



University of Tehran

Respiratory toxicity of the essential oils extracted from Greek juniper (*Juniperus excelsa* M.Bieb.) needles originated from two different habitats in Iran against Indianmeal moth (*Plodia interpunctella* (Hübner)) and mealworm (*Tenebrio molitor* L.)

Somayeh Nazirzadeh¹ | Vilma Bayramzadeh² | Farahnaz Khalighi-Sigaroodi^{3*} |
Leila Pourhosseini⁴ | Sayed Khosrow HossinAshrafi⁵

1. Department of Horticultural Sciences, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran. Email: so.nazirzadeh@gmail.com
2. Department of Wood and Paper Sciences, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran. Email: v_bayramzadeh@yahoo.com
3. Corresponding author, Medicinal Plants Research Center, Institute of Medicinal Plants, ACECR, Karaj, Iran. Email: khalighi@imp.ac.ir
4. Department of Horticultural Sciences, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran. Email: lpourhosseini@gmail.com
5. Department of Wood and Paper Sciences, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran. Email: khosrowashrafi@gmail.com

ARTICLE INFO

ABSTRACT

Article type:

Research Article

Article History:

Received: 29 October 2023

Revised: 01 December 2023

Accepted: 12 December 2023

Published online: 10 March 2024

Keywords:

Bioassay,

Chemical compounds,

Pests of warehouses,

Secondary metabolites.

In recent decades, the use of environmentally friendly insecticides, especially plant essential oils (EO), has attracted the attention of many researchers. The aim of this study was to investigate the insecticidal effects of essential oils extracted from *Juniperus excelsa* needles collected from Aqdagh (Khalkhal) and Shahrestanak (Karaj) in Iran against adults of *Plodia interpunctella* and *Tenebrio molitor*. The essential oil was extracted from the needles of the plant using the cleveenger apparatus, and the compounds were analyzed using a gas chromatograph coupled with a mass spectrometer (GC-MS). Fumigant toxicity of the EO was also evaluated against the above-mentioned insects by probit regression and the LC₅₀ index. Based on the results, the chemical compounds identified in the EO from Shahrestanak and Aqdagh regions were 24 and 18 compounds, respectively. However, α -pinene was the main component of the EOs obtained from both habitats. Additionally, the results showed that the respiratory toxicity of EO in both studied areas had a positive and significant correlation with the concentration of essential oils ($p < 0.01$). Therefore, it seems that the EO extracted from *J. excelsa* needles has a high potential for use in pest control programs in warehouses. The calculated LC₅₀ indices of Aqdagh and Shahrestank essential oils for *Tenebrio molitor* was 279.10 and 253.16 $\mu\text{L/L}$, respectively. Also, the indices of Aqdagh and Shahrestank essential oils for *P. interpunctella* were 182.26 and 115.16 $\mu\text{L/L}$, respectively. The LC₅₀ values of Shahrestank EO were lower for both insects, probably due to the difference in the chemical compositions of Aqdagh and Shahrestanak essential oils. Considering the respiratory toxicity of the essential oil obtained from juniper leaves in two regions, and considering the difference in LC₅₀ index, more biometric studies of *J. excelsa* in different habitats are recommended.

Cite this article: Nazirzadeh, S., Bayramzadeh, V., Khalighi-Sigaroodi, F., Pourhosseini, L., HossinAshrafi, S.Kh. (2024). Respiratory toxicity of essential oils extracted from Greek juniper (*Juniperus excelsa* M.Bieb.) needles originated from two different habitats against Indianmeal moth (*Plodia interpunctella* (Hübner)) and mealworm (*Tenebrio molitor* L.). *Journal of Forest and Wood Products*, 76 (4), 313-327. DOI: <http://doi.org/10.22059/jfwpp.2024.367337.1265>



© The Author(s) **Publisher:** University of Tehran Press.

DOI: <http://doi.org/10.22059/jfwpp.2024.367337.1265>



دانشگاه تهران

نشریه جنگل و فرآورده‌های چوب

شاپا الکترونیکی: ۲۳۸۳-۰۵۳۰

سایت نشریه: <https://jfwf.ut.ac.ir>

سمیت تنفسی اسانس برگ درخت ارس (*Juniperus excelsa* M.Bieb.)

از دو رویشگاه مختلف در ایران بر آفات شب‌پره هندی (*Plodia interpunctella* (Hübner))

و سوسک زرد آرد (*Tenebrio molitor* L.)

سمیه نظیرزاده^۱ | ویلما بایرامزاده^۲ | فرحناز خلیقی سیگارودی^{۳*} | لیلا پورحسینی^۴ | سید خسرو حسین اشرفی^۵

۱. گروه علوم باغبانی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران، رایانامه: so.nazirzadeh@gmail.com

۲. گروه علوم و صنایع چوب و کاغذ، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران، رایانامه: v_bayramzadeh@yahoo.com

۳. نویسنده مسئول، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی، کرج، ایران، رایانامه: khalighi@imp.ac.ir

۴. گروه علوم باغبانی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران، رایانامه: lpourhosseini@gmail.com

۵. گروه علوم و صنایع چوب و کاغذ، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران، رایانامه: khosrowashrafi@gmail.com

چکیده

اطلاعات مقاله

در دهه‌های اخیر، استفاده از حشره‌کش‌های دوست‌دار محیط‌زیست به‌ویژه اسانس‌های گیاهان برای کنترل آفات انباری توجه بسیاری از محققین را به‌خود جلب کرده است. پژوهش حاضر با هدف بررسی خاصیت حشره‌کشی، اسانس برگ درخت ارس (*Juniperus excelsa*) جمع‌آوری شده از دو رویشگاه واقع در ارتفاعات منطقه آق‌داغ (خلخال) و شهرستانک (کرج) در ایران روی حشرات کامل شب‌پره هندی (*Plodia interpunctella*) و سوسک زرد آرد (*Tenebrio molitor* L.) انجام شد. برگ درختان از دو ناحیه جمع‌آوری و اسانس با استفاده از دستگاه کلونجر تهیه و ترکیبات اصلی با استفاده از کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی شناسایی شد. همچنین اثر سمیت تنفسی این اسانس‌ها بر روی حشرات فوق با تعیین شاخص میزان کشندگی (LC_{50}) و رگرسیون پروبیت بررسی شد. براساس نتایج، در اسانس برگ درخت ارس منطقه شهرستانک و آق‌داغ به ترتیب ۲۴ و ۱۸ ترکیب شناسایی شد. در هر دو رویشگاه، بیشترین ترکیب شناسایی شده مربوط به α -Pinene بود. نتایج نشان داد که سمیت تنفسی اسانس‌ها در هر دو منطقه مورد مطالعه با غلظت اسانس همبستگی مثبت و معنی‌داری دارد ($P < 0/01$). LC_{50} برای سوسک زرد آرد در اسانس‌های آق‌داغ و شهرستانک به ترتیب ۲۷۹/۱۰، ۲۵۳/۱۶ میکرولیتر بر لیتر هوا و برای شب‌پره هندی ۱۸۲/۲۶، ۱۱۵/۱۶ میکرولیتر بر لیتر هوا محاسبه شد. مقادیر LC_{50} اسانس‌های تهیه شده از شهرستانک برای هر دو حشره کمتر بود، که این تفاوت احتمالاً از تفاوت در ترکیبات شیمیایی اسانس در دو رویشگاه ناشی شده است. با توجه به سمیت تنفسی اسانس حاصل از برگ‌های درخت ارس در دو منطقه بررسی شده، و با توجه به تفاوت شاخص LC_{50} ، مطالعات زیست‌سنجی بیشتری از *J. excelsa* در رویشگاه‌های مختلف توصیه می‌شود.

نوع مقاله:

پژوهشی

تاریخ‌های مقاله:

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۸/۰۷

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲/۰۹/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۹/۲۱

تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۱۲/۲۰

کلیدواژه:

آفات انباری،

ترکیبات شیمیایی،

زیست‌سنجی،

متابولیت‌های ثانویه.

استناد: نظیرزاده، سیمیه؛ بایرامزاده، ویلما؛ خلیقی سیگارودی، فرحناز؛ پورحسینی، لیلا؛ حسین اشرفی، سید خسرو (۱۴۰۲). سمیت تنفسی اسانس برگ درخت ارس (*Juniperus excelsa* M.Bieb.) از دو رویشگاه مختلف بر آفات شب‌پره هندی (*Plodia interpunctella* (Hübner)) و سوسک زرد آرد (*Tenebrio molitor* L.).

نشریه جنگل و فرآورده‌های چوب، ۷۶ (۴)، ۳۲۷-۳۱۳. DOI: <http://doi.org/10.22059/jfwf.2024.367337.1265>

ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

© نویسندگان.

