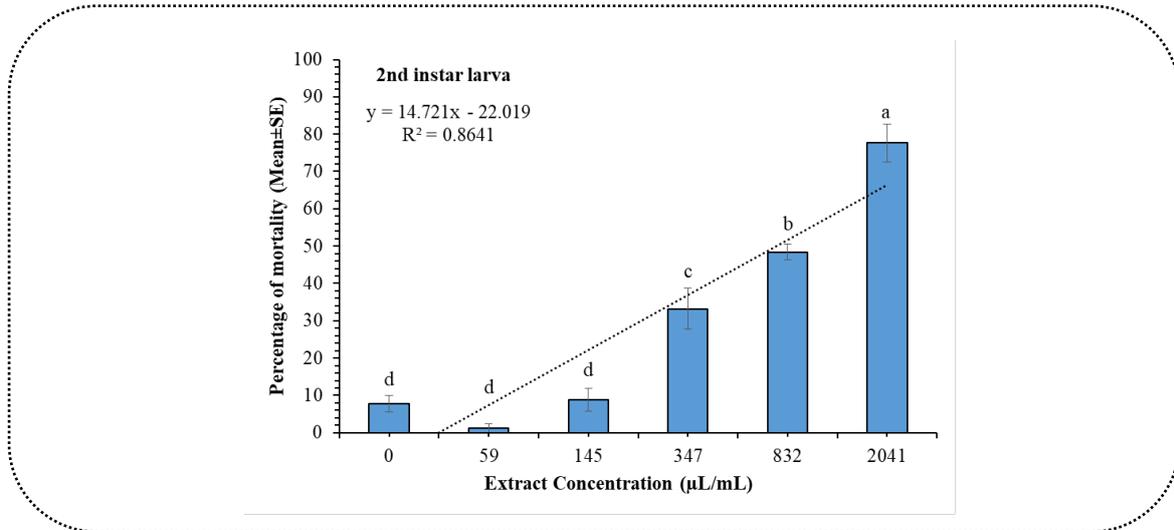
شکل ۱- مرگ‌ومیر مرحله تخم شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی (*Tuta absoluta*) در اثر مواجهه با عصاره هگزانی *Melia azedarach* در غلظت‌های مختلف. حروف متفاوت روی ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار آماری هستند.

Fig. 1- Mortality of egg stage of the tomato leaf miner, *Tuta absoluta* exposed to *Melia azedarach* hexane extract in different concentrations. Different letters on the bar show significant difference.

ب- مرحله لارو سن دوم

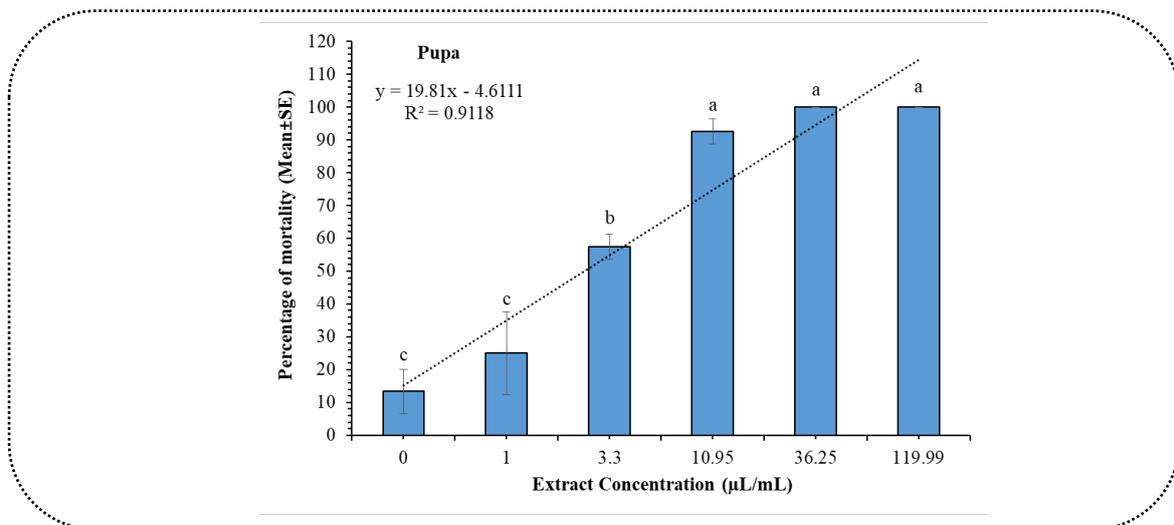
نتایج آزمایش مربوط به لاروهای سن دوم نشان داد که کاربرد عصاره *M. azedarach* به‌طور معنی‌داری باعث افزایش تعداد لاروهای مرده *T. absoluta* شد ($P < 0.01$; $df=5$; $F=113.23$). همچنین نتایج نشان داد که میانگین مرگ‌ومیر لاروها در مقایسه با تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۲). مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی نشان داد که در سه سطح اولیه غلظت شامل شاهد، ۵۹ و ۱۴۵ میکرولیتر بر میلی‌لیتر، به‌ترتیب با ۱/۲۳٪، ۷/۷۸٪ و ۸/۸۰٪، کمترین میزان مرگ‌ومیر لاروها مشاهده شد و تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. میزان مرگ‌ومیر در سطح چهارم (۳۴۷ میکرولیتر بر میلی‌لیتر) و پنجم (۸۳۲ میکرولیتر بر میلی‌لیتر) غلظت به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و به‌ترتیب به ۳۳/۱۸٪ و ۴۸/۴۰٪ رسید. سپس با رشد ۲۹٪، بیشترین میزان مرگ‌ومیر لاروها (۷۷/۶۵٪) در بالاترین غلظت تیمار مشاهده شد، جایی که لاروهای سن دوم در معرض ۲۰۴۱ میکرولیتر بر میلی‌لیتر از عصاره *M. azedarach* قرار گرفتند (شکل ۲).

