Journal of Entomological Society of Iran
https://jesi.areeo.ac.ir
Entomological Society of Iran
2024, 44 (1), 87–99
Research Article
https://doi.org.10.61186/jesi.44.1.7
pISSN: 0259-9996
eISSN: 2783-3968
OPEN ACCESS

ترکیب شیمیایی و هم‌افزایی سمیت برخی اسانس‌های گیاهی روی کنه تارتن دولکه‌ای *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)

فرهاد شریفی و مریم ملک محمدی

۱- گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی‌سینا، همدان، ایران

shariffarhad@yahoo.com https://orcid.org/0000-0000-2457-1107
m.malekmohamadi@basu.ac.ir https://orcid.org/0000-0002-3108-1355

چکیده: تمرکز گسترده بر استفاده از آفت‌کش‌ها در سراسر جهان، مقاومت جمعیت‌ها در کوتاه مدت را به دنبال داشته است. نتیجه چنین شرایطی، افزایش تقاضا برای معرفی روش‌های جایگزین انتخابی‌تر، دوستدار محیط زیست، ایمن برای انسان و کم هزینه با قابلیت تاخیر در ایجاد مقاومت در جمعیت‌های آفت بوده است. به رغم آنکه در سال‌های اخیر فعالیت حشره‌کشی اسانس‌های گیاهی مورد توجه بوده است، اما بررسی‌ها در خصوص هم‌افزایی خواص زیستی اسانس‌های گیاهی در کاربرد همزمان و ترکیبی محدود بوده است. از این رو، بررسی پیش‌رو با هدف ۱) شناسایی ترکیبات مؤثر گونه‌های گیاهی مورد *Myrtus communis* L. (Myrtaceae)، رازیانه *Foeniculum vulgare* Mill. (Apiaceae)، اکالیپتوس *Eucalyptus globulus* Labill. (Myrtaceae) و بنه *Pistacia atlantica Desf.* (*Anacardiaceae*) با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی–طیف‌سنجی جرمی در دو مرحله رشد رویشی و گل‌دهی کامل، ۲) ارزیابی پایداری زیستی و ۳) سمیت تنفسی اسانس گونه‌های گیاهی نام برده *در کاربرد مستقل و دوتایی علیه مراحل تخم و بالغ کنه Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) انجام شد. بازده اسانس‌گیری در مراحل رشد رویشی و گل‌دهی کامل برای اکالیپتوس، مورد، رازیانه و بنه از ۰/۶۹ تا ۱/۲۷ درصد متغیر بود. در مجموع در اسانس بنه، اکالیپتوس، مورد و رازیانه، به ترتیب ۲۳، ۲۴، ۳۴ و ۱۷ ترکیب مختلف شناسایی شد. در مرحله گل‌دهی کامل گیاهان رازیانه، مورد و اکالیپتوس بیشترین فراوانی به ترکیبات منوترپنی حاوی اکسیژن و در اسانس بنه به هیدروکربن‌های منوترپنه اختصاص داشت. در بین اسانس گونه‌های مورد بررسی بیشترین سمیت تنفسی روی مراحل بالغ و تخم به ترتیب به اسانس مورد (LC_{50}= ۳/۹۵ میکرو لیتر بر لیتر هوا) و رازیانه (LC_{50}= ۰/۹۱ میکرو لیتر بر لیتر هوا) اختصاص داشت. دامنه غلظت کشنده ۵۰ درصد برای استفاده ترکیبی از اسانس‌ها روی مراحل تخم و بالغ به ترتیب از ۰/۷۵ تا ۳/۲۳ و ۳/۷۸ تا ۶/۸۴ میکرولیتر بر لیتر هوا متغیر بود. به استناد شاخص فاکتور هم‌افزایی و کاهش دز مصرف، کاربرد ترکیبی اسانس اکالیپتوس– بنه در مقایسه با دیگر ترکیب‌ها از بیشترین سمیت روی مراحل تخم و بالغ برخوردار بود. تلفات سمیت تنفسی باقی‌مانده اسانس‌های گیاهی مورد، اکالیپتوس، بنه و رازیانه در روز سوم بررسی‌ها به ترتیب ۷۱، ۶۹، ۵۱ و ۶۱ درصد و در کمتر از ۹ روز به صفر رسید. چنین رهایش اولیه و سریعی می‌تواند کاهش قابل توجه سمیت باقی‌مانده اسانس‌های گیاهی را در پی داشته باشد. به نظر می‌رسد اسانس‌های گیاهی نام برده از پتانسیل مناسبی جهت کاربرد علیه کنه تار عنکبوتی در شرایط گلخانه برخوردار باشند.

