تأثیر ترکیبات زیستی و غیرزیستی روی صفات بیوشیمیایی برگ پسته

محمد کاراموزیان[۱]، مریم پهلوان یلی[۱*]، کمال احمدی[۱]

تاریخ ارسال: ۱۴۰۰/۰۳/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۰۶

چکیده

پسته با نام علمی *Pistacia vera* L. به‌عنوان یکی از مهم‌ترین محصولات باغی و سومین کالای صادراتی ایران از اهمیت اقتصادی ویژه‌ای در بین محصولات کشاورزی برخوردار است. در این پژوهش تأثیر محلول‌پاشی پنج تیمار اسپیروتترامات (Movento®)، اسید سالیسیلیک، عصاره متانولی بذر شوید، اسپیروتترامات+ اسید سالسیلیک، اسپیروتترامات+ عصاره متانولی بذر شوید و آب مقطر به عنوان شاهد روی ترکیبات ثانویه برگ درختان پسته در منطقه ماهان بررسی شد. نوع متابولیت‌های ثانویه برگ پسته با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC-MASS) تعیین شد. بر اساس نتایج به دست آمده از آنالیز، بیشترین درصد متابولیت‌های ثانویه فعال و مهم در عصاره متانولی بذر شوید برگ گیاه پسته مشاهده شد. از ترکیبات مهم آن دی‌لاپی‌ال، Dillapiole، (۳۴/۱۴ درصد)، دی‌ال‌لیمونن، dl-Limonene، (۲۴/۵۵ درصد) و کاروون، Carvone، (۳۵/۱۳ درصد) بودند. دی‌لاپی‌ال، از سری ترکیبات دی‌ال و از مشتقات آلکالوییدها بوده که به‌شدت خصوصیت ضد قارچی و ضد لارو حشرات دارد. دی‌ال-لیمونن از سری ترکیبات مونوترپن حلقوی است که دارای خاصیت حشره‌کشی می‌باشد و ترکیب کاروون به دو صورت سیس‌دهیدرو کاروون، CIS-Dihydrocarvone، و دی‌هیدرو کاروون، Dihydrocarvone، می‌باشد. کاروون هم از سری ترکیبات ترپنویید می‌باشد و به شدت خصوصیت آفت‌کشی دارد. با توجه به این‌که متابولیت‌های ثانویه گیاهی نقش دفاعی مهمی در برابر تنش‌های زیستی دارند و به‌عنوان یک منبع آنتی‌بیوتیکی عمل می‌کنند؛ بر اساس نتاج پژوهشی حاضر، ترکیبات گیاهی مانند عصاره بذر شوید همراه با آفتکش‌های مصنوعی و یا به تنهایی می‌توانند به‌عنوان یک راه‌کار بالقوه، درکنترل آفات مورد توجه قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: آلکالوییید، پسته، سم، متابولیت ثانویه

[۱] گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران
[*] نویسنده مسئول: pahlavanm@uk.ac.ir

مقدمه

در کشاورزی مدرن حفاظت از گیاهان به‌وسیله‌ی آفت‌کش‌های شیمیایی یک فاکتور اساسی در افزایش تولید به‌شمار می‌آید؛ با این حال، محدودیت‌ها و خطرات استفاده بیش از اندازه این آفت‌کش‌ها در طبیعت نیز آشکار شده است (Gerling, 1990). در سال‌های اخیر، به استفاده از ترکیبات استخراج شده از گیاهان و الیسیتورهای غیرزیستی مانند سالیسیلیک اسید به‌عنوان جایگزین آفت‌کش‌های شیمیایی در کنترل آفات توجه زیادی شده است (Pascual-villalobos & Robledo, 1998). در حقیقت گیاهان در مسیر تکامل به یک سیستم دفاعی کارآمد در مقابل بیشتر حشرات دست یافته‌اند، به طوری که برخی از گیاهان به یک منبع غنی از ترکیبات با خاصیت زیست‌کشی تبدیل شده‌اند . برای مثال می‌توان به ترکیباتی با خاصیت سمی (Pavela, 2006)، ضدتغذیه‌ای (Wheeler & Isman, 2001; Pavela, 2004a)، محدود کننده رشد حشرات (Akhtar & Isman, 2004; Pavela, 2004b; Pavela, 2005) و محدودکننده باروری و تولید مثل حشرات (Dimock & Renwick, 1991; Zhao *et al*., 1998) اشاره نمود. با این حال امروزه در سرتاسر جهان تمایل برای پیدا کردن گیاهان جدید که دارای منابع غنی از حشره کش‌های بیولوژیک هستند افزایش یافته است. این اقدام گامی مؤثر در جهت حفظ و سلامت محیط زیست است.

گیاه شوید با نام علمی *Anethum graveolens* L. از تیره چتریان (Apiaceae) می‌باشد. بر اساس مطالعات صورت گرفته، مقدار ترکیبات مؤثر موجود در شوید از شروع ساقه‌دهی به تدریج افزایش یافته و تا مرحله گل‌دهی به حداکثر می‌رسد و از این مرحله به بعد به‌تدریج از میزان آن کاسته می‌شود (Hornok, 1980). مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که علی‌رغم این‌که میزان ترکیبات ثانویه شوید کشت شده در ایران کمتر از سایر کشورها است ولی این اسانس از کیفیت بالاتری برخوردار می‌باشد. میزان فلاندرن، کاروون و لیمونن در شوید ایران بالاتر از شوید سایر کشورها است (سفیدکن، ۱۳۸۰؛ Mahram *et al*., 1992; Houpalahti *et al*., 1998). بیش از ۹۵ درصد اسانس شوید ایران را مجموع ترکیبات آلفا- فلاندرن، لیمونن، دی‌ال‌اتر، کاروون و ترانس دی‌هیدرو اروون تشکیل می‌دهند (سفیدکن، ۱۳۸۰). مهم‌ترین ترکیبات موجود در اسانس حاصل از پیکره رویشی شوید، دی‌کاروون و آلفا- فلاندرن و مهم‌ترین ترکیبات موجود در اسانس حاصل از بذر کاملاً رسیده، دی‌کاروون و لیمونن می‌باشد (Duke, 2001). دانه شوید دارای ۱/۲ تا ۷/۷ درصد اسانس دی‌لانوزید،کومارین،کامپفرول، ویسنین، میریستیسین و سایرفلاونوییدها، اسیدهای فنلی، پروتئین، چربی و غیره است. این گیاه غنی از ترکیبات فلاونوئیدی نیز می‌باشد (Duke, 2001).

اسید سالسیلیک یا ارتوهیدروکسی بنزوئیک اسید به گروهی از ترکیبات فنلی تعلق دارد (Popova *et al*., 2003) و به‌وسیله میکروارگانیسم‌ها و سلول‌های ریشه ساخته شده و به شکل‌های مختلف در هوا، سطح برگ و اطراف ریشه وجود دارد. اسید سالسیلیک تولید شده، در تنظیم مراحل مختلف رشد گیاه مانند جذب یون، فتوسنتز و تکامل گیاه نقش مهمی ایفا می‌کند (El-Tayeb, 2005). اسید سالسیلیک تولید شده در ریزوسفر برخی گیاهان، عمل آللوپاتی از خود نشان می‌دهند و از این طریق مانع از رشد گیاهان اطراف می‌شوند (Raskin, 1992). مطالعات انجام شده نشان می‌دهد که مهم‌ترین عمل اسید سالسیلیک، پاسخ و مقاومت نسبت به برخی تنش‌ها از جمله فلزات سنگین، گرما، سرما، خشکی، شوری و بیماری‌های گیاهی می‌باشد و این ترکیب توانسته تا حدود زیادی مشکلات ناشی از این تنش‌ها را کاهش دهد (Date *et al.*, 1998; Senaranta *et al*., 2002; Davis, 2005; El-Tayeb, 2005; Choudhury *et al*., 2006; Tasgin *et al.*, 2006).

حشره‌کش اسپیروتترامات از جمله مشتقات اسید تترامیک است. این حشره‌کش در ساخته شدن چربی در بدن حشرات، از طریق کاهش فعالیت استیل کوآنزیم A اختلال ایجاد کرده (Nauen *et al*., 2008) و این شرایط کاهش قدرت باروری و در نهایت مرگ حشره را در پی خواهد داشت (Hodges *et al*., 2012). این ترکیب بعد از ورود به بافت گیاهی هیدرولیز شده و به صورت الکلی درآمده و تمام ویژگی‌های لازم یک حشره‌کش سیستمیک فعال در آوندهای آبکش را دارا خواهد بود (Mohapatra *et al*., 2012). به همین دلیل تاثیر این آفت‌کش روی آفات مکنده به‌صورت تأخیری گزارش شده است (Alston & Drost, 2008). استفاده از آفت‌کش اسپیروتترامات برای کنترل تریپس غربی گل در استرالیا به ثبت رسیده است. در ایران نیز این آفت‌کش با فرمولاسیون SC_{10} برای کنترل شیمیایی پسیل پسته با غلظت مصرفی نیم در هزار توصیه و ثبت شده است و دوره کارنس آن برای محصول پسته هفت روز گزارش شده است (شیخی گرجان و همکاران، ۱۳۹۴). اسپیروتترامات جزو گروه سموم کتوانول‌های حلقوی (cyclic ketoenol) طبقه‌بندی می‌شود. این سم از سموم سیستمیک است و تقریبا در همه‌ی بافت‌های گیاهی از جمله آوند آبکش، آوند چوبی، ساقه، برگ و ریشه گسترش یافته و از سنتز چربی‌ها در بدن حشرات جلوگیری می‌کند (Rouhani *et al.,* 2013).