تحلیل رابطه بین غلظت‌های اعمال‌شده عصاره *M. azedarach* و میانگین مرگ‌ومیر لاروهای سن دوم نشان داد که همبستگی خطی بسیار معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.001$) (شکل ۲). همچنین در این مرحله، اثر زمان‌های مختلف (۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) بر میزان مرگ‌ومیر میانگین لاروهای سن دوم *T. absoluta* در اثر عصاره زیتون تلخ مورد ارزیابی قرار گرفت. در ۲۴ ساعت، میزان مرگ‌ومیر ۲۱/۶۷٪، در ۴۸ ساعت ۲۹/۴۴٪ و در ۷۲ ساعت ۳۷/۴۱٪ رسید که با رشد ۷/۹۷٪ تفاوت معنی‌داری بین سه سطح زمانی مشاهده شد ($P < 0.01$; $df=2$; $F=15.98$). اما تعامل دو عامل غلظت و زمان معنی‌دار نبود ($P > 0.05$; $df=10$; $F=1.09$).



شکل ۲- مرگ و میر مرحله لارو سن دوم شب پره مینوز گوجه فرنگی (*Tuta absoluta*) در اثر مواجهه با عصاره هگزانی *Melia azedarach* در غلظت‌های مختلف. حروف متفاوت روی ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار آماری هستند.

Fig. 2- Mortality of 2nd larval instar of the tomato leaf miner, *Tuta absoluta* exposed to *Melia azedarach* hexane extract in different concentrations. Different letters on the bar show significant difference.



شکل ۳- مرگ و میر مرحله شفیرگی شب پره مینوز گوجه فرنگی (*Tuta absoluta*) در اثر مواجهه با عصاره هگزانی *Melia azedarach* در غلظت‌های مختلف. حروف متفاوت روی ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار آماری هستند.

Fig. 3- Mortality of pupal stage of the tomato leaf miner, *Tuta absoluta* exposed to *Melia azedarach* hexane extract in different concentrations. Different letters on the bar show significant difference.

ج- مرحله شفیرگی

نتایج آزمایش مرحله شفیرگی نشان داد که کاربرد عصاره *M. azedarach* به‌طور معنی‌داری باعث افزایش تعداد شفیره‌های مرده *T. absoluta* شد ($F=39.32$; $df=5$; $P<0.01$). همچنین نتایج نشان داد که میانگین مرگ و میر شفیره‌ها در مقایسه با تیمار شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۳). مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی نشان داد که تیمار شاهد

با ۱۳/۳۳٪ و غلظت ۱ میکرولیتر بر میلی لیتر با ۲۵٪ مرگومیر تفاوت معنی داری با یکدیگر نداشتند. میزان مرگومیر شفیره‌ها در سطح دوم غلظت (۳/۳ میکرولیتر بر میلی لیتر) به‌طور معنی داری افزایش یافت و به ۵۷/۵٪ رسید. سپس با رشد ۳۸٪ در سطوح سوم (۱۰/۹۵ میکرولیتر بر میلی لیتر)، چهارم (۳۶/۲۵ میکرولیتر بر میلی لیتر) و پنجم (۱۱۹/۹۹ میکرولیتر بر میلی لیتر)، میزان مرگومیر به ترتیب به ۹۵/۵٪، ۱۰۰٪ و ۱۰۰٪ رسید که تفاوت معنی داری بین این سه سطح مشاهده نشد (شکل ۳). تحلیل رابطه بین غلظت‌های اعمال شده عصاره *M. azedarach* و میانگین مرگومیر شفیره‌ها نشان داد که همبستگی خطی بسیار معنی داری وجود دارد ($P < 0.001$) (شکل ۳).