DOI: <http://doi.org/10.22059/jfwf.2024.367337.1265>



۱. مقدمه

امروزه با توجه به روند رو به رشد استفاده از ترکیبات شیمیایی در کنترل آفات و اثرات نامطلوب آن‌ها بر محیط‌زیست، تمرکز محققان بر تولید و استفاده از ترکیبات ایمن و کم‌خطر قرار گرفته است. در این میان استفاده از گیاهان دارویی و جایگزینی علف‌کش‌ها و ترکیبات شیمیایی سنتزی با اسانس‌های گیاهی جایگاه ویژه‌ای دارد [۱، ۲، ۳]. اسانس‌ها نقش مهمی در خود دفاعی گیاهان در برابر حمله حشرات گیاه‌خوار دارند و به‌عنوان دورکننده، بازدارنده تغذیه‌ای و تخم‌ریزی عمل می‌کنند و در مراحل مختلف رشدی گیاه، آن را در برابر حشرات محافظت می‌نمایند. تحقیقات نشان می‌دهد که بخش عمده‌ای از اسانس گیاهان از ترپنوئیدها به‌ویژه مونوترپنوئیدها و سزکویی ترپنوئیدها تشکیل شده که خواص حشره‌کشی و دورکنندگی قابل ملاحظه‌ای دارند. بیش از ۱۷ هزار گونه گیاهی دارای متابولیت‌های ثانویه‌ای هستند که اثرات بازدارندگی آن‌ها بر بسیاری از آفات به‌ویژه مؤثر بر آفات انباری اثبات شده است [۴، ۵]. در همین راستا نتایج مطالعات متعددی نشان داده است که اسانس اسطوخودوس، آنگوزه، سبب کاهش جمعیت سوسک قرمز آرد (*Tribolium castaneum* L.) شده است [۶، ۷]. در ضمن مطالعات مرتبط با اثر حشره‌کشی اسانس گیاهان درختی و درختچه‌ای، مثل خرزهره، اکالیپتوس، زیتون تلخ و سرو کوهی مؤید این مطلب بود که می‌توان این اسانس‌ها را به‌عنوان یک حشره‌کش گیاهی و کاملاً در دسترس و همچنین امن برای انسان و محیط‌زیست و یک عامل بسیار مناسب کنترل‌کننده آفات در انبارها بکار گرفت [۸، ۹، ۱۰، ۱۱].

هر ساله مقدار قابل توجهی از تولیدات کشاورزی توسط آفات انباری از بین می‌رود [۱۲]. یکی از این آفات، سوسک زرد (*Tenebrio molitor* L.) است که از آفات مهم آرد و سبوس گندم و سایر غلات می‌باشد و همچنین سایر مواد نشاسته‌ای مانند بیسکویت، نان و ماکارونی را مصرف می‌کند. سوسک آرد کیفیت و مرغوبیت آرد را به‌علت آلودگی به مدفوع و ترشحات حشره و پوسته‌های لاروی به‌شدت پایین می‌آورد [۱۳، ۱۴]. این آفت قادر است دانه‌های گندم و ذرت را آلوده کند. مدفوع این آفت در سبوس گندم نفوذ می‌کند و علاوه بر آلوده کردن دانه‌های گندم، سبب کاهش شدید کیفیت دانه می‌گردد [۱۵، ۱۶]. یکی دیگر از آفت‌های اصلی انباری در مناطق مختلف جهان به‌ویژه مناطق حاره‌ای آسیا، آفریقا، اروپا و آمریکا، شب‌پره هندی (*Plodia interpunctella*) می‌باشد. در ایران نیز شب‌پره هندی به‌عنوان آفت مهم برای بقولات، غلات، گردو، بادام، پسته، میوه‌های خشک، دانه‌های روغنی، خرما، بذور، کشمش و شیرینی‌جات است. لاروها با صدمه به محصولات ذخیره‌شده، از خود آفت هم فراتر رفته و باعث رشد قارچ‌ها و باکتری‌ها نیز می‌شود. در حال حاضر روش‌های مبارزه با این آفات، مبارزه شیمیایی است، ولی با عنایت به توضیحات فوق استفاده از روش‌های کم‌خطر مثل استفاده از اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی ارجحیت دارد. اخیراً پژوهش‌هایی در زمینه اثرات بازدارندگی اسانس و عصاره‌های گیاهی بر روی آفات و قارچ‌ها و باکتری‌ها صورت پذیرفته است. در همین زمینه می‌توان به مطالعاتی اشاره کرد. اثرات بازدارندگی عصاره زعفران را بر روی شب‌پره هندی [۱۷] و همچنین مطالعه Golestani و همکاران (۲۰۱۱)، اسانس اسطوخودوس و آویشن شیرازی را بر روی سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات بررسی کردند [۱۸]، که نتایج هر دو تحقیق مؤید اثرات بازدارندگی عصاره زعفران، آویشن شیرازی و اسانس اسطوخودوس بر روی شب‌پره هندی و سوسک چهار نقطه بود. مطالعات دیگر نشان داده‌اند که در درختان سوزنی برگ بومی ایران متابولیت‌های ثانویه‌ای وجود دارند [۱۹]. یکی از این سوزنی برگان بومی، ارس (*Juniperus excelsa*) می‌باشد [۲۰، ۲۱] که اسانس آن دارای فعالیت ضد میکروبی و ضدباکتریایی است [۲۲، ۲۳]. در همین زمینه محققان به بررسی ترکیبات شیمیایی و اثر حشره‌کشی گیاه ارس روی حشرات بالغ سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات پرداختند و نتایج تحقیق آن‌ها نشان داد که اسانس این گیاه پتانسیل حشره‌کشی برای کنترل آفت انباری را دارد [۲۴]. ضمناً تحقیقات دیگری، اثرات آفت‌کشی و بازدارندگی اسانس سرو کوهی یا ارس بر روی چند آفات از جمله سوسک زرد آرد را بررسی کردند [۲۵]. نتایج تحقیقات Grulova و همکاران (۲۰۲۲) نشان داد که اسانس این گیاه باعث کاهش تعداد لاروهای این آفت می‌گردد [۱۹]. همچنین Martinez و همکاران (۲۰۱۸) اثر بازدارندگی و سمیت اسانس دو گیاه میخک و دارچین را بر روی سوسک زرد بررسی کردند و گزارش کردند که اسانس این دو گیاه باعث کاهش چشمگیر لاروهای سوسک زرد می‌گردد [۲۶]. یافته‌های مطالعات فوق و تحقیقات مشابه، پایه و اساسی برای تولید آفت‌کش‌های گیاهی مثل [®]Neem Azal، [®]Ruy Agro و [®]Bio1 شد که حتی غیر از آفات انباری در اکوسیستم‌های جنگلی نیز

بر روی آفاتی مثل شب پره شمشاد با نام علمی *Cydalima perspectalis* Walker از خانواده Crambidae موثر بوده و می‌تواند جایگزین مناسبی برای سموم شیمیایی باشد [۲۷].

تحقیقات فوق اثر بازدارندگی و حشره‌کشی اسانس و عصاره‌های گیاهی مورد استفاده در تحقیقات را مرتبط با متابولیت‌های ثانویه موجود در گیاهان می‌دانند. کلیه موادی که در یک گیاه وجود دارد تحت عنوان مواد متشکله نامگذاری شده و آن دسته از ترکیباتی که واجد اثرات درمانی می‌باشند، در گروه مواد متشکله فعال قرار می‌گیرند. این مواد در دو دسته متابولیت اولیه و ثانویه قرار می‌گیرند. مواد مؤثره گیاهان دارویی در گروه متابولیت‌های ثانویه قرار گرفته و در مراحل رشد و نمو گیاهی تأثیر اساسی و مهمی ندارند. سه عامل توارث، مراحل رشد و عوامل محیطی باعث ایجاد تغییرات کمی و کیفی در مواد متشکله گیاه می‌شوند. در این میان وجود سه عامل محیطی تأثیرگذار (اقلیم، خاک و فیزیوگرافی) و به دنبال آن سایر عواملی که به عنوان عوامل بیرونی محیطی در نظر گرفته می‌شوند تا حدی می‌توانند بر مواد متشکله گیاهی از جمله بر اجزای اسانس گیاهان دارویی از جمله سنتز ترکیبات ترپنی، استری و سایر ترکیبات تأثیر گذاشته و باعث ایجاد تغییرات در میزان غلظت و ساخت این ترکیبات شوند [۲۳، ۲۸، ۲۹].

باتوجه به توضیحات ارائه شده و بررسی‌های انجام شده بر روی منابع داخلی و خارجی، مطالعه‌ای در زمینه تأثیر شرایط محیطی بر خصوصیات فیتوشیمیایی و اثرات آفت کشی ارس انجام نشده است، بنابراین هدف تحقیق حاضر بررسی اثرات زیستی اسانس برگ درخت ارس از دو رویشگاه مختلف روی شب‌پره هندی و سوسک زرد آرد در شرایط آزمایشگاهی می‌باشد.

۲. روش‌شناسی پژوهش

۲-۱. منطقه جمع‌آوری گیاه

در اردیبهشت ماه ۱۴۰۱، در ابتدا برگ‌های گونه ارس از دو منطقه آق‌داغ خلخال (با عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۲۶ دقیقه شمالی، طول جغرافیایی ۴۸ درجه و ۲۳ دقیقه شرقی و ارتفاع ۱۵۳۱ متر از سطح دریا) و ارتفاعات کرج در استان البرز-شهرستانک (با عرض جغرافیایی ۳۵ درجه و ۹۹ دقیقه شمالی، طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۳۰ دقیقه شرقی و ارتفاع ۲۱۵۲ متر از سطح دریا)، جمع‌آوری شد. شرایط اقلیمی و رویشگاه مناطق جمع‌آوری گیاهان در جدول ۱ ارائه شده است. انتخاب این دو ناحیه در راستای رسیدن به هدف تحقیق و بر این اساس صورت گرفت که اقلیم این دو منطقه متفاوت می‌باشد. بر اساس شاخص دومارتون اقلیم شهرستانک نیمه مرطوب ($I_{DM} = 30$) و اقلیم هشتجین نیمه خشک می‌باشد ($I_{DM} = 19/8$).