متابولیت‌های ثانویه ترکیباتی هستند که در برخی از گروه‌های تاکسونومیکی وجود دارند. این ترکیبات برای زنده ماندن گیاه ضروری نیستند ولی موجود زنده برای اعمال واکنش در برابر محیط به آن‌ها نیاز دارد و تامین‌کننده بقای موجود در محیط زیست هستند. این ترکیبات نقش مهمی در دفاع گیاهان در برابر حشراتی که از گیاهان تغذیه می‌کنند، دارند و دارای خاصیت دورکنندگی و بازدارنده تخم‌ریزی و غیره

می‌باشند (Talukder & Howse, 1993; Xie *et al*., 1995; Bourgaud *et al*., 2001).

به‌طور کلی می‌توان مسیر سنتزی و ساختار شیمیایی متابولیت‌های ثانویه را به چهار گروه تقسیم‌بندی کرد: ۱- ترپن‌ها و استروئیدها، ۲- فنولیک‌ها شامل فلاونوئیدها، تانن و لیگنین، ۳- ترکیبات نیتروزن‌دار شامل آلکالوئیدها و گلیکوزیدها، ۴- سایر متابولیت‌های ثانویه شامل مواد تلخ، موسیلاژها، ویتامین‌ها، تانن‌ها و اسید سالسیلیک که به‌دلیل ناهماهنگی‌ساختار شیمیایی آن‌ها در گروه‌های قبلی قرار نمی‌گیرند (Bourgaud *et al*., 2001). به‌طور کلی می‌توان چنین گفت که ترکیبات فنلی موجود در گیاه نقش مهمی را به‌عنوان ترکیبات دفاعی بازی کرده و اهمیت زیادی در بقای گیاه در محیط دارند (Puupponen-Pimiä *et al*., 2005).

آثار و عواقب آفتکش‌های شیمیایی همچون افزایش آلودگی‌های زیست‌محیطی و اثرات باقیمانده سموم شیمیایی روی محصولات کشاورزی، مقاومت حشرات به آفتکش‌ها، از بین رفتن حشرات مفید و به‌طور کلی به هم خوردن تعادل طبیعت و نیاز افزاینده بشر، بسیاری از متخصصان را بر آن داشته است که به تأمین راه حل‌های مناسب بپردازند. در این رابطه طی تحقیقات انجام شده، متخصصان سعی در استفاده از سایر روش‌های مبارزه با آفات نظیر مبارزه بیولوژیک، ایجاد گیاهان مقاوم به آفات و بیماری‌های گیاهی، کنترل هورمونی و فرمونی و استفاده از حشره‌کش‌های گیاهی نموده‌اند. امروزه دورنمایی وجود دارد که حشره‌کش‌ها را بتوان از منابع موجود در طبیعت به‌دست آورد (Isman, 1996; Tripathi *et al*, 2009; Babri *et al*. 2012).

در تحقیق انجام شده توسط کاراموزیان و همکاران (۱۴۰۰)، طی دو سال پاشش، تیمار عصاره متانولی بذر شوید در تلفیق با اسپیروتترامات (SP+MD) بیشترین تأثیر را در کنترل جمعیت پوره‌های پسیل پسته داشت. همچنین مقدار ترکیبات فنل و فلاونوئید کل نیز در برگ درختان پسته تیمار شده با ترکیبات مورد مطالعه، اختلاف معنی‌داری نشان دادند. به‌طوری که بالاترین سطح فنل کل (۱/۹۴ ± ۷۵/۴۸) در تیمار اسپیروتترامات+ عصاره متانولی بذر شوید (SP+MD) به‌دست آمد (کاراموزیان و همکاران، ۱۴۰۰). حال با توجه به مطالب فوق الذکر از مهم‌ترین اهداف این مطالعه، تعیین متابولیت‌های ثانویه و ارزیابی و تأثیر واکنش گیاه پسته نسبت به محلول‌پاشی گیاه با ترکیبات زیستی و شیمیایی می باشد که درمدیریت تلفیقی آفات پسته و کاهش هزینه برای کشاورزان می‌تواند مؤثر باشد.

مواد و روش‌ها

الف- عصاره‌گیری بذر شوید با استفاده از دستگاه اولتراسونیک

جهت تهیه عصاره بذر شوید از دستگاه حمام اولتراسونیک مدل (Ultrasonic Cleaner) C250T استفاده شد. بدین منظور، نمونه‌های گیاهی (بذر شوید) با استفاده از دستگاه آسیاب برقی به‌طور کامل پودر شدند. برای عصاره‌گیری، مقدار ۵۰ گرم از پودر گیاهی در داخل کیسه دستگاه سوکسله ریخته شد و مخزن حلال دستگاه نیز با ۵۰۰ میلی لیتر از محلول متانول (شرکت مرک آلمان، درجه خلوص ۹۵٪) پر گردید (Vogel *et al*. 1978). پس از گذشت چهار ساعت، عصاره استحصالی دستگاه با استفاده از کاغذ صافی واتمن صاف و با دور ۱۲۰۰۰ (دور بر دقیقه) در مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس مایع رویی به‌وسیله‌ی دستگاه تبخیر کننده دوار تحت فشار خلاء تا حد امکان تغلیظ و آن‌گاه جهت خشک شدن، داخل تشتک‌های پتری استریل در دستگاه انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شد. عصاره خام خشک شده درون پتری‌ها با استفاده از تیغ اسکالپل زیر هود تراشیده و سپس به ظرف‌های مجزای درپوش‌دار استریل منتقل و در دمای ۲۲- درجه سلسیوس، جهت انجام آزمایش‌ها نگهداری شد (Mahdavi Arab *et al.,* 2008). در این پژوهش تأثیر محلول‌پاشی پنج تیمار شامل مونتو (Spirotetramate 10%SC)، اسید سالیسیلیک (69727, Merck, >99 %,)، عصاره بذر شوید، اسپیروتترامات+ اسید سالسیلیک، اسپیروتترامات+ عصاره متانولی بذر شوید و آب مقطر به‌عنوان شاهد روی درختان پسته بالغ ۲۵ تا ۳۰ ساله پسته رقم فندقی طی دو سال متوالی (۹۷-۹۹) در منطقه ماهان بررسی شد. در تیمارهای تلفیقی پاشش‌ها، یک تیمار صبح زود، قبل از طلوع آفتاب و تیمار دیگری غروب آفتاب همان روز پاشش شد. غلظت تیمارهای مورد آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است.

ب- عصاره‌گیری برگ پسته جهت تعیین متابولیت‌های ثانویه با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی متصل به طیف سنج جرمی (GC-MASS)

به‌منظور عصاره‌گیری در این تحقیق از روش ماسراسیون استفاده شد (Tachakittirungrod *et al.*,

جدول ۱- نام و غلظت نهایی ترکیبات مورد نیاز جهت انجام آزمایش.

تیمار	غلظت
اسپیروتترامات	۰/۵ در هزار
اسید سالیسیلیک	۰/۱۳ گرم در لیتر
عصاره متانولی بذر شوید	۵۰ میکرولیتر در لیتر
اسید سالیسیلیک + اسپیروتترامات	
اسپیروتترامات + عصاره متانولی بذر شوید	
شاهد	

2007). ماسراسیون از لغت لاتین Macerte به معنای غوطه‌ور شدن گرفته شده است، که به این فرآیند خیساندن نیز می‌گویند. جهت انجام آزمایش، ابتدا برگ‌های محلول‌پاشی شده به‌وسیله هر تیمار، ۴۸ ساعت بعد از پاشش از گیاه جدا و پس از شست و شو با آب مقطر در محل تاریکی جهت خشک شدن قرار گرفت. سپس برگ‌های خشک شده توسط هاون چینی کوبیده و با نسبت ۱:۲ با متانول به‌عنوان حلال خیسانده شد. در این روش، عصاره به‌دست آمده داخل ارلن ریخته و در ظرف محکم با فویل آلومینیومی پوشانده شد. ترکیب به‌دست آمده ۴ روز متوالی روی شیکر قرار گرفت و در طول این ۴ روز نیز گاهی توسط همزن شیشه‌ای زیر و رو شد. سپس عصاره متانولی توسط کاغذ واتمن صاف و محلول زیر صافی برای تزریق به دستگاه GC-MASS مورد استفاده قرار گرفت. آنالیز ترکیبات شیمیایی آن نیز توسط دستگاه گاز کروماتوگراف متصل به طیف نگار جرمی (GC/MASS) در آزمایشگاه شیمی دانشگاه آزاد اسلامی کرمان صورت گرفت. دستگاه GC/MASS از نوع Agilent (آمریکا، مدل 5977B GC/MSD) بوده و ویژگی‌های آن شامل ستون موئینه HP5 به طول ۳۰ متر و قطعه داخلی ۲۵۰ میکرومتر و ضخامت لایه داخلی ۰/۲۵ میکرومتر، با برنامه دمایی ۵۰ تا ۲۸۰ درجه سلسیوس می‌باشد. دمای اتاقک تزریق، ۲۶۰ درجه سلسیوس و سرعت جریان گاز هلیوم ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه است. همچنین، طیف سنج جرمی به روش یونیزاسیون الکترونی (EI) با انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت و دمای منبع یونیزاسیون ۲۵۰ درجه سلسیوس انجام شد.