۳-۲. نتایج زیست‌سنجی LC₁₀، LC₂₀، LC₅₀ و LC₉₀ عصاره *M. azedarach* در مراحل رشدی

فعالیت حشره‌کشی عصاره هگزانی *M. azedarach* مورد بررسی قرار گرفت. این عصاره دارای فعالیت حشره‌کشی قابل توجهی بود و نتایج آن در جدول ۲ ارائه شده است. مرگومیر تخم، لارو و شفیره در برابر آفت مینوز برگ گوجه‌فرنگی (*T. absoluta*) مشاهده شد. فعالیت تخم‌کشی با $LC_{50} = 948/93$ میکرولیتر بر میلی لیتر و $LC_{90} = 10353/6$ میکرولیتر بر میلی لیتر، فعالیت لاروکشی با $LC_{50} = 346/72$ میکرولیتر بر میلی لیتر و $LC_{90} = 3581/91$ میکرولیتر بر میلی لیتر، و فعالیت شفیره‌کشی با $LC_{50} = 1/75$ میکرولیتر بر میلی لیتر و $LC_{90} = 8/8$ میکرولیتر بر میلی لیتر پس از دوره‌های مواجهه به ترتیب ۷ روز، ۷۲ ساعت و ۷ روز به دست آمد. همچنین، مقدار χ^2 در جدول پروبیت نشان‌دهنده برازش مناسب داده‌ها بود. این تفاوت در LC₅₀ مراحل مختلف نشان‌دهنده تفاوت در حساسیت مراحل رشدی مختلف آفت است (جدول ۲).

جدول ۲. مقادیر LC₅₀ و LC₉₀ عصاره هگزانی میوه‌های تازه درخت زیتون تلخ (*Melia azedarach*) علیه مراحل

مختلف رشدی آفت مینوز برگ گوجه‌فرنگی (*Tuta absoluta*)

Table 2. LC₅₀ and LC₉₀ values of the hexane extract of the fresh fruits from the chinaberry tree, *Melia azedarach* against different stages of the tomato leaf miner, *T. absoluta*.

Stage	n	LC ₅₀ [*] (μL/mL)	LC ₉₀ [*] (μL/mL)	slope ± SE	Df	χ ²
Egg	300	948.93 (690.02–1452.09)	10353.6 (5156.7–32514.5)	0.54 ± 0.07	3	3.664
2 nd larval instars	180	7.876 (7.138 – 8.635)	10.271 (9.196 – 13.737)	2.891 ± 11.114	3	0.221
Pupa	180	1.865 (1.566 – 2.165)	2.839 (2.394 – 4.160)	1.684 ± 7.028	3	0.412

Note: n= number of insect; χ² = chi-square; df = degree of freedom; * = Fiducial limits

۴-۲. اثر ضد تغذیه‌ای عصاره

نتایج حاصل از آزمون ANOVA در این آزمایش نشان داد که بین غلظت‌های زیرکشدگی LC₁₀ و LC₂₅ تفاوت معنی داری وجود ندارد ($P > 0.05$) (جدول ۳). با این حال، این غلظت‌ها تفاوت معنی داری با تیمار شاهد دارند و در واقع موجب کاهش تغذیه لاروهای سن دوم *T. absoluta* می‌شوند (جدول ۳). زمانی که مقادیر بیش از یک‌بار تکرار شوند، گفته می‌شود همگرایی یا رابطه‌ای بین داده‌ها وجود دارد. پس از همگرایی داده‌ها، آماره آزمون کروسکال-والیس به دو روش محاسبه می‌شود: با اصلاح برای داده‌های تکراری و بدون اصلاح. مقادیر P اصلاح‌شده معمولاً دقیق‌تر از مقادیر P بدون اصلاح هستند، و اگر رابطه‌ای بین داده‌ها وجود نداشته باشد، این دو مقدار P برابر خواهند بود.