جدول ۱. شرایط اقلیمی و رویشگاهی مناطق جمع‌آوری نمونه در سال ۱۴۰۱

منطقه	حداقل دما (درجه سانتی گراد)	حداکثر دما (درجه سانتی‌گراد)	میزان بارندگی سالانه (میلی‌متر)	رطوبت نسبی (درصد)	طبقه‌بندی اقلیمی دومارتین	نوع خاک
آق‌داغ هشتجین خلخال	-۷	۲۶-۲۹	۲۷۵-۴۱۵	۲۵-۳۵	مدیترانه‌ای/نیمه خشک	رسی-لومی
ارتفاعات کرج-شهرستانک	-۶	۱۸-۲۱	۱۷۲-۲۴۷	۴۹-۵۳	نیمه مرطوب	لومی-شنی

۲-۲. روش جمع‌آوری نمونه‌های برگ

۳۰ پایه سالم به صورت کاملاً تصادفی انتخاب شدند و مبنای انتخاب پایه‌های سالم و عاری از هر گونه بیماری بود. زمان نمونه برداری در خرداد ماه و در زمان فصل رویشی بود و نمونه‌های از برگ‌های بخش میانی درختان جمع‌آوری شدند که اثرات محیطی در این قسمت در کمترین حد خود بود. زیرا تاج درخت بیشترین دریافت نور و قسمت‌های پایین درخت کمترین حد نور را دریافت می‌کنند و قسمت‌های میانی درخت معمولاً کمتر تحت تأثیر سایه و آفتاب قرار می‌گیرند و برگ‌های یکنواخت‌تری دارند (شکل ۱). شناسایی و تأیید نام علمی گیاهان توسط متخصصان هرباریوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج انجام گردید و کد هرباریومی به هر نمونه اختصاص داده شد. پس از کدبندی و برچسب‌زنی نمونه‌ها، در جای خشک و به دور از نور نگهداری شدند.



شکل ۱. پایه‌های انتخاب شده و برگ درختان ارس

۲-۳. روش اسانس‌گیری

اسانس‌گیری با استفاده از روش تقطیر و با دستگاه کلونجر انجام شد. اسانس‌های جمع‌آوری شده با سولفات سدیم انیدر، آبگیری و تا زمان استفاده (دو هفته بعد از تهیه) در داخل شیشه‌های تیره رنگ و در یخچال در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری گردید [۲۱].

۲-۴. شناسایی ترکیبات اسانس‌ها

شناسایی ترکیبات مختلف اسانس گیاهان با کمک کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC/MS) انجام شد. دستگاه کروماتوگرافی استفاده شده از نوع Agilent 6890 با ستونی به طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر و ضخامت لایه ۰/۲۵ میکرومتر از نوع BPX5 بود. برای شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهنده اسانس، توسط n-هگزان رقیق شده بود به مقدار ۱ میکرولیتر به دستگاه GC/MS تزریق شد. برنامه دمایی ستون به صورت ذیل تنظیم گردید: دمای ابتدایی آن ۵۰ درجه سلسیوس و توقف در این دما به مدت ۵ دقیقه، گرادیان حرارتی ۳ درجه سلسیوس در هر دقیقه، افزایش دما تا ۲۴۰ درجه سلسیوس و سپس با سرعت ۱۵ درجه سلسیوس در هر دقیقه، افزایش دما تا ۳۰۰ درجه سلسیوس و ۳ دقیقه توقف در این دما و زمان پاسخ ۷۵ دقیقه بود. دمای اتانک تزریق ۲۹۰ درجه سلسیوس بود و از گاز هلیوم به‌عنوان گاز حامل با سرعت جریان (فلو) ۰/۵ میلی‌لیتر در دقیقه استفاده گردید. طیف‌نگار جرمی مورد استفاده مدل Agilent 5973 بود. شناسایی طیف‌ها با کمک شاخص بازداری آن‌ها و مقایسه آن با شاخص‌های موجود در کتب مرجع و مقالات و با استفاده از طیف‌های جرمی ترکیبات استاندارد و استفاده از اطلاعات موجود در کتابخانه کامپیوتری صورت گرفت [۳۰، ۳۱].

۲-۵. پرورش حشرات

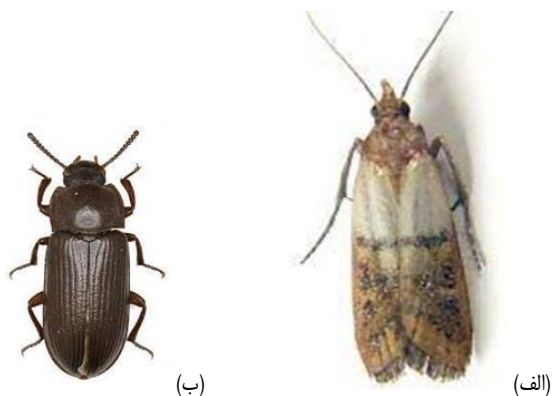
در این پژوهش دو حشره‌ی شب‌پره هندی و سوسک زرد آرد تهیه شده از آزمایشگاه کنترل بیولوژیک حشرات گروه گیاه‌پزشکی دانشکده‌گان کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، مورد آزمون قرار گرفتند که از آفات مهم و بسیار مضر انباری هستند. شب‌پره هندی کامل برای تخم‌ریزی درون قیف‌های مخصوصی قرار داده شدند، پس از خروج لاروها از تخم آن‌ها روی جیره غذایی مصنوعی توصیه شده توسط Sait و همکاران (۱۹۹۷) [۳۲] شامل مخمر ۱۶۰ گرم، گلیسرول ۲۰۰ میلی‌لیتر، عسل ۲۰۰ میلی‌لیتر، سبوس گندم ۸۰۰ گرم و با دوره نوری ۱۶:۸ (L:D)، رطوبت نسبی ۵۵±۱۵ درصد، دمای ۲۵±۲ درجه سلسیوس پرورش داده شدند. از مقواهای چین‌دار به‌عنوان پناهگاهی برای تبدیل لارو به شفیره استفاده شد، در نهایت حشرات کامل شب‌پره هندی جدا و تفکیک جنسیت براساس پهنای شکم صورت گرفت. از آنجا که حشرات نر شب‌پره هندی طول عمر کوتاهی دارند، از حشرات کامل ماده برای مطالعات زیست‌سنجی استفاده شد. سوسک زرد آرد با رژیم غذایی مصنوعی شامل جو پرک، سبوس، هویج و سیب‌زمینی، تحت شرایط آزمایشگاهی با رطوبت نسبی ۵۵±۱۵ درصد و دمای ۲۵±۲ درجه سلسیوس پرورش داده شدند. سوسک‌های بالغ (نر و ماده، بدون تفکیک جنسیت) برای مطالعات زیست‌سنجی استفاده شدند.

۲-۶. مطالعات زیست‌سنجی

برای مطالعات زیست‌سنجی پس از انجام آزمون‌های مقدماتی، ۴ غلظت حجمی-حجمی مختلف از اسانس‌ها به اضافه شاهد (آب مقطر) به شرح زیر در نظر گرفته شد: ۵۵، ۱۰۸، ۱۶۰ و ۲۵۰ میکرولیتر به ترتیب معادل ۷۳/۳، ۱۴۳/۹، ۲۱۳/۳ و ۳۳۳/۳ میکرولیتر بر لیتر هوا برای شب‌پره هندی و ۳۰، ۶۸، ۱۳۰ و ۲۰۰ میکرولیتر به ترتیب معادل ۸۵/۵، ۱۹۳/۸، ۳۷۰/۵ و ۵۷۰ میکرولیتر بر لیتر هوا برای سوسک زرد آرد. شایان ذکر هست که غلظت‌های اسانس مورد استفاده در این آزمایش با انجام آزمایشات اولیه و با استفاده از میکروپیپت (ساخت شرکت Brand آلمان) تعیین شدند.

در ابتدا با استفاده از میکروپیپت دیجیتال، پنبه استریل به مقادیر مورد نظر از اسانس آغشته شد (از غلظت کم به زیاد) و درون ظرف استوانه‌ای پلکسی‌گلاس با حجم ۷۵۰ میلی‌لیتر قرار گرفت. روی پنبه استریل، ظروف پلاستیکی با سوراخ‌های متعدد یکسان برای جلوگیری از تماس مستقیم اسانس با شب‌پره‌ها قرار داده شد. در هر واحد آزمایشی، تعداد ۱۰ عدد شب‌پره ماده وارد و درب ظرف بسته شد [۱۵].