نتایج و بحث

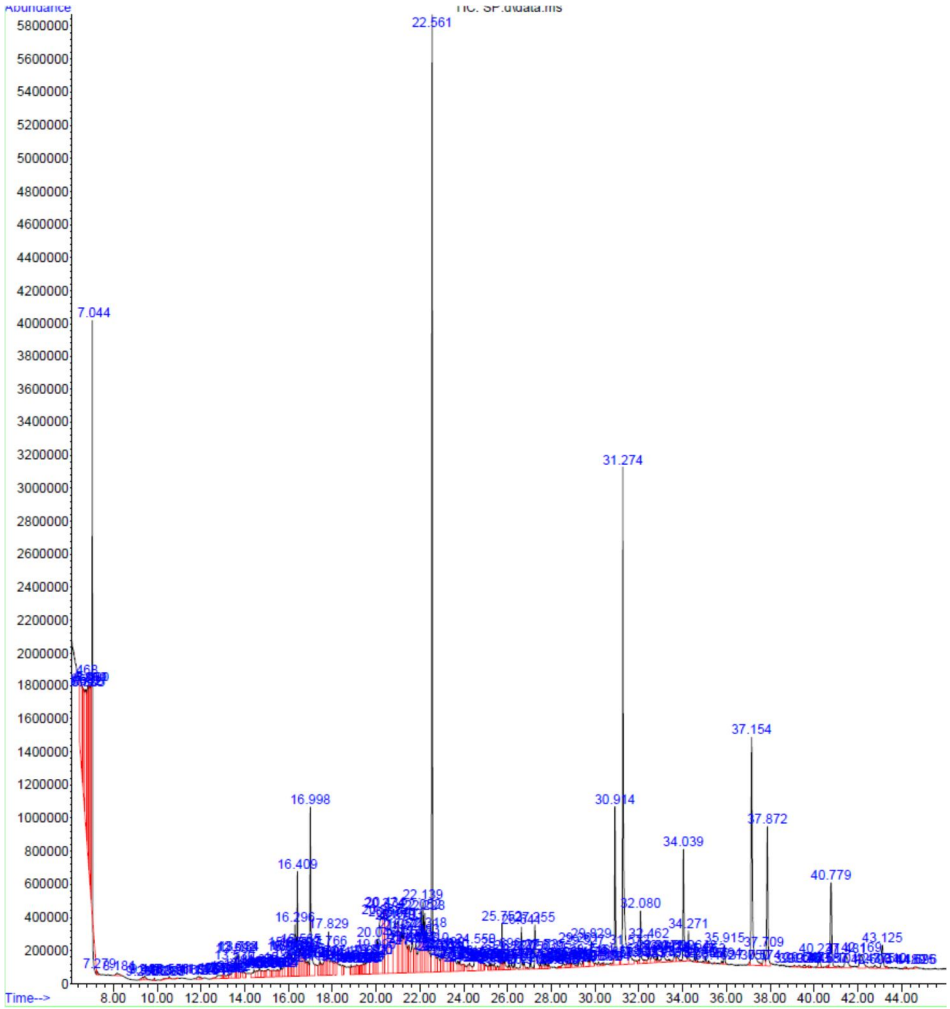
بررسی ترکیبات ثانویه برگ پسته در تیمارهای اسپیروتترامات، اسپیروتترامات+ اسید سالسیلیک، اسپیروتترامات+ عصاره متانولی بذر شوید، سالیسیلیک اسید و شاهد با استفاده از کروماتوگرافی

الف- تیمار اسپیروتترامات

بر اساس نتایج به دست آمده از آنالیز، بیش‌ترین میزان متابولیت‌های ثانویه برگ پسته در گیاه تیمار شده با اسپیروتترامات مربوط به ترکیبات ۱ و ۲ و ۳-بنزن‌تری‌ال و دی‌لاپی‌ال به ترتیب ۱۳/۴۱ و ۱۲/۵۹ درصد بود. ۱، ۲ و ۳ بنزن تری‌ال یا Pyrogallol (۱۳/۴۱ درصد) از تانن به‌دست می‌آید و از سری ترکیبات پلی‌فنلی می‌باشد و دارای خصلت آفت‌کشی بوده و از تکثیر حشرات جلوگیری می‌کند. درحقیقیت نوعی متابولیت گیاهی است که در طی یک واکنش متابولیک در گیاهان یوکاریوتی تولید می‌شود. ترکیب Dillapiole (۱۲/۵۹ درصد) از سری ترکیبات دی‌ال بوده و از گروه آلکالوییدها می‌باشد. این ترکیب شیمیایی به‌شدت خاصیت ضدقارچی و ضدمیکروبی داشته و روی لارو حشرات هم تأثیر کشندگی دارد (جدول ۲، شکل ۱).

جدول ۲- متابولیت‌های ثانویه در تیمار اسپیروتترامات.

ردیف	زمان خروج پیک	ماده	درصد ماده
-۱	۱۵/۸۰۷	CIS-Dihydrocarvone	۳/۷۹
-۲	۱۶/۵۶۲	2-Cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methyletheynyl)-, (s)	۳/۸۶
-۳	۲۰/۲۷۳	1,2,3-Benzenetriol*	۱۳/۴۱
-۴	۲۱/۹۸۳	Dillapiole*	۱۲/۵۹
-۵	۳۰/۹۱۵	Phenol,3-pentadecyl	۷/۲
-۶	۳۱/۲۷۰	Carbamic acid, N-phenyl-, 2-methylphenyl ester	۵/۷۲



شکل ۱- کروماتوگرام GC-Mass عصاره متانولی برگ پسته در تیمار اسپیروتترامات.

ب- تیمار تلفیق اسپیروتترامات و اسید سالسیلیک

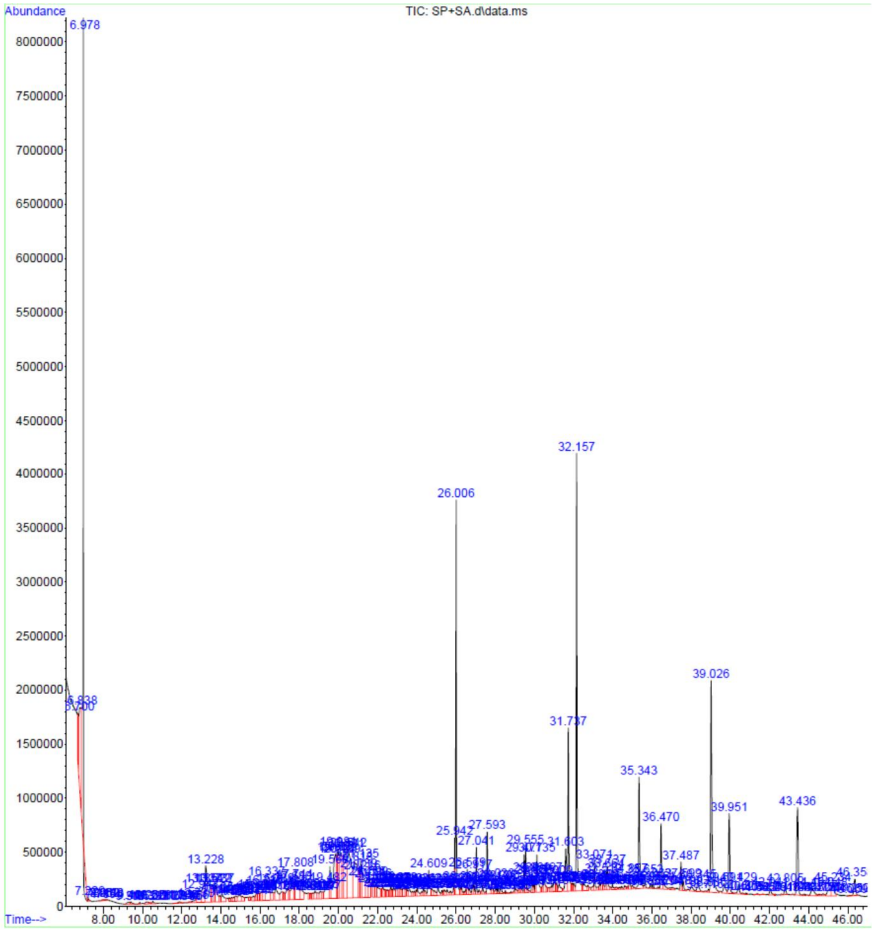
بر اساس نتایج به‌دست آمده، در جدول ۳ ترکیبات زیادی مشاهده شده است. متابولیت‌های ۱ و ۲ و ۳- بنزن‌تری‌ال (۲۲ درصد) و فنل، ۳- پنتادیسیل (۱۵/۵۴درصد)، بیش‌ترین میزان ترکیبات ثانویه موجود در گیاه تیمار شده با مخلوط اسپیروتترامات به همراه اسید سالسیلیک بودند. فنل، ۳- پنتادیسیل از گروه فنل‌ها است که دارای زنجیره هیدروکربنی طولانی می‌باشد. این ترکیب دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضدقارچی قوی بوده و از همه مهم‌تر دارای خاصیت لاروکشی می‌باشد. در گیاهان پسته تیمار شده با اسپیروتترامات+ اسید سالسیلیک، ترکیبات ثانویه دیگر با خواص حشره‌کشی یافت شد. از جمله ترکیب 6- nitroindole[2,3-a]cyclodec-1-ene (۴/۷۶ درصد) که از سری ترکیبات آلکالوئید می‌باشد و از مهم‌ترین خواص این دسته، ضد آفت بودن و بالا بردن سیستم دفاعی گیاه در برابر حشرات است. Malic acid dimethyl ester (2-Butynedioic acid, dimethyl ester) (۳/۸۶ درصد) جزء گروه ترپن‌ها می‌باشد که نقش دفاعی در برابر حملات و آسیب‌های بیرونی برای گیاه ایفا می‌کند. Squalene (۲/۲۴ درصد) یک هیدروکربن اشباع شده و از سری ترکیبات تری‌ترپن می‌باشد که دارای خواص آنتی‌اکسیدانی زیاد و خاصیت آنتی‌باکتریال و ضد مالاریا می‌باشد. از ترکیبات هیدروکربنی موجود در برگ پسته تیمار شده با اسپیروتترامات + اسید سالسیلیک، Heptacosane (۱/۶۴ درصد) می‌باشد. از آنجا که در سطح حشرات ترکیبات هیدروکربنی وجود دارد، این ترکیب نقش به‌سزایی در دفع حشرات می‌تواند داشته باشد. Isomultiflorenol (۱/۲۱ درصد) ترکیب تری‌ترپن حلقوی می‌باشد که با تأثیر بر روی آنزیم حشرات، از تکثیر آن‌ها جلوگیری می‌کند. پالمتیک اسید یا n-Hexadecanoic acid (۱/۱۷ درصد) از اسیدهای چرب می‌باشد که دارای خاصیت ضد التهابی و حشره‌کشی است (جدول ۳، شکل ۲).