جدول ۳. نتایج آزمون ناپارامتری کروسکال-والیس برای ارزیابی اثرات ضد تغذیه‌ای عصاره *Melia azedarach* بر لاروهای سن دوم آفت مینوز برگ گوجه‌فرنگی (*Tuta absoluta*).

Table 3. Results of Kruskal-Wallis nonparametric test to evaluate the anti-nutritional effects of *Melia azedarach* extract on 2nd instar larvae of the tomato leaf miner, *T. absoluta*.

Concentration	N	Midian	Average rating	Z-Value
Control=0	3	0	2.0	-2.32
LC ₁₀ =524	3	1	6.5	1.16
LC ₁₀ =800	3	1	6.5	1.16
Total	9		5.0	

Kruskal-Wallis	df	H-Value	P-Value
Not corrected	2	5.40 ^{n.s}	0.067
Corrected	2	8.00 [*]	0.018

Hypothesis Zero (H₀): All medians are equal, Alternative Hypothesis (H₁): At least one median is different; * Significant at the probability level of 0.05 and n.s not significant

۳. بحث

عصاره درخت زیتون تلخ (*M. azedarach*) شامل ۱۳ ترکیب بود که بر اساس نتایج دستگاه GC-MS شناسایی شدند. این ترکیبات شامل 9-octadecenoic acid (Z)-, methyl ester، 9,12-octadecadienoic acid (Z,Z)-, methyl ester، hexadecanoic acid, methyl ester بودند که بیشترین مقدار استخراج را داشتند. زیتون تلخ در کنترل آفات مؤثر بوده و به دلیل محتوای غنی از لیمونوئیدها، از جمله ترکیبات فنولی، دارای خواص حشره‌کشی اثبات‌شده‌ای است (Chung Huang et al., 1996). مطالعه‌ای دیگر نشان داد که متیل پالمیتات (۱۸.۸٪)، متیل لینالانات (۱۶.۱٪) و متیل لینولات (۹.۸٪) از ترکیبات اصلی عصاره هگزانی میوه *M. azedarach* هستند که از منطقه گلستان ایران گزارش شده‌اند (Hadjiakhoondi et al., 2006). نوع حلال تأثیر قابل‌توجهی بر جداسازی ترکیبات دارد و منجر به تفاوت در انواع ترکیبات شناسایی شده می‌شود. میوه‌های این گیاه عمدتاً حاوی تری‌ترپنوئیدها و ترکیباتی از اسیدهای مختلف هستند (Deepika and Yash, 2013) که در مطالعه حاضر نیز تأیید شد. این ترکیبات دارای خواص حشره‌کشی بوده و می‌توانند از رشد، دگرذیسی و تغذیه حشرات جلوگیری کنند (Corpinella et al., 2007).

نتایج نشان داد که اثر عصاره *M. azedarach* بر شفیره‌ها قوی‌تر از اثر آن بر تخم‌ها و لاروهای سن دوم بود. مقدار LC₅₀ در مرحله شفیرگی برابر با ۱/۷۵ میکرولیتر بر میلی‌لیتر بود که بسیار کمتر از مقدار LC₅₀ در مرحله تخم (۹۴۸/۹۳ میکرولیتر بر میلی‌لیتر) و مرحله لاروی سن دوم (۳۴۶/۷۲ میکرولیتر بر میلی‌لیتر) بود، که نشان‌دهنده حساسیت بیشتر این مرحله نسبت به دو مرحله دیگر است. در مقایسه با لاروهای که با عصاره تماس دارند و توانایی انتخاب و ترک محیط آلوده را دارند، مرحله شفیرگی پیچیده‌تر است زیرا با یک لایه غشای شفیرگی پوشیده شده و غیر متحرک است. وجود کوریون در مرحله تخم با نفوذپذیری بسیار کمتر نسبت به دو مرحله دیگر همراه بود. این عصاره بالاترین میزان مرگ‌ومیر را در لاروهای پروانه سفید کلم (*Pieris brassicae* L.) نسبت به سایر عصاره‌ها نشان داد (Ali et al., 2017). اثربخشی عصاره آبی با غلظت ۲/۵٪ نشان داد که این عصاره می‌تواند تا ۲۸/۶٪ مرگ‌ومیر لاروی را پس از ۲۴ ساعت در حشرات مختلف ایجاد کند (Sharma and Gupta, 2009; Senthil Nathan et al., 2006; Jazzari and Abou-Fakhar Hammad, 2003). در مطالعه‌ای پیشین، عصاره آبی *M. azedarach* برای تیمار *T. absoluta* و سایر شفیره‌های بالپولکداران استفاده شد که

منجر به افزایش دوره رشد و کاهش بقاء در مقایسه با تیمار شاهد گردید (Nathan, 2006؛ Brunherotto et al., 2010؛ Abou-Fakhr Hammad et al., 2019).