آزمایش بر روی سوسک زرد آرد درون ظروف پلکسی‌گلاس به حجم ۳۵۰ میلی‌لیتر انجام شد. ابتدا تعداد ۲۰ عدد حشره کامل (بدون تفکیک جنسیتی) به همراه قطعه‌ای هویج درون ظرف که از قبل برای آزمایش طراحی و تهیه شده بودند؛ قرار داده شده و مقادیر مورد نظر روی پنبه استریل با استفاده از میکروپیپت دیجیتال (از غلظت کم به زیاد) قرار داده شد (شکل ۲-ب). نهایتاً تعداد مرگ‌ومیر؛ ۶، ۱۰، ۱۸ و ۲۴ ساعت پس از قرارگیری حشرات در معرض اسانس‌ها ثبت و با توجه به بررسی و آنالیز داده‌ها با تجزیه پروبیت که مهم‌ترین کاربرد آن مربوط به بررسی رابطه بین دز-بقا و دز-کشندگی است، مقادیر LC_{50} در زمان ۱۸ ساعت پس از تیمار محاسبه شد [۳۳]. هر گونه سوراخ تعبیه شده در ظرف‌های مورد آزمایش با چسب‌های بی‌رنگ به صورت کامل بسته و پوشش یافته و هیچ گونه خلل و فرجی برای خروج بخار اسانس‌های گیاهی وجود نداشت.



شکل ۲. حشرات کامل شب‌پره هندی با طول ۸ تا ۱۰ میلی‌متر (الف) و سوسک زرد آرد با طول ۳ تا ۴ میلی‌متر (ب) مورد استفاده در آزمون

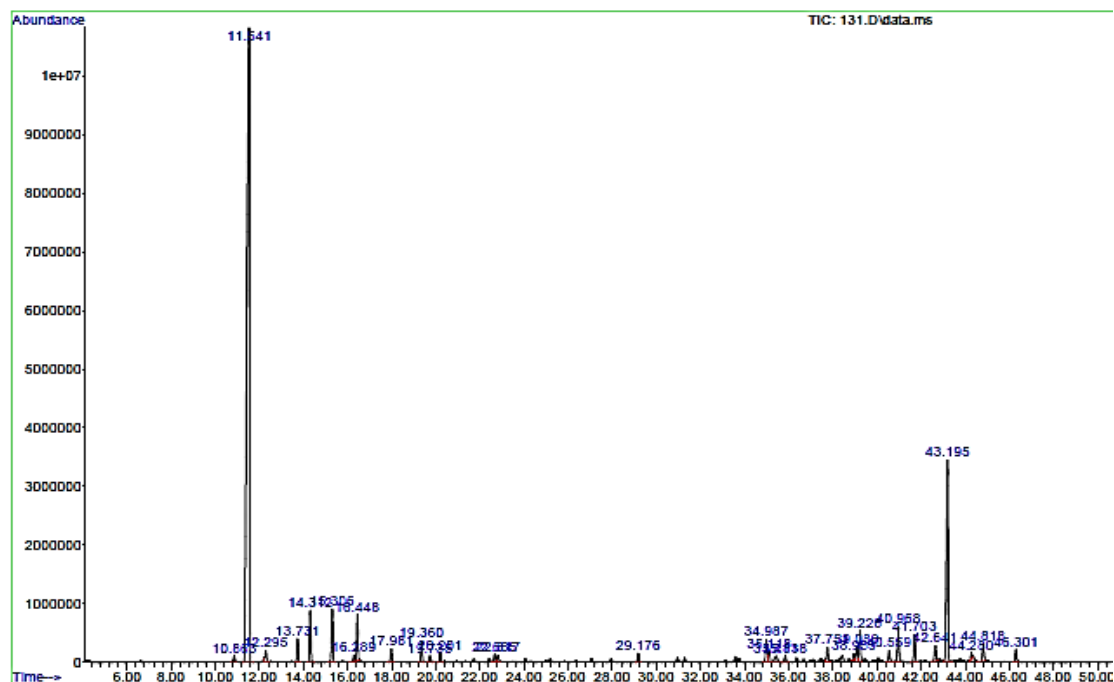
۲-۷. آنالیز داده‌ها

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۷ آنالیز شدند. بدین‌منظور برای مطالعات عیارگیری زیستی (Bioassay) مانند نسبت حشرات کشته شده با غلظت‌های مختلف یک حشره‌کش، متغیر پاسخ، یک متغیر دو حالتی در نظر گرفته شد، بنابراین از مدل‌های خطی تعمیم یافته، مانند مدل‌های لجستیک و پروبیت استفاده گردید [۳۴، ۳۵] و میزان کشندگی (LC_{50}) اسانس‌های مورد نظر، در دو حشره شب‌پره هندی و سوسک زرد آرد محاسبه شد. همچنین برای مقایسه آماری میزان کشندگی LC_{50} اسانس‌های مورد نظر در دو حشره شب‌پره هندی و سوسک زرد آرد از همپوشانی حدود اطمینان ۹۵ درصد و نیز ملاحظه نسبت آن‌ها، استفاده شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS آنالیز شدند.

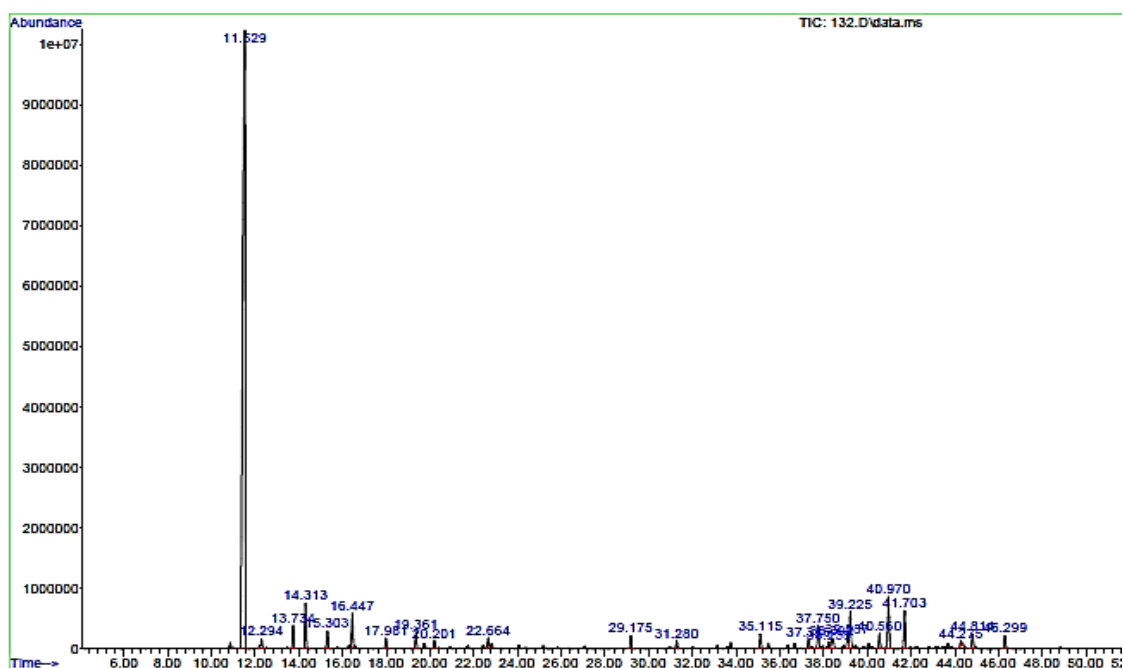
۳. یافته‌های پژوهش و بحث

۳-۱. ترکیبات موجود در درختان ارس دو رویشگاه

ترکیبات شیمیایی موجود در گونه‌ی ارس دو رویشگاه در شکل‌های ۳ و ۴ ارائه شده است. همان‌طور که مشخص است ترکیبات موجود در درختان ارس دو رویشگاه شهرستانک کرج (ارتفاعات البرز) و آق داغ هشتجین خلخال در بیشتر ترکیبات شناسایی شده مشابه یکدیگر است.