ج-تیمار تلفیق اسپیروتترامات و عصاره متانولی بذر شوید

بر اساس نتایج به‌دست آمده از آنالیز، در گیاه تیمار شده با مخلوط اسپیروتترامات به‌همراه عصاره متانولی بذر شوید، بیش‌ترین میزان ترکیبات متابولیت‌های ثانویه فنول، ۳- پنتادیسیل، ویتامین E به ترتیب ۹/۱۲ و ۸/۰۰ درصد بودند. ویتامین E از سری ترکیبات ترپنویید می‌باشد که دارای خاصیت ضدالتهابی بوده و باعث دفع حشرات به خصوص دوبالان (پشه‌ها) می‌شود. از ترکیبات موجود دیگر در این تیمار، ترکیب فلاونوئیدی Phenol, 3-undecyl (۶/۱۱ درصد) بود که دارای خاصیت ضد التهاب و آنتی‌اکسیدان است و سبب افزایش مقاومت در برابر حشرات نیز می‌شود. ترکیب دیگر، 1,2-Benzenediamine (۳/۶۷ درصد) از دسته آلکالوئیدها بود که موجب افزایش خواص دفاعی گیاه در برابر عوامل محیطی از جمله حشرات و جانوران گیاه‌خوار می‌شود. ترکیب لینولنیک اسید، متیل استر (9,12,15-Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)) (۲/۲۴ درصد) نیز نوعی اسید چرب می‌باشد که علاوه بر فعالیت بیولوژیکی بالایی که دارد، از تکثیر حشرات جلوگیری می‌کند (جدول ۴، شکل ۳).

جدول ۳-متابولیت‌های ثانویه در تیمار تلفیق اسپیروتترامات و اسید سالسیلیک.

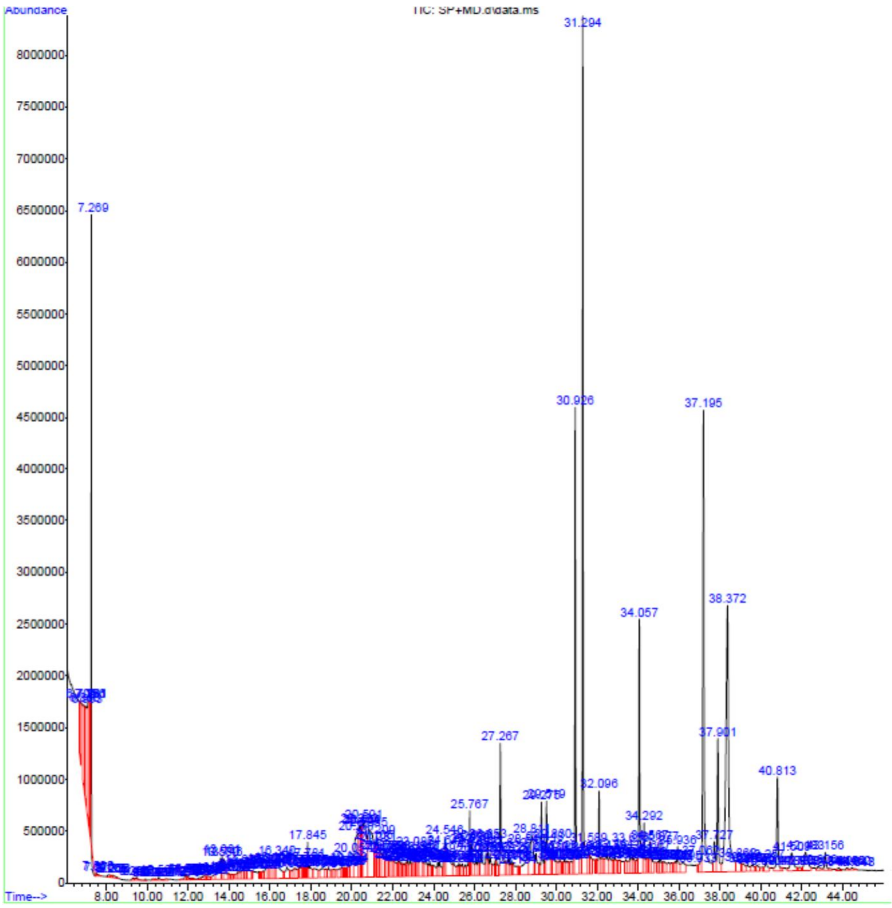
ردیف	زمان خروج پیک	ماده	درصد ماده
-۱	۱۲/۹۴۰	2-Butynedioic acid, dimethyl ester	۳/۸۶
-۲	۱۳/۶۱۸	Limonene	۱/۱۹
-۳	۱۹/۸۶۱	1,2,3-Benzenetriol*	۲۲
-۴	۲۶/۰۰۵	6-nitroindole[2,3-a]cyclodec-1-one	۴/۷۶
-۵	۲۷/۵۹۳	n-hexadecanoic acid	۱/۱۷
-۶	۳۱/۷۳۷	Phenol,3-pentadecyl*	۱۵/۵۴
-۷	۳۶/۴۶۹	Isomultiflorenol	۱/۲۱
-۸	۳۹/۹۴۶	Heptacosane	۱/۶۴
-۹	۴۳/۴۳۴	Squalene	۲/۲۴



شکل ۲- کروماتوگرام GC-Mass عصاره متانولی برگ پسته در تیمار تلفیق اسپیروتترامات و اسید سالسیلیک.

جدول ۴-متابولیت‌های ثانویه در تیمار تلفیق اسپیروتترامات و عصاره متانولی بذرشوید.

ردیف	زمان خروج پیک	ماده	درصد ماده
-۱	۲۰/۲۷۳	1,2,3-Benzenetriol	۶/۰۰
-۲	۲۷/۹۰۴	Eicosane	۵/۴۵
-۳	۲۹/۰۰۴	9,12, 15, -Octadecatrienoic acid, methyl ester, (Z,Z,Z)	۲/۲۴
-۴	۳۰/۹۲۶	1,2-Benzenediamine	۳/۶۷
-۵	۳۱/۲۹۳	Phenol, 3-undecyl	۶/۱۱
-۶	۳۴/۰۵۹	Phenol, 3-pentadecyl*	۹/۱۲
-۷	۳۸/۳۸۹	Vitamin E*	۸/۰۰



شکل ۳- کروماتوگرام GC-Mass عصاره متانولی برگ پسته در تیمار تلفیق اسپیروتترامات و عصاره متانولی بذر شوید.

د- تیمار اسید سالسیلیک

بر اساس نتایج به‌دست آمده از تحقیق، بیش‌ترین میزان ترکیبات متابولیت‌های ثانویه در گیاه تیمار شده با اسید سالسیلیک متعلق به ۱ و ۲ و ۳-بنزن‌تری‌ال با درصد ۲۴/۵۴ بود. Pyrazine, 2-methyl-6-propyl از سری ترکیبات آلکالوئید نیز فقط در این

تیمار یافت شد که دارای خاصیت ضدقارچی قوی و آفت‌کشی می‌باشد (جدول ۵، شکل ۴).