این عصاره همچنین باعث کاهش وزن شفیره‌های نر در مقایسه با تیمار شاهد شد، اما تأثیری بر وزن شفیره‌های ماده نداشت. مقایسه داده‌های مربوط به لاروها و شفیره‌ها نشان داد که مقادیر بسیار مشابهی به دست آمد که نتیجه‌ای غیرمعمول محسوب می‌شود. طبق گزارش Rodríguez and Vendramim (1998)، اثر حشره‌کش‌ها بر حشرات در مرحله لاروی بیشتر از مرحله شفیرگی است، زیرا در این مرحله حشره ماده شیمیایی را مصرف می‌کند (Brunherotto and Vendramin, 2001). بر اساس نتایج این مطالعه، Abou-Fakhr Hammad et al., 2019 نیز اثرات کشندگی قابل توجهی از عصاره زیتون تلخ بر مینوز گوجه فرنگی گزارش کردند. پیشنهاد شده است که کشندگی این عصاره به دلیل اثرات سیستمیک آن است که منجر به نفوذ به تخم و مرگ‌ومیر می‌شود. علاوه بر این، Abou-Fakhr Hammad et al., 2019 نشان دادند که اثرات کشندگی *M. azedarach* بر *T. absoluta* با اثرات گیاه چریش (Neem) قابل مقایسه است.

نتایج این مطالعه نشان داد که غلظت عصاره *M. azedarach* به‌طور معنی‌داری تغذیه لاروهای سن دوم مینوز گوجه فرنگی را مهار کرد. در مطالعه‌ای دیگر، مواد شیمیایی (سیمارین، دیجیتوکسین، زانتوتوکسین، توزندانین و تیمول) و عصاره‌های گیاهی (*Melia volkensii* و *Origanum vulgare*) برای بررسی حضور آفت برگ‌خوار کلم (*Trichoplusia ni*) (Hübner) در تمام گروه‌های سنی، در پاسخ ضد تغذیه‌ای بلندمدت به این مواد آزمایش شدند. دوزهای بالای برخی داروهای ضد فشار خون به‌عنوان محرک‌های مضر تولید زانتوتوکسین عمل کرده و کاهش سوءتغذیه در *M. volkensii* را معکوس کردند (Akhtar and Isman, 2003). مطالعات زیادی گزارش کرده‌اند که تری‌ترپنوئیدهای موجود در دانه‌های *M. azedarach* دارای خاصیت مهارکننده تغذیه قوی بوده و در کنترل آفات مانند سوسک آرد مؤثر هستند (Hashim, 2012؛ Isman et al., 1997).

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره زیتون تلخ می‌تواند برای محافظت از محصولات کشاورزی در برابر خسارت شدید ناشی از تغذیه لاروهای مینوز گوجه فرنگی مورد استفاده قرار گیرد. از آنجا که این گیاه به راحتی قابل کشت بوده و به‌طور گسترده‌ای در دسترس است، تأمین منابع آن مشکلی ندارد و عصاره خام زیتون تلخ می‌تواند به‌عنوان یک محصول محافظت از گیاهان برای کاربرد موضعی در ایران و بسیاری از نقاط دیگر جهان مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاری و مساعدت مالی دانشگاه شاهد و همچنین آزمایشگاه حشره‌شناسی دانشکده کشاورزی بخاطر فراهم نمودن امکانات لازم، تقدیر و تشکر می‌گردد.

References

- Abou-Fakhr Hammad, E., Abbass, A., Abbass, M., Mohamad Haidar, Z., El-Chemali, J., Abou Jawdeh, Y. and Ibrahim, L. 2019. Bioactivity of Indigenous *Melia azedarach* Extracts against the Tomato Leafminer, *Tuta absoluta*. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 9: 8–25.
- Alche, L.E., Assad, F.K., Meo, M., Coto, C.E. and Maier, M.S. 2003. An antiviral meliacarpin from leaves of *Melia azedarach*. *Journal of Biosciences: Zeitschrift für Naturforschung*. 58: 215–19.
- Ali, S., Ullah, M.I., Arshad, M., Iftikhar, Y., Saqib, M. and Afzal, M. 2017. Effect of botanicals and synthetic insecticides on *Pieris brassicae* (L., 1758) (Lepidoptera: Pieridae). *Turkish Journal of Entomology*, 41: 275–84.