شکل ۳. کروماتوگرافی اسانس ارس جمع‌آوری شده از شهرستانک در استان البرز



شکل ۴. کروماتوگرافی اسانس ارس جمع‌آوری شده از آق داغ خلخال

جدول ۲. تجزیه شیمیایی اسانس ارس جمع‌آوری شده از شهرستانک در ارتفاعات کرج در استان البرز

شماره	زمان بازداری*	اندیس بازداری**	نام ترکیبات	درصد
۱	۱۰/۸۷	۹۲۵	Tricyclene	۰/۳۴
۲	۱۱/۵۴	۹۳۸	α -Pinene	۶۰/۸۷
۳	۱۲/۲۹	۹۵۳	Camphene	۰/۵۹
۴	۱۳/۷۳	۹۸۲	β -Pinene	۱/۱۵
۵	۱۴/۳۱	۹۹۳	Myrcene	۲/۳۹
۶	۱۵/۳۱	۱۰۱۳	δ -3-Carene	۲/۶۶
۷	۱۶/۲۹	۱۰۳۲	<i>p</i> -Cymene	۰/۲۹
۸	۱۶/۴۵	۱۰۳۵	Limonene	۲/۱۸
۹	۱۷/۹۸	۱۰۶۴	γ -Terpinene	۰/۶۶
۱۰	۱۹/۳۶	۱۰۹۱	Terpinolene	۱/۰۷
۱۱	۱۹/۷۴	۱۰۹۸	Fenchone	۰/۳۷
۱۲	۲۰/۲۰	۱۱۰۸	Linalool	۰/۴۵
۱۳	۲۲/۸۲	۱۱۶۱	Camphor	۰/۴۳
۱۴	۲۹/۱۸	۱۲۹۳	<i>L</i> - α -Bornyl acetate	۰/۴۵
۱۵	۳۴/۹۸	۱۴۲۵	β -Funebrene	۱/۳۴
۱۶	۳۵/۱۲	۱۴۲۸	Caryophyllene	۰/۶۱
۱۷	۳۵/۸۴	۱۴۴۵	Thujopsene	۰/۳۶
۱۸	۳۷/۷۵	۱۴۹۱	Germacrene D	۰/۸۰
۱۹	۳۹/۰۹	۱۵۲۵	γ -Cadinene	۰/۷۰
۲۰	۳۹/۲۳	۱۵۲۸	δ -Cadinene	۱/۵۹
۲۱	۴۰/۵۶	۱۵۶۲	Elemol	۰/۶۰
۲۲	۴۰/۹۷	۱۵۷۲	Germacrene B	۱/۹۶
۲۳	۴۳/۲۰	۱۶۳۰	Cedrol	۱۲/۴۴
۲۴	۴۴/۸۲	۱۶۷۳	α -Cadinol	۰/۹۳
			کل ترکیبات شناسایی شده	۹۵/۲۳

*= زمان بازداری اندازه‌گیری زمان لازم برای عبور یک ترکیب از ستون کروماتوگرافی گازی است.

**= شاخص بازداری یا اندیس کواتس برای تبدیل زمانهای بازداری به ثابتهای مستقل از سیستم استفاده می‌شود و امکان مقایسه مقادیر

اندازه‌گیری شده توسط آزمایشگاه‌های مختلف تحت شرایط و آنالیزهای مختلف را فراهم می‌کند.

از برگ‌های گونه ارس جمع‌آوری شده از ارتفاعات کرج در استان البرز، ۲۴ ترکیب شناسایی شد و نتایج تجزیه شیمیایی اسانس نشان داد که بیشترین ترکیب شناسایی شده مربوط به α -Pinene به مقدار (۶۰/۸۷ درصد) و همچنین ترکیب Cedrol به مقدار (۱۲/۴۴ درصد)، ترکیب δ -3-Carene (۲/۶۶ درصد)، Myrcene (۲/۳۹ درصد) و Limonene (۲/۱۸ درصد) است (جدول ۲). همچنین ۱۸ ترکیب از گونه ارس جمع‌آوری شده از منطقه آق‌داغ هشتجین خلخال شناسایی شد و نتایج تجزیه شیمیایی اسانس نشان داد که بیشترین ترکیب شناسایی شده مربوط به α -Pinene به مقدار (۷۰/۲۲ درصد) و همچنین ترکیب Germacrene B به مقدار (۳/۵۹ درصد)، δ -Cadinene (۲/۷۳ درصد)، Myrcene (۲/۷۱ درصد) و Limonene (۲/۰۴ درصد) است (جدول ۳). ترکیبات Tricyclene، *p*-Cymene، Fenchone، Camphor، β -Funebrene، Thujopsene، Cedrol در برگ‌های ارس جمع‌آوری شده از ارتفاعات البرز مشاهده شد، اما در برگ‌های ارس‌های جمع‌آوری شده از خلخال وجود نداشت. همچنین δ -Elemene نیز در برگ‌های ارس جمع‌آوری شده از خلخال مشاهده شد که برگ‌های ارس شهرستانک فاقد این ماده بودند.

جدول ۳. تجزیه شیمیایی اسانس ارس جمع‌آوری شده از آق‌داغ هشتجین خلخال

شماره	زمان بازداری	اندیس بازداری	نام ترکیبات	درصد
۱	۱۱/۵۳	۹۳۸	α -Pinene	۷۰/۲۲
۲	۱۲/۲۹	۹۵۳	Camphene	۰/۷۷
۳	۱۳/۷۳	۹۸۲	β -Pinene	۱/۴۶
۴	۱۴/۳۱	۹۹۳	Myrcene	۲/۷۱
۵	۱۵/۳۱	۱۰۱۳	δ -3-Carene	۱/۱۱
۶	۱۶/۴۵	۱۰۳۵	Limonene	۲/۰۴
۷	۱۷/۹۸	۱۰۶۴	γ -Terpinene	۰/۶۸
۸	۱۹/۳۶	۱۰۹۱	Terpinolene	۱/۰۷
۹	۲۰/۲۰	۱۱۰۸	Linalool	۰/۴۸
۱۰	۱۸/۲۹	۱۲۹۳	<i>L</i> - α -Bornyl acetate	۰/۸۴
۱۱	۳۱/۲۸	۱۳۴۰	δ -Elemene	۰/۴۸
۱۲	۳۵/۱۲	۱۴۲۸	Caryophyllene	۰/۹۶
۱۳	۳۷/۷۵	۱۴۹۱	Germacrene D	۱/۵۵
۱۴	۳۹/۰۹	۱۵۲۵	γ -Cadinene	۰/۷۹
۱۵	۳۹/۲۳	۱۵۲۸	δ -Cadinene	۲/۷۳
۱۶	۴۰/۵۶	۱۵۶۲	Elemol	۱/۰۱
۱۷	۴۰/۹۷	۱۵۷۲	Germacrene B	۳/۵۹
۱۸	۴۴/۸۱	۱۶۷۳	α -Cadinol	۱/۰۳
			کل ترکیبات شناسایی شده	۹۳/۵۲

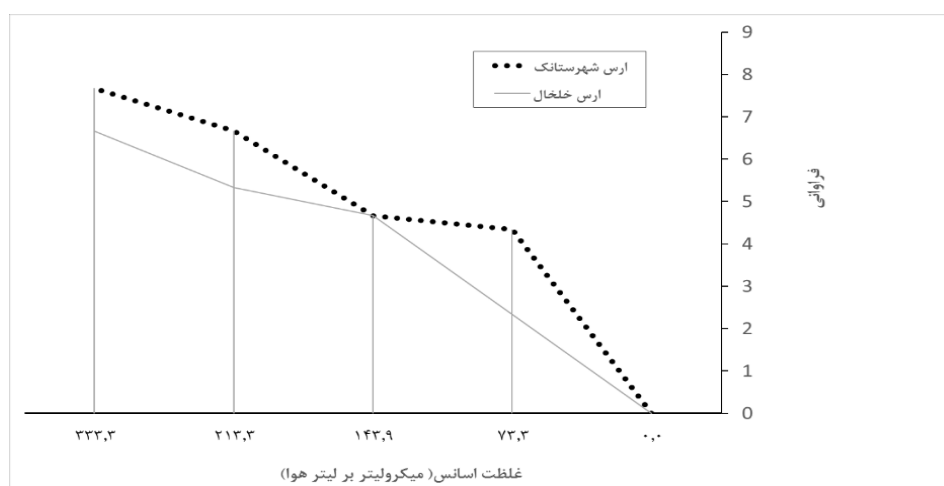
ترکیبات شیمیایی اسانس برگ *J. excelsa* توسط پژوهشگران دیگری نیز مورد بررسی قرار گرفته است. در بررسی ترکیبات شیمیایی اسانس برگ و سرشاخه‌های این گیاه در یونان، بیشترین ترکیبات شامل Cedrol، α -Pinene و Limonene گزارش شده است [۳۶]. در تحقیقی که توسط Ehsani و همکاران (۲۰۱۲) انجام گردید، بیشترین ترکیب در اسانس برگ *J. excelsa*، α -Pinene گزارش شده است [۳۶]. در تحقیق حاضر در اسانس هر دو رویشگاه، α -Pinene ترکیب شاخص می‌باشد اما اسانس حاصل از منطقه آق‌داغ خلخال مقدار بیشتری α -Pinene نسبت به اسانس شهرستانک دارد. شایان ذکر هست که برای α -Pinene در منابع فوق نیز مقادیر متفاوتی گزارش شده است، که این تفاوت در میزان α -Pinene می‌تواند ناشی از تفاوت محیط رویش باشد. چون یکی از عوامل مهم تعیین کننده نوع ترکیبات تشکیل دهنده اسانس‌های گیاهی و مقدار آن‌ها، شرایط آب و هوایی منطقه رشد گیاه است [۳۸]. بنابراین می‌توان تفاوت در نوع ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس‌های حاصل از برگ درخت ارس دو رویشگاه مورد مطالعه و مقدار آن‌ها به شرایط رویشگاهی (مثل اقلیم) نسبت داد. در نظر گرفتن ویژگی‌های محل رویش و موقعیت گیاه در طبیعت از عمده عواملی است که می‌تواند بر میزان اسانس و مواد مؤثره گیاهان تأثیرگذار باشد. گزارش‌هایی مبنی بر وجود ارتباط بین شرایط رویشگاه بر ترکیبات شیمیایی گیاهان بیان شده است و همبستگی بالایی بین منشاء جغرافیایی گیاهان و ترکیبات مؤثره نشان داده شده است. به‌طور کلی عوامل محیطی محل رویش گیاهان دارویی در سه محور بر آن‌ها تأثیر می‌گذارد: ۱- تأثیر بر مقدار کلی ماده مؤثره گیاهان دارویی، ۲- تأثیر بر عناصر تشکیل دهنده مواد مؤثره و ۳- تأثیر بر مقدار تولید وزن خشک گیاه [۳۹]. در همین راستا، می‌توان به تحقیقاتی اشاره کرد که در آن‌ها تغییر نوع و درصد ترکیبات اصلی اسانس در اکوتیپ‌های مختلف رزماری (*Rosmarinus officinalis*) و مرزه (*Thymus serpyllum*)، سرو پیرو (*Juniperus communis*) و درختچه مورد (*Myrtus communis*) تحت تأثیر ارتفاع از سطح دریا به‌طور جداگانه بررسی شد و نتایج نشان داد که کیفیت و کمیت اسانس‌های گیاهان تأثیرپذیر از شرایط اقلیمی نظیر اختلاف ارتفاع از سطح دریا می‌باشد [۴۱، ۴۰، ۳۹].