ه- تیمار عصاره متانولی بذر شوید

بر اساس نتایج به‌دست آمده از آنالیز، بیش‌ترین میزان ترکیبات متابولیت‌های ثانویه دی‌لاپی‌ال و دی‌ال-لیمونن به‌ترتیب با درصد ۳۴/۱۴ و ۲۴/۵۵ در گیاه تیمار شده با عصاره متانولی بذر شوید مشاهده گردید. دی‌ال- لیمونن از سری ترکیبات مونوترپن حلقوی است که دارای خاصیت ضد آفت می‌باشد (جدول ۶، شکل ۵).

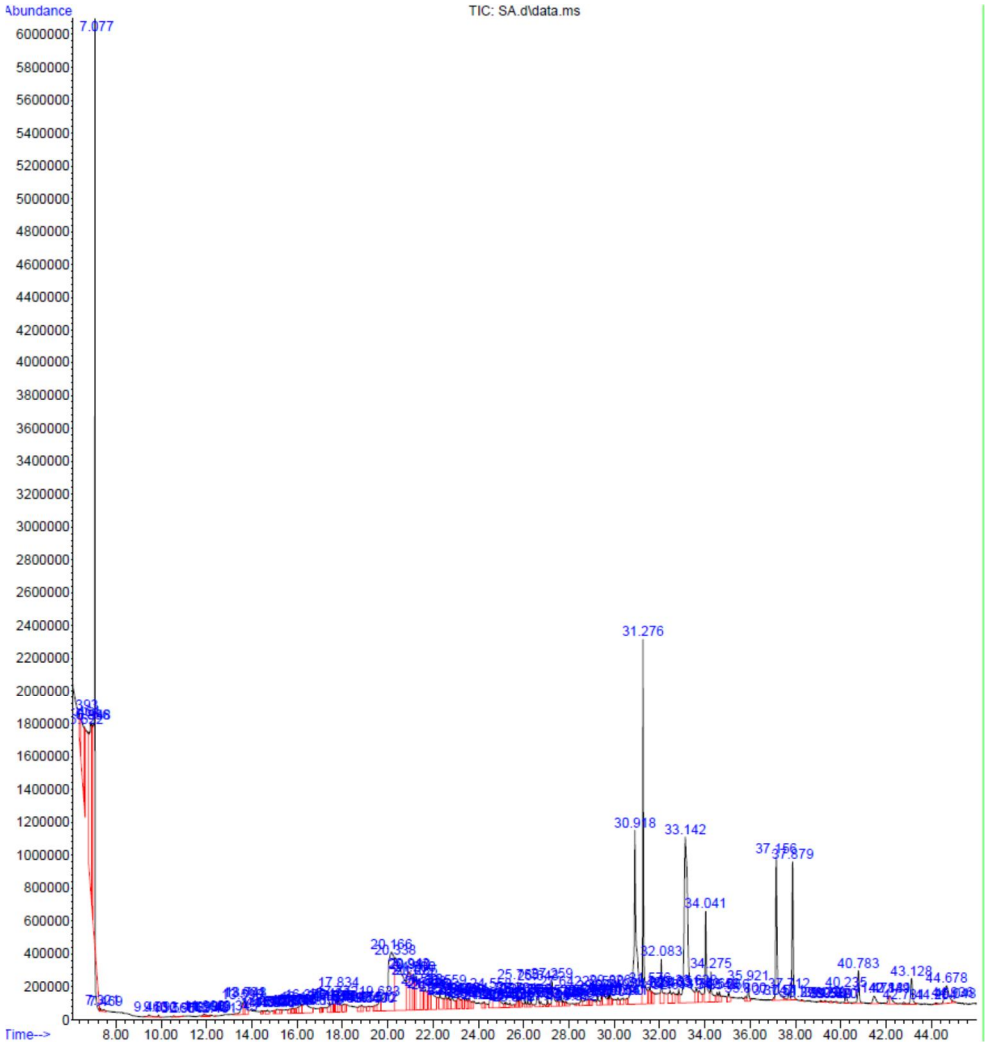
و- شاهد

بر اساس نتایج به‌دست آمده از پژوهش، بیش‌ترین میزان ترکیبات متابولیت‌های ۱ و ۲ و ۳-بنزن‌تری‌ال با درصد ۲۹/۶ در گیاه تیمار شده با شاهد مشاهده گردید. Eicosane (۵/۹۶ درصد) از ترکیبات هیدروکربن اشباع می‌باشد که به‌راحتی باعث دفع حشرات می‌شود. در ضمن 6,8-dimethylbenzocyclooctene (۲/۱۱ درصد) یک ترکیب ترپن حلقوی و دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی و ضد حشرات به‌خصوص مالاریا می‌باشد که فقط در تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۷، شکل ۶).

نتایج حاصل از دستگاه GC-MASS نشان می‌دهد که Dillapiole در برگ‌های گیاهان پسته تیمار شده با عصاره گیاهی متانولی بذر شوید، به میزان قابل توجهی نسبت به سم اسپیروتترامات (SP) افزایش یافت. در برگ‌های تیمار شده با عصاره متانولی بذر شوید (MD) و اسید سالسیلیک (SA) هیچ ترکیب مشترکی تولید نشد و همچنین درصد ترکیبات 1,2,3-Benzenetriol، Phenol,3-pentadecyl و Vitamin E در برگ‌های پسته تیمار شده با اسید سالسیلیک (SA) و مخلوط اسید سالسیلیک با اسپیروتترامات (SP+SA) در مقایسه با مخلوط اسپیروتترامات و عصاره گیاهی متانولی بذر شوید (SP+MD) به میزان زیادی افزایش یافت. از طرفی برگ تیمار شده با مخلوط اسپیروتترامات به همراه اسید سالسیلیک (SP+SA) توانسته ترکیبات بیش‌تری نسبت به برگ‌های تیمار شده با سایر ترکیبات ایجاد کند. بررسی‌ها نشان داد که ترکیب Limonene در برگ تیمار شده با عصاره گیاهی متانولی بذر شوید

جدول ۵-متابولیت‌های ثانویه در تیمار اسید سالسیلیک.

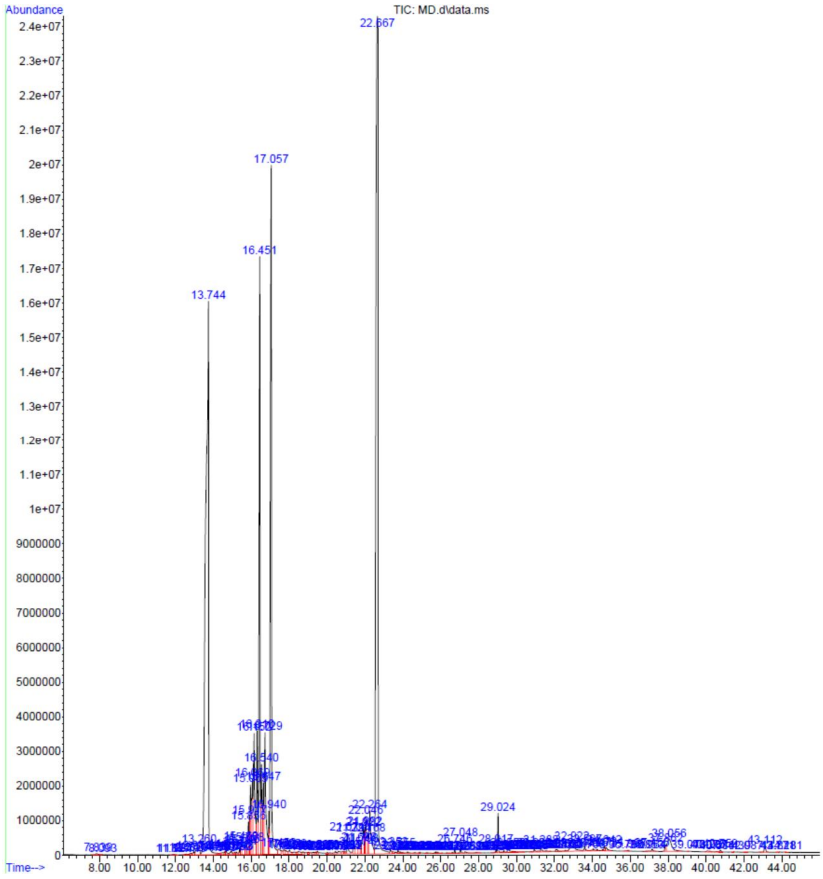
ردیف	زمان خروج پیک	ماده	درصد ماده
-۱	۲۰/۱۶۲	1,2,3-Benzenetriol*	۲۴/۵۴
-۲	۳۰/۹۱۵	Pyrazine, 2-methyl-6-propyl	۶/۸۱
-۳	۳۱/۲۷۰	Phenol, 3-pentadecyl	۹/۸۲
-۴	۳۳/۱۴۸	Vitamin E	۹/۴۷
-۵	۳۴/۲۷۰	Eicosane	۴/۳۲



شکل ۴- کروماتوگرام GC-Mass عصاره متانولی برگ پسته در تیمار اسید سالسیلیک.

جدول ۶- متابولیت‌های ثانویه در تیمار عصاره متانولی بذر شوید.