- Akhtar, Y. and Isman, M.B. 2003. Comparative growth inhibitory and antifeedant effects of plant extracts and pure allelochemicals on four phytophagous insect species. *Journal of Applied Entomology*, 128: 32–38.
- Baniameri, V. and Cheraghian, A. 2012. The first report and control of *Tuta absoluta* in Iran. *Eppo Bulletin*, 42: 322–4.
- Botha, C.J. and Penrith, M.L. 2009. Potential plant poisoning in dogs and cat in Southern Africa. *Journal of the South African Veterinary Association*, 80: 63–74.
- Brunherotto, R. and Vendramin, J.D. 2001. Bioatividade de Extratos Aquosos de *Melia azedarach* L. Sobre o Desenvolvimento de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em Tomateiro. *Neotropical Entomology*, 30(3): 455–459.
- Brunherotto, R., Vendramim, J.D. and de G Oriani, M.A. 2010. Effects of tomato genotypes and aqueous extracts of *Melia azedarach* leaves and *Azadirachta indica* seeds on *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)]. *Neotropical Entomology*, 39(5): 784–91.
- Carpinella, C., Defagó, T., Valladares, G. and Palacios, M. 2003. Antifeedant and insecticide properties of a limonoid from *Melia azedarach* (Meliaceae) with potential use for pest management. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51: 369–74.
- Chiffelle, I., Huerta, A., Bobadilla, V., Macuada, G., Araya, J.E., Curkovic, T. and Ceballos, R. 2019. Antifeedant and insecticidal effects of extracts from *Melia azedarach* fruits and *Peumus boldus* leaves on *Xanthogaleruca luteola* larvae. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 79(4): 609–16.
- Chung Huang, R., Tadera, K., Yagi, F., Minami, Y., Okumara, H., Iwagawa, T. and Nakatani, M. 1996. Limonoides from *Melia azedarach*. *Phytochemistry*, 43(3): 581–583.
- Corpinella, M.C., Miranda, M., Almiron, W.R., Ferrayoli, C.G., Almedia, F.L. and Palacios, S. 2007. In vitro pediculicidal and ovicidal activity of an extract and oil from fruit of *Melia azedarach* L. *Journal of American Academy of Dermatology*, 56: 250–256.
- Deepika, Sh. and Yash, P. 2013. Preliminary and Pharmacological Profile of *Melia azedarach* L.: An Overview. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 3(12): 133–138.
- Desneux, N., Luna, M.G., Guillemaud, T. and Urbaneja, A. 2011. The invasive South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*, continues to spread in Afro-Eurasia and beyond: the new threat to tomato world production. *Journal of Pest Science*, 84: 403–8.
- EPPO. 2008. Additional information provided by Spain on EPPOA1 pest. EPPO reporting service (ESTa/2008-01).
- EPPO. 2009. First report of *Tuta absoluta* in France. EPPO reporting service 2009/003.
- FERA. 2009. The first outbreak of the South American tomato moth *Tuta absoluta* in the U.K. Available at: <http://www.fera.defra.gov.uk>.
- Hadjiakhoondi, A., Vandoost, H., Khanavi, K., Sadeghipour-Roodsaric, H.R., Vosoughi, M. and Kazemi, M. 2006. Fatty Acid *Melia azedarach* L. Fruits against Malaria Vector Composition and Toxicity of *Anopheles stephensi*. *Iranian Journal of Pharmacological Science*, 2(2): 97–102. (In Persian)
- Han J, Lin WH, Xu RS, Wang WL, Zhao SH. 1991. Studies on the chemical constituents of *Melia azedarach* Linn. *Acta Pharm Sin B*. 26: 426–29.