۳-۲. بررسی اثر سمیت تنفسی اسانس‌های گیاهی دوگانه روی حشرات مورد مطالعه

آنالیز آماری مربوط به بررسی اثر سمیت تنفسی اسانس‌های گیاهی دوگانه روی حشرات کامل دو گونه شب‌پره هندی و سوسک زرد در جدول‌های ۴ و ۵ نشان داده شده است. شایان ذکر هست که به دلیل نبودن تلفات در تیمار شاهد، مرگ و میر در تیمارها اصلاح نگردید. در آنالیز رگرسیون پروبیت، مثبت بودن ضریب رگرسیونی (Estimate) در اسانس به دست آمده از برگ درختان ارس منطقه شهرستانک (Sig = ۰/۰۰۴ و ۰/۶۱) و منطقه آق‌داغ خلخال (Sig = ۰/۰۰۱ و ۰/۷۴) بیانگر آن است که افزایش دوز اسانس، به طور معنی‌داری به افزایش تلفات شب‌پره هندی منجر می‌شود (جدول ۴ و شکل ۵). براساس نتایج، و با ملاحظه نسبت‌ها و همپوشانی مقادیر حدود اطمینان ۹۵ درصد مشخص شد که LC_{50} در ارس شهرستانک به طور معنی‌داری در غلظت پایین‌تری (۱۱۵/۱۶) نسبت به ارس خلخال (۱۸۲/۲۷) اتفاق می‌افتد (جدول ۴).

جدول ۴. مقادیر محاسبه شده میزان کشندگی (LC_{50}) برای دو اسانس گیاهی مورد بررسی روی حشرات کامل شب‌پره هندی (*Plodia interpunctella*) پس از ۱۸ ساعت

اسانس گیاه	X^2 (df)	Sig.	اشتباه معیار	ضریب رگرسیونی	LC_{50} ($\mu\text{L/L air}$)	محدودیت‌های اطمینان ۹۵	
						بالاترین	کمترین
ارس منطقه شهرستانک کرج	۱/۳۰ (۲)	۰/۰۰۴	۰/۲۱	۰/۶۱	۱۱۵/۱۶	۱۶۷/۹۰	۴۳/۸۴
ارس منطقه خلخال	۰/۲۳ (۲)	۰/۰۰۱	۰/۲۱	۰/۷۴	۱۸۲/۲۷	۱۸۲/۲۶	۱۲۸/۶۲



شکل ۵. تعداد تلفات شب‌پره هندی با افزایش غلظت اسانس برگ ارس رویشگاه‌های خلخال و شهرستانک

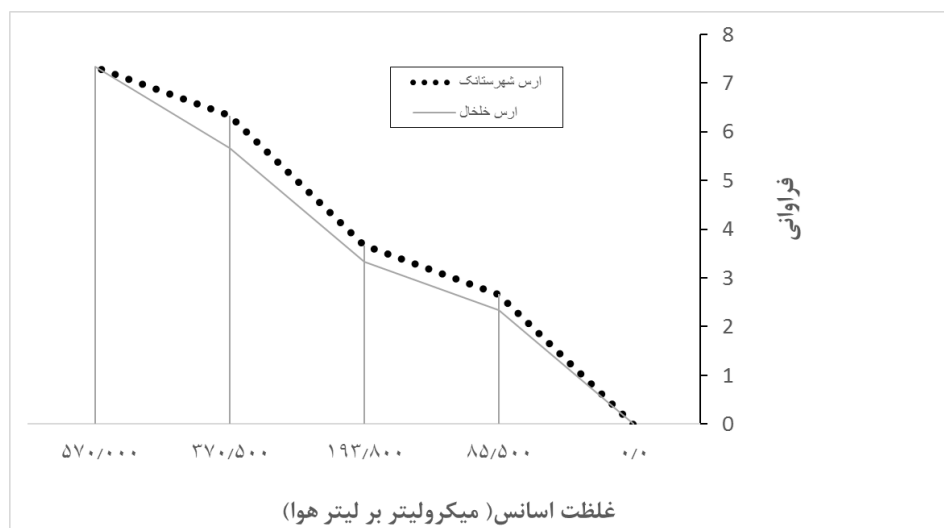
آنالیز رگرسیون پروبیت مربوط به سوسک زرد در جدول ۵ ارائه شده است، نتایج حاکی از مثبت بودن ضریب رگرسیونی (Estimate) در اسانس‌های منطقه شهرستانک (Sig = ۰/۰۰ و ۰/۷۶) و منطقه خلخال (Sig = ۰/۰۰۱ و ۰/۷۱) است و بیانگر این است که افزایش دوز اسانس، به طور معنی‌داری به افزایش تلفات سوسک زرد منجر می‌شود (جدول ۵ و شکل ۶). براساس نتایج، LC_{50} در اسانس به دست آمده از برگ‌های ارس رویشگاه شهرستانک در غلظت پایین‌تری (۲۵۳/۱۶) نسبت به رویشگاه خلخال (۲۷۹/۱۰) اتفاق می‌افتد. اما با ملاحظه نسبت‌ها و همپوشانی مقادیر حدود اطمینان ۹۵ درصد، LC_{50} اسانس‌های مورد نظر برای سوسک زرد نشان داد که اسانس منطقه شهرستانک با اسانس منطقه آق‌داغ اختلاف معنی‌داری ندارد (جدول ۵).

با توجه به نتایج مشخص شد که اسانس به دست آمده از گونه ارس رویشگاه‌های شهرستانک و خلخال باعث مسمومیت تنفسی در شب‌پره هندی و سوسک زرد آرد می‌شود. معمولاً اثر اصلی در حشره‌کشی یا خاصیت بازدارندگی در اسانس را به ترکیب یا شاخص اصلی نسبت می‌دهند. با توجه به نتایج به دست آمده از گونه ارس در دو منطقه (ارتفاعات کرج در استان البرز و

منطقه آق‌داغ هشتجین خلخال) می‌توان گفت که اسانس ارس هر دو منطقه مقادیر بالای آلفا-پینن دارد و از آنجا که مونوترپن‌ها به دلیل وزن مولکولی کمتر نسبت به سایر انواع ترپن‌ها خاصیت تدخینی بالاتری دارند، بنابراین باعث کاهش جمعیت حشرات مورد مطالعه در این پژوهش (حشره سوسک زرد آرد و شب‌پره هندی) شده است [۴۳، ۱، ۴۴]. سمیت تنفسی ترکیبات خالص مونوترپن و نیز اسانس‌های گیاهی دارای این ترکیبات، روی آفات مختلف در منابع علمی دیگر نیز گزارش شده است [۴۵]. به نظر می‌رسد، بسته شدن منافذ تنفسی حشره با ترکیب‌های گیاهی می‌تواند باعث اختلال در تنفس و نتیجه باعث مرگ و میر حشرات می‌شود [۴۶]. از آنجا که در این تحقیق حشرات کامل مورد آزمایش قرار گرفتند و با توجه به نتایج زیست‌سنجی کسب شده در تحقیق حاضر و با عنایت به اینکه اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی دارای خطرات کمتری برای انسان و محیط‌زیست هستند، بنابراین به نظر می‌رسد که اسانس حاصل از برگ درخت ارس می‌تواند به‌عنوان آفت‌کش طبیعی جایگزین مناسبی برای آفت‌کش‌های شیمیایی در مبارزه با حشرات کامل سوسک زرد و شب‌پره هندی باشد. تأکید بر روی واژه حشره کامل از آن جهت می‌باشد که سمیت تنفسی حاصل از مونوترپن در مراحل مختلف زندگی حشرات مورد مطالعه می‌تواند متفاوت باشد [۴۷، ۴۸] و تحقیق حاضر بر روی حشرات کامل سوسک زرد و شب‌پره هندی انجام شده است. هرچند بسیاری از محققان به این نتیجه رسیدند که اثر بازدارندگی عصاره و اسانس گیاهان بر روی حشره کامل بیشتر از لارو حشرات است [۴۹، ۱].