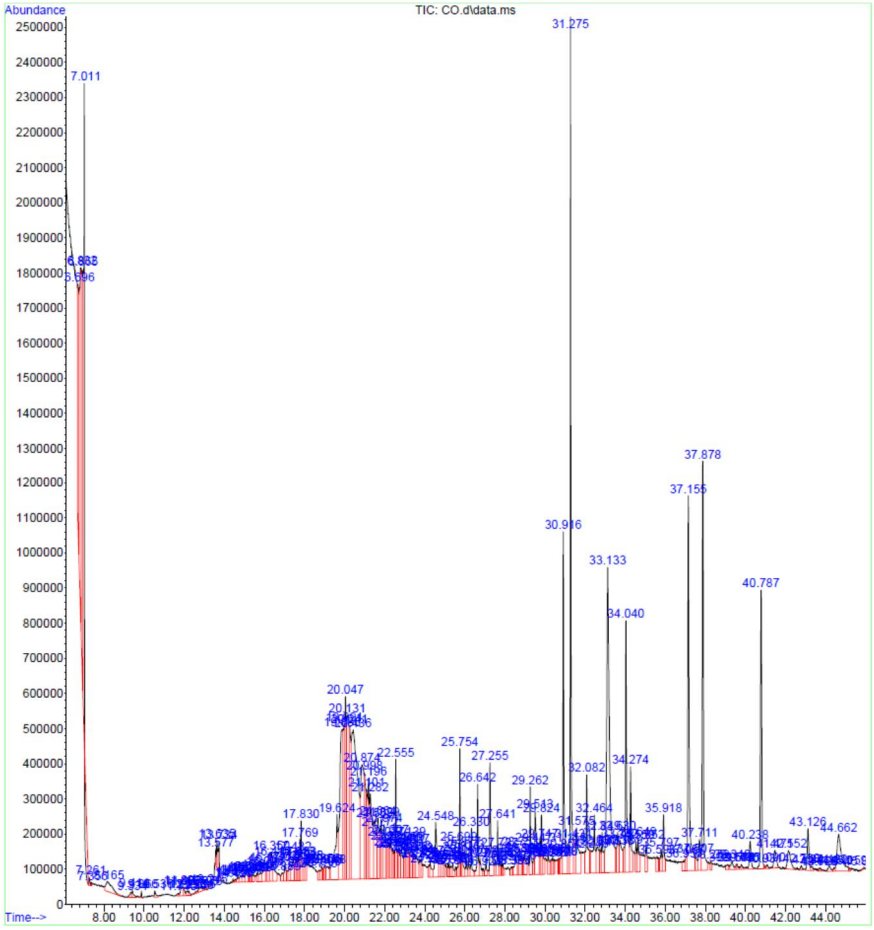
ردیف	زمان خروج پیک	ماده	درصد ماده
-۱	۱۳/۷۶۱	dl-Limonene*	۲۴/۵۵
-۲	۱۵/۴۶۳	Dihydrocarvone	۱۷/۰۴
-۳	۱۶/۵۴۰	2-cyclohexan-1-one,2-methyl-5-(1-methylethyl)-, (S)	۱۸/۰۹
-۴	۲۱/۵۷۲	Dillapiole*	۳۴/۱۴



شکل ۵- کروماتوگرام GC-Mass عصاره متانولی برگ پسته در تیمار عصاره متانولی بذر شوید.

جدول ۷- متابولیت‌های ثانویه در شاهد.

ردیف	زمان خروج پیک	ماده	درصد ماده
-۱	۱۹/۶۲۹	6,8-dimethylbenzocyclooctene	۲/۱۱
-۲	۱۹/۸۸۴	1,2,3-Benzenetriol*	۲۹/۶
-۳	۳۰/۹۱۵	Phenol,3-pentadcyl	۱۱/۹۹
-۴	۳۱/۵۷۰	Eicosane	۵/۹۶
-۵	۴۰/۹۷۰	Vitamin E	۵/۹۷
-۶	۴۰/۷۹۰	Squalene	۲/۳۶



شکل۶- کروماتوگرام GC-Mass عصاره متانولی برگ پسته در شاهد.

(MD) در مقایسه با برگ تیمار شده با مخلوط اسپیروتترامات و اسید سالسیلیک (SP+SA) افزایش زیادی داشته است (جدول ۵). همچنین نتایج نشان داد عصاره متانولی بذر شوید دارای دو ترکیب CIS- Dihydrocarvone (۱۷/۰۴٪) و 2-Cyclohexen-1-one, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, (S) (۱۸/۰۹٪) از سری ترکیبات ترپنویید می‌باشند که به شدت خاصیت آفت‌کشی دارد. به‌طوری که در سازمان حفاظت از محیط زیست ایالت متحده آمریکا ترکیب سیس دهیدرو به عنوان آفت‌کش قوی استفاده می‌گردد.

متابولیت‌های ثانویه گیاهی دارای اثرات آنتی‌بیوزی و آنتی‌بیوتیکی بر حشرات آفت بوده و غالباً بر مراحل مختلف زیستی حشره مؤثر هستند. اثر آنتی‌بیوتیک متابولیت‌های ثانویه گیاهی، به‌علت وجود ترکیبات سمی مانند آلکالوئیدها، کتون‌ها، فلاونوئیدها، گلیکوزید و ترپنوئیدها می‌باشد (Panda & Khush, 1995). متابولیت‌های ثانویه نقش عمده‌ای در دفاع گیاهان در مقابل حشرات گیاهخوار دارند و به‌عنوان

دورکننده، بازدارنده تغذیه و تخم‌ریزی و یا ترکیبات سمی ایفای نقش می‌کنند و گیاهان را در مراحل رشدی مختلف در برابر گیاه‌خواران از جمله حشرات گیاه‌خوار محافظت می‌نمایند. محققین در تلاش هستند با کمک مهندسی ژنتیک میزان تولید این ترکیبات را در گیاهان افزایش دهند (Xie *et al*., 1995).

تحقیقات نشان می‌دهد که ترکیبات مونوترپن دارای قابلیت حشره‌کشی، سمیت تنفسی، دورکنندگی و ضد تغذیه‌ای برای حشرات هستند. مونوترپن‌ها روی مراحل زیستی حشرات تأثیر گذاشته و دارای خواص تدخینی بالا هستند. آن‌ها جزء ترکیبات چربی دوست (لیپوفیلیک) بوده که به‌سرعت از طریق روزنه‌های تنفسی و جلد بدن در بدن حشره نفوذ کرده و باعث برهم زدن تعادل عصبی آن‌ها می‌شوند (Enan, 2001).

Suszko & Tomczyk (۲۰۱۱) در بررسی نقش فنول موجود در اسانس گیاه مریم گلی روی کنه‌ی تارتن دولکه‌ای، نشان دادند که پس از حذف فنل از اسانس گیاه مذکور سمیت آن روی آفت به‌طور چشم‌گیری کاهش پیدا کرد.

اسید سالیسیلیک از ترکیبات فنلی موجود در گیاهان بوده که روی رشد و نمو، میزان تنفس، فتوسنتز، جذب و انتقال یون‌ها نقش داشته و بسیاری از ژن‌های گیاه را تعدیل و تحریک می‌کند. همچنین بیوسنتز سایر متابولیت‌های ثانویه را هم تنظیم می‌نماید (Popova *et al*., 2003).

اسید سالیسیلیک باعث بهبود صفات رویشی و بیوشیمیایی در گیاه سرخ‌گل گردید (اسمعیلی‌نژاد، ۱۳۹۳). Maleki & Ehsanpour (۲۰۱۸) گزارش کردند که ترکیبات فنل کل، فلاونوئید، آنتوسیانین، آنزیم‌های فنیل آلانیل آمونیالیاز و پراکسیداز گیاه گوجه فرنگی تیمار شده با اسید سالیسیلیک با افزایش غلظت ترکیب، به‌تدریج افزایش یافت و بیش‌ترین مقدار آن‌ها در غلظت ۰/۳ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک بود. نتایج این محققین نشان داد که اسید سالیسیلیک در غلظت‌های بهینه افزایش رشد و در غلظت‌های زیاد، ایجاد تنش اکسیداتیو، کاهش وزن و مقدار رنگیزه‌های گیاه را موجب می‌شود (Maleki & Ehsanpour, 2018). بعضی از متابولیت‌های ثانویه دفاعی در درجه‌ی اول برای حشرات گیاه‌خوار سمی بوده و در عین حال خاصیت ضدتغذیه‌ای و ویژگی دور کنندگی نیز دارند (Bernays & Chapman, 1994). مطابق تحقیقات به عمل آمده توسط پژوهشگران، وجود مقادیر بالایی از سالیسیلیک اسید از جمله ترکیبات شیمیایی مهمی است که دارای اثر مهارکننده روی تغذیه و رشد و نمو تعدادی از حشرات گیاه‌خوار می‌باشد (Simmons *et al*., 2004; Jinying *et al*., 2004). به عبارت دیگر گزارش کردند که استفاده سالیسیلیک اسید باعث یک پاسخ خیلی حساس علیه حشره- گال زا *Dasineura marginemtorquens* Bremi می‌شود (Ollerstam & Larson, 2003). بنابراین هنگامی‌که سالیسیلیک اسید

در غلظت‌های مناسب استفاده شود، باعث تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه می‌شود. در واقع تیمار کردن گیاه با سالیسیلیک اسید فعالیت آنزیم‌هایی مانند آسکوربات‌پراکسیدازها (APX)، سوپراکسید دیس‌موتازها (SOD)، کاتالازها (CAT)، پراکسیدازها (POX) و گلوتاتیون اس- ترانسفراز (GST) که به‌ترتیب رادیکال‌های سوپراکسید، هیدروژن پراکسید و پراکسیدهای آلی، که به‌عنوان ترکیبات آنتی‌اکسیدان در خنثی‌سازی بسیاری از رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن نقش دارند، را افزایش می‌دهد (Dubovskiy *et al*., 2008).