- Hashim Mohammad H. 2012. Insecticidal Effect of Different Plant Extracts against *Tribolium confusum* (du val) (Coleoptera: Tenebrionidae). J Agric Sci Technol. A(2): 1175-1181.
- Isman MB. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. Crop Prot. 19: 603–8.
- Jazzari C, Abou-Fakhr Hammad E. 2003. The efficacy of enhanced aqueous extracts of *Melia azedarach* leaves and fruits integrated with the *Camptotylus reuteri* releases against the sweetpotato whitefly nymphs. Bull Insectol. 56(2): 269–75.
- Isman MB, Gunning PJ, Spollen KM. 1997. Tropical timber species as sources of botanical insecticides, in: P.A. Hedin, R.M. Hollingworth, E.P. Masler, J. Miyamoto, D. G. Thompson (Eds.), Phytochemicals for Pest Control, American Chemistry of Society Symposium Series, 658: 27-37.
- Khursheed A, Rather MA, Jain V, Wani AR, Rasool S, Nazir R, Malik NA, Majid SA. 2022. Plant based natural products as potential ecofriendly and safer biopesticides: A comprehensive overview of their advantages over conventional pesticides, limitations and regulatory aspects. Microb Pathog. 173: 105854.
- Mahlangu L, Sibisi P, Nofemela RS, Ngmenzuma T, Ntushelo K. 2022. The Differential Effects of *Tuta absoluta* Infestations on the Physiological Processes and Growth of Tomato, Potato, and Eggplant. Insects. 13(8): 754.
- Marimuthu S, Balakrishnan P, Nair S. 2013. Phytochemical investigation and radical scavenging activities of *Melia azedarach* and its DNA protective effect in cultured lymphocytes. Pharm Biol. 51: 1331–40.
- Mazzonetto F, Vendramim J. 2003. Effect of powders from vegetal species on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae) in stored bean. Neotrop Entomol. 32: 145–9.
- Nathan, SS. 2006. Effects of *Melia azedarach* on nutritional physiology and enzyme activities of the rice leaf folder, *Cnaphalocrocis medicinalis* (Guenée) (Lepidoptera: Pyralidae). Pestic Biochem Physiol. 84: 98–108.
- Ong'onge MA, Ajene IJ, Runo S, Sokame BM, Khamis FM. 2023. Population dynamics and insecticide resistance in *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae), an invasive pest on tomato in Kenya. Heliyon. 9(11): e21465.
- Pandey M, Bhattarai N, Pandey P, Chaudhary P, Katuwal DR, Khanal D. 2023. A review on biology and possible management strategies of tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Meyrick), Lepidoptera: Gelechiidae in Nepal. Heliyon. 9(6): e16474.
- Park B, Lee S, Choi W, Jeong C, Song C, Cho K. 2002. Insecticidal and acaricidal activity of piperonaline and piperocetadecalidine derived from dried fruits of *Piper longum* L. Crop Prot. 21: 249–251.
- Parra Henao GJ, García Pajón CM, Cotes Torres JM. 2007. Actividad insecticida de extractos vegetales sobre *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) vector del Dengue en Colombia. Ces Med. 21: 47–54.
- Pérez-Pacheco R, Rodríguez C, Lara-Reyna J, Montes R, Ramírez G. 2004. Toxicidad de aceites, esencias y extractos vegetales en larvas del mosquito *Culex quinquefasciatus* (Say.) (Diptera: Culicidae). Acta Zool Mex. 20: 141–52.
- Phua DH, Tsai WJ, Ger J, Deng JF, Yang CC. 2008. Human *Melia azedarach* poisoning. Clin Toxicol. 46: 1067–70.