جدول ۵. مقادیر محاسبه شده میزان کشندگی (LC_{50}) برای دو اسانس گیاهی مورد بررسی روی حشرات کامل گونه سوسک زرد آرد (*Tenebrio molitor*) پس از ۱۸ ساعت

اسانس گیاه	X^2 (df)	Sig.	اشتباه معیار	ضریب رگرسیونی	LC_{50} ($\mu\text{l/L air}$)	محدودیت‌های اطمینان ۹۵ درصد
						بالاترین کمترین
ارس منطقه شهرستانک کرج	۰/۷۶ (۲)	۰/۰۰	۰/۱۷	۰/۶۷	۲۵۳/۱۶	۳۸۱/۵۷ ۱۷۰/۴۶
ارس منطقه خلخال	۰/۹۶ (۲)	۰/۰۰	۰/۱۷	۰/۷۱	۲۷۹/۱۰	۴۱۸/۷۴ ۱۹۷/۱۳



شکل ۶. تعداد تلفات سوسک زرد با افزایش غلظت اسانس برگ ارس رویشگاه‌های خلخال و شهرستانک

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که سمیت تدخینی حاصل از اسانس به‌دست آمده از رویشگاه شهرستانک به‌خصوص روی شب‌پره هندی بیشتر می‌باشد (شکل‌های ۵ و ۶)، که این نتیجه احتمالاً به خاطر تفاوت در ترکیب‌های شیمیایی اسانس‌های مورد مطالعه به‌دست آمده است (جدول‌های ۲ و ۳). همان‌طور که قبلاً اشاره شد، ترکیبات *Fenchone*، *p-Cymene*، *Tricyclene*، *Cedrol*، *Thujopsene*، β -*Funebrene*، *Camphor* در اسانس حاصل از برگ‌های ارس جمع‌آوری شده از ارتفاعات البرز وجود دارد، ولی در اسانس به‌دست آمده از برگ ارس‌های رویشگاه خلخال وجود ندارد. سمیت تدخینی بالای اسانس حاصل از برگ

گونه ارس رویشگاه شهرستانک می‌تواند ناشی از سزکوئی ترپنوئید Cedrol باشد [۲۱]. تفاوت در ترکیبات شیمیایی موجود در اسانس حاصل از برگ‌های ارس دو رویشگاه با اقلیم متفاوت می‌تواند از این امر ناشی شود که کیفیت و کمیت متابولیت‌های ثانویه تولید شده در اندام‌های مختلف گیاهان تحت تأثیر عوامل محیطی، اکولوژیک و ژنتیکی می‌باشد [۵۰، ۵۱، ۵۲].

۴. نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این پژوهش بیانگر آن است که در بین ترکیبات به‌دست آمده از اسانس ارس، آلفا-پینن ترکیب اصلی اسانس این گونه در هر دو منطقه جمع‌آوری شده بود. همچنین نتایج نشان داد که اسانس حاصل از برگ گونه ارس از دو منطقه مورد مطالعه باعث سمیت تنفسی روی حشرات بالغ شب‌پره هندی و سوسک زرد آرد می‌شود. پس می‌توان گفت که اسانس ارس پتانسیل استفاده برای کنترل آفات انباری را دارد. بنابراین حفظ توده‌های طبیعی موجود و جنگل‌کاری اختصاصی با گونه ارس برای مصارف دارویی، توصیه می‌شود. جنگل‌کاری از آن جهت اهمیت می‌یابد که این گونه، بسیار کند رشد هست و احتمالاً توده‌های طبیعی موجود برای مصارف دارویی و کنترل آفات انباری کفایت نمی‌کند.

از آن‌جا که ترکیبات حاصل از اسانس برگ درخت ارس در دو رویشگاه تفاوت‌هایی داشت و همین تفاوت‌ها باعث شد سمیت تدخینی اسانس حاصل از رویشگاه شهرستانک به‌دلیل وجود سزکوئی ترپنوئید Cedrol بیشتر باشد، بنابراین مطالعات مشابه در رویشگاه‌های مختلف گونه ارس جهت ارتباط بین شاخص‌های کیفی (ترکیبات شیمیایی اصلی) با عامل‌های محیطی (اقلیم و خاک) توصیه می‌شود.

۵. منابع

- [1] Labbafi, M.R., Ahvazi, M., Khalighi-Sigaroodi, F., Khalaj, H., Ahmadian, S., Tajabadi, F., Khani, M., & Amini, S.H. (2021). Essential oil bioactivity evaluation of the different populations of *Cupressus* against adult rice weevil (*Sitophilus oryzae* L.). *Journal of Medicinal Plants*, 20(77): 79-92.
- [2] Ramzi, S., Seraji, A., Azadi Gonbad, R., Kimia Mirhaghparast, S., Mojib Haghghadam, Z., & Haghghat, S. H. (2018). Toxicity of *Artemisia annua* (Asteraceae) essential oil on the tea mealy bug, *Pseudococcus viburni* Sigornet (Hemiptera: Pseudococcidae). *Phytopathology and Plant Protection*, 27(2): 1-16.
- [3] Ziaee, M., (2014). The effects of topical application of two essential oils against *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Crop Protection*, 34(2): 589-595.
- [4] Mwine, T. J., Van Damme, P., Hastilestari, B.R., & Papenbrock, J. (2013). *Euphorbia triucalli* L. (Euphorbiaceae): the miracle tree: current status of knowledge. African natural plant products, volume II: discoveries and challenges in chemistry. *Health and Nutrition*, 1127(1): 4-17.
- [5] Zuzarte, M., Gonçalves, M.J., Cavaleiro, C., Cruz, M.T., Benzarti, A., Marongiu, B., Maxia, A., Piras, A., & Salgueiro, L. (2013). Antifungal and anti-inflammatory potential of *Lavandula stoechas* and *Thymus herba-barona* essential oils. *Industrial Crops and Products*, 44(1): 97-103.
- [6] Nazemi Rafih, J., & Moharrampour, S. (2008). Repellency of *Nerium oleander* L., *Lavandula officinalis* L. and *Ferula assafoetida* L. extracts on *Tribolium castaneum* (Herbst). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 23(4): 443-452. (In Persian)
- [7] Moharrampour, S., Nazemi Rafieh, J., Morovati, M., Talebi, A.A., & Fathipour, Y. (2003). Effectiveness of extracts of *Nerium oleander*, *Lavandula officinalis* and *Ferula assafoetida* on nutritional indices of *Tribolium castaneum* adults. *Journal of Entomological Society of Iran*, 23(1): 69-89. (In Persian)
- [8] Nerio, L.S., Olivero-Verbel, J., & Stashenko, E.E. (2009). Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. (Coleoptera). *Journal of Stored Products Research*, 45(3): 212-219.
- [9] Ebadollahi, A., Rahimi-Nasrabadi, M., Batooli, H., & Geranmayeh, J. (2013). Evaluation of the insecticidal activities of three eucalyptus species cultivated in Iran, against, *Hyphantria cunea* Drury (Lepidoptera: Arctiidae). *Journal of Plant Protection Research*, 53(4): 347-352.