مطالعات صورت گرفته پیرامون اجزای حشره‌کشی و تشدید کننده جدا شده از گیاه شوید نشان می‌دهد که ترکیب جدا شده از بذر شوید به نام d-carvone به میزان قابل توجهی باعث تشدید اثر حشره‌کشی ترکیبات کاربامات و ارگانوفسفرها برای برخی از گونه‌های حشرات می‌شود (Lichtenstein *et al*., 1974). مطالعات Ebadollahi *et al*. (۲۰۱۲) نشان داده است که عصاره بذر شوید از طریق تدخینی دارای خاصیت حشره‌کشی روی بالغینسوسک نخود می‌باشد. عصاره مذکور روی سوسری آمریکایی، مگس خانگی و سوسک نخود هم از طریق تماسی و هم تدخینی دارای اثر سمی است (Babri *et al*., 2012). در ضمن Khani & Basavand (۲۰۱۳) سمیت تدخینی عصاره بذر شوید را روی شپشه آرد و سوسک نخود گزارش نمودند.

خاصیت حشره‌کشی خوب عصاره بذر شوید به‌علت غلظت ترکیباتی مانند carvone ، limonene و trans-dihydrocarvone است (Babri *et al*. 2012). carvone نسبت به ترکیبات دوحلقه‌ای مثل verbinol و thujone دارای سمیت بیشتری می‌باشد (Rice & Coats, 1994). Lee *et al*. (۱۹۹۷) خاصیت حشره‌کشی carvone را روی مگس خانگی گزارش نمودند. مطالعات Jang *et al*. (۲۰۰۵) هم سمیت تدخینی کاروون روی سوسری آلمانی را نشان داد. تحقیقات Tripathi *et al*. (۲۰۰۹) سمیت carvone و dihydrocarvone را روی پوره و بالغ شپشه آرد، شپشه دندانه‌دار و سوسک گندم، (*Rhyzopertha dominica* (Fabaricius))، تأیید نمود. limonene و sesquiterpenes هم دارای سمیت کمتر و متعادل‌تری نسبت به بقیه هستند (Ibrahim *et al*., 2001). در پژوهش کاراموزیان و همکاران که در دست چاپ می‌باشد، تأثیر پاشش دو ساله تیمارهای مذکور روی کشندگی پسیل پسته در سال اول، بیش‌ترین درصد کاهش جمعیت پسیل پسته در تیمار تلفیقی اسپیروتترامات و عصاره متانولی بذر شوید (SP+MD) با میانگین ۳/۲۱ ± ۹۱/۲۶- درصد و در سال دوم در تیمارهای عصاره متانولی بذر شوید (MD) با میانگین ۸/۴۳ ± ۳۶ /۷۰ - درصد و تیمار تلفیقی SP+MD با میانگین ۱۷/۹ ± ۳۵/۱۷- درصد محاسبه شد که

تأییدی بر تحقیق حاضر می باشد (کاراموزیان و همکاران، ۱۴۰۰).

نتایج حاصل از دستگاه GC- MASS در مطالعه حاضر نشان می‌دهد که عصاره بذر شوید می‌تواند به تنهایی چندین برابر آفت‌کش اسپیرومات ترکیبات حشره‌کشی را ایجاد کنند. حال با توجه به مکانیسم القای مقاومت ترکیبات گیاهی در گیاهان در برابر آفات و تولید مواد فرار شیمیایی از گیاه که در جلب دشمنان طبیعی نقش مؤثری دارند، توصیه می‌شود که تأثیر مقاومت القایی بر عملکرد آفت و دشمنان طبیعی مطالعه شود تا از نتایج به‌دست آمده در تدوین برنامه‌های مدیریت تلفیقی محصول استفاده گردد.

نتیجه‌گیری کلی

ترکیبات گیاهی با توجه به کم‌خطر بودن و دوام آن‌ها می‌توانند جایگزین مناسبی برای سموم شیمیایی درکنترل آفات باشند. کاربرد این ترکیبات به‌تنهایی یا همراه با آفت‌کش‌های مصنوعی در مدیریت تلفیقی آفات می‌تواند باعث کاهش مقدار مصرف سموم شیمیایی شود.

منابع

۱. اسمعیلی‌نژاد، ن. (۱۳۹۳). اثر کودهای آلی و اسید سالیسیلیک بر برخی از مواد ثانویه گیاه سرخارگل (اکیناسه) (*Echinaceae purpurea* Monch). پایان‌نامه کارشناسی ارشد. موسسه آموزش عالی بهاران. دانشکده تولیدات گیاهی. ۷۵ صفحه.

۲. سفیدکن، ف. (۱۳۸۰). بررسی کمی و کیفی اسانس شوید ایران. *مجله پژوهش و سازندگی، ۵۱:* ۷۳-۷۷.

۳. شیخی گرجان، ع، عباسی، س، و صابر، ف. (۱۳۹۴). راهنمای آفت‌کش‌های شیمیایی و ارگانیک ایران. انتشارات کتاب پایتخت، تهران.

۴. کاراموزیان، م، پهلوان یلی، م، و احمدی، ک. (۱۴۰۰). تأثیر تلفیق اسپیروتترامات با ترکیبات زیستی و غیر زیستی روی برخی ترکیبات ثانویه برگ پسته و جمعیت پسیل پسته. *نشریه پژوهش‌های کاربردی در گیاه‌پزشکی*، در دست چاپ.doi: 10.22034/ARPP.2021.12898

5. Alston, DG, & Drost, D. (2008). Onion Thrips (*Thrips tabaci*). Utah State University Extension and Utah Plant Pest Diagnostic Laboratory. 7 pp.
6. Akhtar, Y, & Isman, MB. (2004). Comparative growth inhibitory and antifeedant effect of plant extracts and pure allelochemicals on four phytophagous insect species. *Journal of Applied Entomology, 128*, 32-38.
7. Babri, RA, Khokhar, I, Mahmood, Z, & Mahmud, S. (2012). Chemical composition and insecticidal activity of the essential oil of *Anethum graveolens*. *Science International* (*Lahore*), *24*, 453-455.

8. Bernays, EA, & Chapman, RF. (1994). Host- plant selection by phytophagous insects. Chapman and Hall, New York.
9. Bourgaud, F, Gravot, A, Milesi, S, & Gontier, E. (2001). Production of plant secondary metabolites: a historical perspective. *Plant science*, *161*, 839-851.
10. Choudhury, RP, Kumar, A, & Gary, AN. (2006). Analysis of Indian mint (*Menthe spicata*) for essential, trace and toxic elements and its antioxidant behavior. *Pharmaceutical and Biochemical Analysis*, *41*, 825-832.
11. Date, JF, Foyer, CH, & Scott, IM. (1998). Changes in salicylic acid and antioxidants during induced thermos tolerance in mustard seedling. *Plant Physiology*, *118*, 1455-1461.
12. Davis, PJ. (2005). Plant hormones biosynthesis, signal transduction, action. Springer.
13. Dimock, MB, & Renwick, JA. (1991). Oviposition by flied populations of *Pieris rapae* (Lepidoptera: Pieridae) deterred by extract of a wild crucifer. *Environmental Entomolology, 20*, 802-806.
14. Dubovskiy, IM, Martemyanov, VV, Vorontsova, YL, Rantala, MJ, Gryzanova, EV, & Glupov, VV. (2008). Effect of bacterial infection on antioxidant activity and lipid peroxidation in the midgut of *Galleria mellonella* L. larvae (Lepidoptera: Pyralidae). *Comparative Biochemistry Physiology, 148*, 1-5.
15. Duke, JA. (2001). Handbook of medicinal herbs. CRC Press LIC. pp 42.
16. Ebadollahi, A, Ganbalani, GN, Hoseini, SA, Sadeghi, GR. (2012). Insecticidal activity of essential oils of five aromatic plants against *Callosobruchus maculates* F. (Coleoptera: Bruchidae) under laboratory conditions. *Journal of Essential Oil Bearing Plants, 15,* 256-262.
17. El-Tayeb, MA. (2005). Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation*, *45*, 215-224.
18. Enan, E. (2001). Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology, 130*, 325-337.
19. Gerling, D. (1990). Whiteflies: Their bionomics, pest status and managment. Wimborne, UK.
20. Hodges, L, Bell, H, & Adam, K. (2012). Petition for a three-year extension of exclusive use data protection for spirotetramat. US Environmental Protection Agency Office of Pesticide Programs, Petition for Spirotetramat.
21. Hornok, L. (1980). Effect of nutrition supply on yield of dill /Anethum graveolens L./ and the essential oil content. *Acta Horticulture, 96*, 337-342.
22. Houpalahti, R, Lahtinen, R, Hiltunen, R, & Laskso, I. (1998). Studies on the essential oil of dill herb (*Anethun graveolens* L.). *Flavour and Fragrance Journal*, *3*, 121.
23. Ibrahim, MA, Kainulainen, PA, flatuni, A, Tiilikkala, K, & Holopainen, JK. (2001). Insecticidal, repellent, antimicrobial activity and phytotoxicity of essential oils: With special reference to limonene and its suitability for control of insect pests (Review). *Agricultural and Food Science in Finland*, *10*, 243-260.
24. Isman, MB. (1996). Neem and other botanical insecticides: barriers to

commercialization. *Phytoparasitica*, *25*, 339-344.