- Poudel S, Poudel B, Acharyaa B, Poudelb P. 2020. Pesticide use and its impacts on human health and environment. *Environ Ecosyst Sci*. 4(1): 47–51.
- Pratheeba T, Vivekanandhan P, Faeza AN, Natarajan D. 2019. Chemical constituents and larvicidal efficacy of *Naringi crenulata* (Rutaceae) plant extracts and bioassay guided fractions against *Culex quinquefasciatus* mosquito (Diptera: Culicidae). *Biocatal Agric Biotechnol*. 19: 101137.
- Kim JR, Yeon SH, Kim HS, Ahn YJ. 2002. Larvicidal activity against *Plutella xylostella* of cordycepin from the fruiting body of *Cordyceps militaris*. *Pest Manag Sci*. 58: 713–717.
- Rodríguez HC, Vendramim JD. 1998. Uso de índices nutricionales para medir el efecto insectistático de extractos de meliaceas sobre *Spodoptera frugiperda*. *Man Integ Plagas*. 48: 11–18.
- Rosa JS, Mascarenhas C, Oliveira L, Teixeira T, Barreto MC, Medeiros J. 2010. Biological activity of essential oils from seven Azorean plants against *Pseudaletia unipuncta* (Lepidoptera: Noctuidae). *J Appl Entomol*. 134: 346–54.
- Rossetti MR, Defagó MT, Carpinella MC, Palacios SM, Valladares C. 2008. Actividad biológica de extractos de *Melia azedarach* sobre larvas de *Spodoptera eridania* (Lepidoptera: Noctuidae). *Rev Soc Entomol Argent*. 67: 115–25.
- SAS Institute. 2004. SAS/STAT. guide for personal computers. Ver. 8. Cary (NC): SAS Institute.
- Sen A, Batra A. 2012. Evaluation of antimicrobial activity of different solvent extracts of medicinal plant: *Melia azedarach*. *Int J Curr Pharm Res*. 4: 67–73.
- Senthil Nathan S, Kalaivani K, Sehoon K, Murugan K. 2006. The toxicity and behavioural effects of neem limonoids on *Cnaphalocrocis medinalis* (Guene'e), the rice leaf folder Sengottayan. *Chemosphere*. 62: 1381–87.
- Sharma G, Gupta R. 2009. Biological activity of some plant extracts against *Pieris brassicae* (Linn.). *J Biopestic*. 2(1): 26–31.
- Sousa RMOF, Rosa JS, Oliveira L, Cunha A, Fernandes-Ferreira M. 2013. Activities of Apiaceae essential oils against Armyworm, *Pseudaletia unipuncta* (Lepidoptera: Noctuidae). *J Agr Food Chem*. 61: 7661–72.
- Szewczuk VD, Mongelli ER, Pomilio AB. 2006. In vitro anthelmintic activity of *Melia azedarach* naturalized in Argentina. *Phytother Res*. 20(11): 993–996.
- Tarusikirwa VL, Machekano H, Mutamiswa R, Chidawanyika F, Nyamukondiwa C. 2020. *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) on the “Offensive” in Africa: Prospects for Integrated Management Initiatives. *Insects*. 11: 764.
- Tropea Garzia G, Siscaro G, Biondi A, Zappala L. 2012. *Tuta absoluta*, a South American pest of tomato now in the EPPO region: biology, distribution and damage. *EPPO Bull*. 42: 205–10.
- Valladares GR, Ferreyra D, Defago MT, Carpinella MC, Palacios S. 1999. Effects of *Melia azedarach* on *Triatoma infestans*. *Fitoterapia*. 70: 421–424.
- Vergara R, Escobar C, Galeno P. 1997. Potencial insecticida de extractos de *Melia azedarach* L. (Meliaceae). *Actividad biológica y efectos*. *Rev Fac Nac Agron Medellin*. 50: 186.

- Vivekanandhan P, Panikar P, Sethuraman V, Usha-Raja-Nanthini A, Subramanian Shivakumar M. 2023. Toxic and synergetic effect of plant essential oils along with nano-emulsion for control of three mosquito species. *J Nat Pestic Res.* 5: 100045.
- Vivekanandhan P, Senthil-Nathan S, Shivakumar MS. 2018a. Larvicidal, pupicidal and adult smoke toxic effects of *Acanthospermum hispidum* (DC) leaf crude extracts against mosquito vectors. *Physiol Mol Plant Pathol.* 101: 156–162.
- Vivekanandhan P, Swathy K, Alahmadi Tahani A, Ansari MJ. 2024. Biocontrol effects of chemical molecules derived from *Beauveria bassiana* against larvae of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Front Microbiol.* 15: 1336334.
- Vivekanandhan P, Swathy K, Sarayut P, Ragavendran C, Patcharin K. 2023. Essential oils from *Acacia nilotica* (Fabales: Fabaceae) seeds: May have insecticidal effects? *Heliyon.* 9(4): e14808.
- Vivekanandhan P, Usha-Raja-Nanthini A, Valli G, Subramanian Shivakumar M. 2020. Comparative efficacy of *Eucalyptus globulus* (Labill) hydrodistilled essential oil and temephos as mosquito larvicide, *Nat Prod Res.* 16: 2626–2629.
- Vivekanandhan P, Venkatesan R, Ramkumar G, Karthi S, Senthil-Nathan S, Shivakumar MS. 2018b. Comparative Analysis of Major Mosquito Vectors Response to Seed-Derived Essential Oil and Seed Pod-Derived Extract from *Acacia nilotica*. *Int J Environ Res Public Health.* 15(2): 388.
- Zappalà L, Biondi A, Alma A, Al-Jboory IJ, Arnò J, Bayram A, Chailleux A, El-Arnaouty A, Gerling D, Guenaoui Y, Shaltiel-Harpaz L, Siscaro G, Stavrinides M, Tavella L, Aznar RV, Urbaneja A, Desneux N. 2013. Natural enemies of the South American moth, *Tuta absoluta*, in Europe, North Africa and Middle East, and their potential use in pest control strategies. *J Pest Sci.* 86: 635–647.