- [10] Pahlavan Yali, M., & Mohammadi Anaii, M. (2017). Studying chemical compounds of *Melia azedarach* L. fruit and the insecticidal effect of extract & powder's on *Tribolium castaneum* Herbst (Col. Tenebrionidae). *Journal of Biosafety*, 9(4): 67-77.
- [11] Hosseinzadeh, J., Farazmand, H., & Karimpou, Y. (2014). Insecticidal effects of *Thuja occidentalis* L. essential oil on adults of *Lasioderma serricornis* F. (Col.: Anobiidae) under laboratory conditions. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plant*, 30(1): 123-133.
- [12] Bande-Borujeni, S., Zandi-Sohani, N., & Ramezani, L. (2016). Chemical composition and insecticidal effects of essential oil from *Citrus aurantium* L. leaves on three major stored product pests. *Plant Protection Scientific Journal of Agriculture*, 38(4): 23-32.
- [13] Nenaah, G.E. (2014). Chemical composition, toxicity and growth inhibitory activities of essential oils of three *Achillea* species and their nano-emulsions against *Tribolium castaneum* (Herbst). *Industrial Crops and Products*, 53(2): 252-260.
- [14] Tripathi, A.K., Prajapati, V., Aggarwal, K.K., & Kumar, S. (2001). Toxicity, feeding deterrence, and effect of activity of 1, 8-cineole from *Artemisia annua* on progeny production of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Economic Entomology*, 94: 979-983.
- [15] Fontenot, E.A., Arthur, F.H., Nechols, J.R., & Throne, J.E. (2012). Using a population growth model to simulate response of *Plodia interpunctella* Hübner to temperature and diet. *Journal of Pest Science*, 85(2): 163-167.
- [16] Plata-Rueda, A., Zaniccio, J.C., Serrão, J.E., & Martínez, L.C. (2021). Origanum vulgare Essential Oil against *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae): Composition, Insecticidal Activity, and Behavioral Response. *Journal of Plants*, 10(3): 2513-2526.
- [17] Sadeghi, R., Mirzaei, M., Ebadollahi, A., Jamshidnia, A., & Ghorbani Javid, M. (2022). Effect of Saffron Petal Extract on the Mortality and Enzymatic Changes of the Larvae of Indian Meal Moth, *Plodia interpunctella* (Hübner). *Journal of Crops Improvement*, 25(1): 197-208. (In Persian)
- [18] Golestani, Z., Moravej, G.H., Azizi Arani, M., & Hatefi, S. (2011). Fumigant Toxicity of the Essential Oils from *Lavandula angustifolia* (Mill) and *Zataria multiflora* (Boiss) on Cowpea Weevil, *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Plant Protection*, 25(3): 286-295. (In Persian)
- [19] Hesabi, A., Alavi, S.J., & Esmailzadeh, O. (2019). Studying the interaction between English yew (*Taxus baccata* L.) adult trees and its regeneration in Afratakhteh Forest Reserve, Golestan Province. *Iranian Journal of Forest*, 11(2): 165-177. (In Persian)
- [20] Farjon, A. (2001). World Checklist and Bibliography of Conifers, ed. 2: 1-309. The Royal Botanic Gardens, Kew
- [21] Rostami Kia, Y., & Zabiri, M. (2011). Investigating the structure of juniper stands (*Juniperus excelsa* M.Bieb.) in the Kandıraq Khalkhal forest. *Researches on Wood and Forest Science and Technology*, 19 (4): 151-162. (In Persian)
- [22] Doganoglu, O., Gezer, A., & Yucedag, C. (2006). Goller BolgesiYenişarbademli yoresi'nin onemli bazı tibbi ve aromatik bitki taksonlari üzerine arařtırmalar. *Suleyman Demirel Universitesi Fen Bilimleri Enstitusu Dergisi*, 10(1): 66-73.
- [23] Moein, M., Hatam, G., Taghavi-Moghadam, R., & Zarshenas, M.M. (2017). Antileishmanial activities of Greek Juniper (*Juniperus excelsa* M.Bieb.) against *Leishmania major* Promastigotes. *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*, 22(1): 31-36.
- [24] Zandi, N., Hatami, S.H., & Khodadadzadeh, H. (2019). Chemical compounds and insecticidal effect of juniper plant on whole insects of the four-spotted legume beetle. The second international conference and the sixth national conference on organic and conventional agriculture. Ardebil, Iran. (In Persian)
- [25] Grulova, D., Baranová, B., Sedlak, V., De Martino, L., Zheljzakov, V.D., Konečná, M., Poráčová, J., Caputo, L., & De Feo, V. (2022). *Juniperus horizontalis* Moench: Chemical Composition, Herbicidal and Insecticidal Activities of Its Essential Oil and of Its Main Component, Sabinene. *Journal of Molecules*, 27(23): 8408-8421.
- [26] Martínez, L.C., Plata-Rueda, A., Colares, H.C., Campos, J.M., Dos Santos, M.H., Fernandes, F.L., Serrão, J.E., & Zaniccio, J.C. (2018). Toxic effects of two essential oils and their constituents on the mealworm beetle, *Tenebrio molitor*. *Journal of Bulletin of Entomological Research*, 108(1): 716-725.

- [27] Kouhjeni-Gorji, M., (2023). Investigation of the efficacy of three botanical insecticides, Neem Azal® , Ruy Agro®, and Bio1®, on the boxwood moth *Cydalima perspectalis* Walker (Lep. Crambidae). *Iranian Journal of Forest and Range Protection Research*, 21(1): 187-199
- [28] Omid Beigi, R. (1996). Producing and processing of medicinal plant. Tarahan Nashr Publication
- [29] Omid Beigi, R. (2000). The production and processing of medicinal plants. Fekr Ruose Publication, Iran.
- [30] Adams, R.P. (2001). Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectrometry. Allured Publishing Corporation Carol Stream, IL.
- [31] McLafferty, F.W., & Stauffer, D.B. (1989). The Wiley / Nbs registry of mass spectral data. New York: Wiley. 46 p.
- [32] Sait S.M., Begon M., Thompson D.J., Harvey J.A., & Hails R.S. (1997). Factors affecting host selection in an insect host-parasitoid interactions. *Ecological Entomology*, 37(2): 225-230.
- [33] Sikder, S., Biswas, P., Hazra, P., Akhtar, S., Chattopadhyay, A., Badigannavar, A.M., & D'Souza, S.F. (2013). Induction of mutation in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) by gamma irradiation and EMS. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 73(4): 392-399.
- [34] Asgari, A. (2002). An Introduction to categorical data Analysis, John Wiley, Newyork. 38 p.
- [35] Ayatollahi, S.M.T., Pour Ahmad, S., Vakili, M.A., & Heidari, T., (2005). Probit model and its application in medical data. *Journal of Statistical Thought*, 10(1): 36-46. (In Persian)
- [36] Adams, R. P. (1990). *Juniperus procera* of East Africa: Volatile leaf oil composition and putative relationship to *J. excelsa*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 18(4): 207-210
- [37] Ehsani, A., Akbari, K., Teimouri, M., Ebrahimzadeh, M., & Khadem, A.R. (2012). Investigating the components of essential oil and the antibacterial effect of juniper leaves and fruits. *Iran's Medicinal and Aromatic Plants Research Quarterly*, 28(3): 509-522. (In Persian)
- [38] Karalija, E., Dahija, S., Tarkowski, P., & Čavar Zeljković, S. (2022). Influence of Climate-Related Environmental Stresses on Economically Important Essential Oils of Mediterranean *Salvia sp*. *Frontiers of Plant Science*, 13(1): 1-10.
- [39] Rostaefar, A., Hassani, A., & Sefidkon, F., (2017). Effect of altitude on essential oil composition in different gender of *Juniperus communis ssp. hemisphaerica* growing wild in Amol. *Quarterly Journal of Ecophytochemistry Medicinal Plant*, 21(1): 1–10.
- [40] Amir Azadi, Z., Pilevar, B., Meshkatsadat, M.H., karamian, R., Alirezaii, M., & Khunsari, A., (2013). The effect of the main ecological factors on the yield of the essential oil of the tree (*Myrtus communis* L.) in different forest habitats of Lorestan Province. Yafteh, *Quarterly Research Journal of Lorestan University of Medical Science*. 14 (3): 103–111.
- [41] Mohammad-nejad, S.M., Moradi, H., Ghanbari, A., & Akbarzadeh, M. 2006. A Study on the Effect of Height on the Quality and Quantity of the Active Ingredients of the Essential Oil of (*Rosmarinus officinalis* L.) which is Cultivated in two areas of Mazandaran Province. *Quarterly Journal of Ecophytochemistry of Medicinal Plants*, 1(2): 36-42.
- [42] Jamshidi, A.H., Amin zadeh, M., Azarnivand, H. and Abedi, M. 2006. The Effect of Height on the Quality and Quantity of the Essence of *Thymus kotschyanus*, (a case study in Damavand area, tar lake basin). *Journal of Medicinal Plants*, 2(18):17-22.
- [43] Boukhris, M., Regane, G.H., Yangui, T.H., Sayadi, S., & Bouaziz, M. (2012). Chemical Composition and Biological Potential of Essential Oil from Tunisian *Cupressus sempervirens* L. *Journal of Arid Land Studies*, 22(1): 329-332.
- [44] Singh, A., & Dwivedi, P. (2018). Methyl-jasmonate and salicylic acid as potent elicitors for secondary metabolite production in medicinal plants: A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7: 750-757.
- [45] Mahfuz, I., & Khalequzzaman, M. (2007). Contact and Fumigant Toxicity of Essential Oils against *Callosobruchus maculatus*. *University Journal of zoology, Rajshahi University*, 26(2): 63-66.

- [46] Ileke, K.D., & Ogungbite, O.C. (2014). Entomocidal Activity of Powders and Extracts of Four Medicinal Plants against *Sitophilus oryzae* (L), *Oryzaephilus mercator* (Faur) and *Ryzopertha dominica* (Fabr.). *Jordan Journal of Biological Sciences*, 7(1): 57-62.
- [47] Rafiei-Kahroudi, Z. (2010). Evaluation of Insecticidal effect of essential oils and multiple extracts of medicinal plants on some biological properties of *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 25(1): 124-142. (In Persian)
- [48] Bakhtiari, M., Rafiei Karahroudi, Z., & Sanatgar, E. (2013). The effect of contact and respiratory repellency of four medicinal plant extract and powders on adults and last instar larvae of *Plodia interpunctella* (Hübner). *Journal of Entomological Research*, 7(1): 17-27. (In Persian)
- [49] Mazdaee, A., Hassani, M. R., & Sheibani Tezerj, Z. (2019). Repellency effect of essential oil, plant extract and powder of seed of *Ferula assafoetida* on *Plodia interpunctella* (Lep: Pyralidae). *Journal of Entomological Research*, 11(1): 43-53. (In Persian)
- [50] Lei, H., Wang, Y., Liang, F., Su, W., Feng, Y., Guo, X. & Wang, N. (2010). Composition and variability of essential oils of *Platycladus orientalis* growing in China. *Biochemical Systematics and Ecology*, 38: 1000-1006.
- [51] Paolini, J., Barboni, T., Desjobert, J.M., Djabou, N., Muselli, A., & Costa, J. (2010). Chemical composition, intraspecies variation and seasonal variation in essential oils of *Calendula arvensis* L. *Biochemical Systematic and Ecology*, 38: 865-874.
- [52] Motazedian, N., Ravan, S., & Bandani, A.R. (2012). Toxicity and repellency effects of three essential oils against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14: 275-284.