25. Jang, YS, Yang, YC, & Choi, DS. (2005). Vapour-phase toxicity of marjoram oil compounds and their related monoterpenoids to *Blattella germanica* (Orthoptera: Blattellidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *53*, 7892-7898.
26. Jinying, P, Xiaojun, D, Jianhua, H, Shihai, J, Xuexia, M, & Yongping, H. (2004). Role of salicylic acid in tomato defense against cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* Hübner. Zeitscrift fur Naturforschung Section C. *Biosciences, 59*, 856-862.
27. Khani, A, & Basavand, F. (2013). Chemical composition and insecticide activity of essential oil from dill seeds. *International Journal of Agriculture: Research and Review*, *3*, 489-494.
28. Lee, S, Tsao, R, Peterson, C, & Coats, JR. (1997). Insecticidal activity of monoterpenoids to western corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae), two spotted spider mite (Acari: Tetranychidae), and house fly (Diptera: Muscidae). *Journal of Economic Entomology, 90*, 88392,
29. Lichtenstein, EP, Liang, TT, Schulz, KR, & Schnoes, HK. (1974). Insecticidal and synergistic components isolated from dill plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *22*, 658-664.
30. Mahdavi Arab, N, Ebadi, R, Hatami, B, & Talebi Jahromi, K, (2008). Insecticidal effects of some plant extracts on *Callosobruchus maculatus* F. under laboratory condition and *Laphigma exigua* H. in greenhouse**.** *Journal of Water and Soil Science* (*Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*), *11*, 221-234.
31. Mahram, G, Kadry, H, Thabet, C, Olem, N, Azizi, M, Shiff, J, Wong, L, & Liv, N. (1992). GC/MS analysis of volatile oil of fruits of *Anethun graveolens* L. *International Journal of Pharmacognoy*, *30*, 130-135.
32. Maleki, MS, & Ehsanpour, AA. (2018). Effect of salicylic acid on total phenol, flavonoid, anthocyanin and PAL and TAL enzymes in tomato (*Solanum lycopersicum* Mill) plants. *Iranian Journal of Plant Biology*, *9*, 55-67.
33. Mohapatra, SL, Deepa, M, & Jagadish, GK. (2012). An efficient analytical method for analysis of spirotetramat and its metabolite spirotetramat-enol by HPLC. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, *88*, 124-128.
34. Nauen, R, Reckmann, U, Thomzik, J, & Thielert, W. (2008**).** Biological profile of spirotetramat (Movento®), a new two ways systemic (ambimobile) insecticide against sucking pest species. *Bayer Cropscience Journal*, *61*, 245-275.
35. Ollerstam, O, & Larson, S. (2003). Salicylic acid mediates resistance in the willow Salix viminalis against the gall midge *Dasineura marginemtorquens*. *Journal of Chemical Ecology*, *29*, 163-174
36. Panda, N, & Khush, GS. (1995) Host plant resistance to insects. CAB International, Wallingford.
37. Pascual-villalobos, MS, & Robledo, A. (1998). Screening for anti-insect activity in Mediteranean plants. *Industrial Crops and Products, 1,* 115-120.

Chrysomelidae). *Journal of Economic Entomology, 87*, 1172-1179.

46. Rouhani, M, Samih, MA, Izadi, H, & Mohammadi, E. (2013). Toxicity of new insecticides against pomegranate aphid, *Aphis punicae*. *International Research Journal of Applied and Basic Sciences*, *4*, 496-501.
47. Senaranta, T, Teuchela, D, Bumm, E, & Dixon, K. (2002). Acetyle salycilic acid (aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. *Journal of Plant Growth Regulation*, *30*, 157-161.
48. Simmons, AT, Gurr, GM, McGrath, D, Martin, PM, & Nicol, HI. (2004). Entrapment of *Helicoverpa armigera* (Hübner) on glandular trichomes of *lycopersicon* species. *Australian Journal of Entomology, 43*, 196-200.
49. .Suszko, M, & Tomczyk, A. (2011). The role of phenols in the influence of herbal extracts from *Salvia officinalis* L. and *Matricaria chamomilla* L. on two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* Koch. *Biological letters*, *48*, 193-205.
50. Tachakittirungrod, S, Okonogi, S, & Chang, E. (2007). Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: Mechanism of antioxidant action of guava leaf extract. *Food Chemistry, 1003*, 381-388.
51. Talukder, FA, & Howse, PE. (1993). Deterrent and insecticidal effects of extracts of pithraj, *Aphanamixis polystachya* (Meliaceae), against *Tribolium castaneum* in storage. *Journal of Chemical Ecology*, *19*, 2463-2471.
52. Tasgin, E, Atici, O, Nalbantoglu, B, & Popova, LP. (2006). Effect of salicylic acid
38. Pavela, R. (2004a). Repellent effect of ethanol extracts from plants of the family Lamiaceae on Colorado potato beetle adults *(Leptinotarsa decemlineata SAY). National Academy Science Letters, 27,* 195-203.
39. Pavela, R. (2004b). Insecticidal activity of certain medicinal plants. *Fitoterapia*, *75*, 745-749.
40. Pavela, R. (2005). Insecticidal activity of some essentials oils against larva of *Spodoptera littoralis. Fitoterapia, 76*, 691-696.
41. Pavela, R. (2006). Insecticidal activity of essential oils against cabbage aphid *Brevicoryne brassicae*. *Journal of Essential Oil Bearing Plants, 9*, 99-106.
42. Popova, L, Ananieva, V, Hristova, V, Christov, K, Geovgieva, K, Alexieva, V, & Stoinova, Z. (2003). Salicylic acid and methyl jasmonate-induced protection on photosynthesis to paraquat oxidative stress. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, *Special Issue*, 133-152.
43. Puupponen-Pimiä, R, Nohynek, L, Schmidlin, S, Kähkönen, M, Heinonen, M, Määttä-Riihinen, K, & Oksman-Caldentey, KM. (2005). Berry phenolics selectively inhibit the growth of intestinal pathogens. *Journal of Applied Microbiology*, *98*, 991-1000.
44. Raskin, I. (1992). Role of salicylic acid in plant. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 43,* 439-463.
45. Rice, PJ, & Coats, JR. (1994). Insecticidal properties of several monoterpenoids to the house fly (Diptera: Muscidae), red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae), and southern corn rootworm (Coleoptera:

and cold treatments on protein levels and on the activities of antioxidant enzymes in the apoplast of winter wheat leaves. *Phytochemistry*, *67*, 710-715.

53. Tripathi, AK, Upadhyay, S, Bhuiyan, M, & Bhattacharya, PR. (2009). A review on the prospects of essential oils as biopesticides in insect pest-management., *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, *1*, 52-63.
54. Vogel, I, Furniss, BS, & Smith, PW. (1978). Text book of practical organic chemistry. Longman Scientific & Technical.
55. Wheeler, DA, & Isman, MB. (2001). Antifeedant and toxic activity of *Trichilia americana* extract against the larvae of *Spodoptera litura*. *Entomologia experimentalis et applicata, 98*, 9-16.
56. Xie, Q, Madhukar, A, Chen, P, & Kobayashi, NP. (1995). Vertically self-organized InAs quantum box islands on GaAs (100). *Physical review letters*, *75*, 2542.
57. Zhao, B, Grant, GG, Langevin, D, & MacDonald, L. (1998). Deterring and inhibiting effects of quinolizidine alkaloids on spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae) oviposition. *Environmental Entomolology*, *27*, 984-992.

Effect of Biological and Non-Biological Compounds on Biochemical Traits of Pistachio Leaves

Abstract

Pistachio, *Pistacia vera* L., as one of the most important horticultural products and the third export commodity of Iran has special economic importance among agricultural products. In this study, the foliar application effect of five treatments: Spirotratram (Movento®), salicylic acid, Dill seed methanolic extract, spirotetramate + salicylic acid, spirotetramate + Dill seed methanolic extract, and distilled water as a control on was investigated on the pistachio leaf secondary compounds in Mahan region. The type of pistachio leaves secondary metabolites was determined using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MASS). Based on the results of the analysis, the highest percentage of active and important secondary metabolites was observed in Dill seed methanolic extract. Its important constituents were Dillapiole, Dl-Limonene and carvone. Dillapiole (34.14%) was one of the compounds of diol and belongs to derivatives of alkaloids, which has strong antifungal, antimicrobial and antilarval properties. Dl-limonene (24.55%) was a series of cyclic monoterpene compounds that have insecticidal properties and the combination of carvone is composed of cis-dihydrocarvone and d-carvone (35.13%). Carvone was also one of the terpenoid compounds and has a strong pesticidal characteristic. Considering that plant secondary metabolites play an important defense role against biological stresses and act as a source of antibiotics; According to the present research results, plant compounds such as dill seed extract with synthetic pesticides or alone can be considered as a potential solution in pest control.

Keywords: Alkaloid, Pistachio, Secondary metabolite, Toxin