واژه‌های کلیدی: کنه تارتن دولکه‌ای، ساختار شیمیایی اسانس، کاربرد ترکیبی اسانس، سمیت تنفسی

تاریخچه مقاله
دریافت: ۱۴۰۲/۰۷/۲۱
پذیرش: ۱۴۰۲/۱۲/۰۳
دبیر تخصصی: محبوبه شریفی

Citation: Sharifi, F. & Malekmohammadi, M. (2024) Chemical composition and Synergistic toxicity of four essential oils on *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) (Acari: Tenuipalpidae). *J. Entomol. Soc. Iran*, 44 (1), 87–99. https://doi.org.10.61186/jesi.44.1.7

مقدمه

کنه *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) یکی از آفات مهم کشاورزی با پراکنش جهانی و گستره میزبانی وسیع است، برای این گونه تاکنون بیش از ۱۱۰۰ میزبان گیاهی عمدتا از سبزیجات، درختان میوه و بسیاری دیگر از گیاهان صنعتی و زینتی گزارش شده است (Santamaria *et al.*, 2020). خسارت اصلیِ وارده از طرف لارو، پوره و کنه‌های بالغ در دوره‌های طغیانی می‌تواند تا خشکیدگی کامل گیاه میزبان پیش رود. سم‌پاشی‌های مکرر، استفاده از ترکیبات آفت‌کش در غلظت‌هایی بیش از غلظت توصیه شده و ظرفیت بالای تولیدمثلی، مقاومت کنه *T. urticae* به بیش از ۹۵ ترکیب آفت‌کش را به همراه داشته است (Rincon, Cagatay *et al.*, 2018؛ *et al.*, 2019). ظهور و گسترش مقاومت به حشره‌کش‌های مرسوم در بین جمعیت‌های آفت به یک نگرانی جدی در سطح جهانی تبدیل شده است (Shi *et al.*, 2019؛ Han *et al.*, 2024). نتیجه چنین شرایطی، افزایش تقاضا برای معرفی روش‌های جایگزین انتخابی‌تر، دوستدار محیط زیست، ایمن برای

Corresponding author: Maryam Malekmohammadi (E-mail: m.malekmohamadi@basu.ac.ir)
© 2024 by Author(s), Published by the Entomological Society of Iran
This Work is Licensed under Creative Commons Attribution-Non Commercial 4.0 International Public License.

انسان و کم هزینه با قابلیت تاخیر در ایجاد مقاومت در جمعیت‌های آفت بوده است. آفت‌کش‌های زیستی بر پایه ترکیبات گیاهی به ویژه اسانس‌ها و مشتقات آنها به عنوان ترکیبات جایگزین یا مکمل آفت‌کش‌های مرسوم، ضمن اثرگذاری سریع، ایمن و موثر علیه گونه‌های خسارتزا، از پتانسیل بالایی جهت مدیریت مقاومت در جمعیت‌های آفت نیز برخوردار هستند. صرف نظر از چند مورد استثنا همانند نیکوتین یا گلایکوزیدهای سیانوژنیک (cyanogenic glycosides)، اکثر عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی به دلیل سمیت کم برای پستانداران و دوام محیطی بسیار پائین، برای سلامت انسان و محیط زیست تهدید جدی به شمار نمی‌آیند، از این رو در دو دهه اخیر خواص زیستی این گروه از ترکیبات گیاهی به ویژه خاصیت حشره‌کشی و کنه‌کشی آنها بسیار مورد توجه بوده است. آنزیم استیل‌کولین‌استراز، گیرنده نیکوتینی استیل‌کولین، گیرنده اکتوپامین و کانال یونی وابسته به گیرنده گابا از مهمترین جایگاه‌های هدف اسانس‌های گیاهی به شمار می‌آیند (Isman, 2020؛ Tong & Coats 2010؛ Enan, 2005). بررسی‌ها اثرات کنه‌کشی اسانس‌های گیاهی بر کنه‌های گیاهخوار از جمله *T. urticae* را تایید نموده است (Susurluk, 2023؛ Bozhuyuk, *et al.*, 2020؛ Amizadeh *et al.*, 2013؛ Miresmailli, *et al.*, 2006؛ Lee *et al.*, 1997). اثرات زیستی خانواده‌های نعناعیان (Lamiaceae)، کاسنیان (Asteraceae)، موردیان (Myrtaceae) و چتریان (Apiaceae) علیه کنه‌های عنکبوتی به اثبات رسیده است (Rincon, *et al.*, 2019). وجود طیفی از ترکیبات غیرفعال در عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی می‌تواند ظهور و گسترش مقاومت در جمعیت‌های آفت را به شکل معنی‌داری کاهش دهد، چنین امکانی در تیمار جمعیت‌های آفت با یک ماده موثره واحد وجود ندارد (Pavela & Benelli, 2016). در یک بررسی (Feng & Isman, 1995)، جهت کنترل دو جمعیت از شته سبز هلو *Myzus persicae* (Sulz.) (Hemiptera: Aphididae) از دو روش متفاوت در معرض قرارگیری با عصاره دانه نیم و آزادیراکتین با محتوای یکسانی از ماده موثره استفاده شد. پس از گذشت زمان مساوی، مقاومت ثبت شده در جمعیت تیمار شده با آزادیراکتین ۹ برابر جمعیت شاهد بود در حالی که در جمعیت تیمار شده با عصاره دانه نیم هیچ نشانه‌ای از مقاومت وجود نداشت. ساختار شیمیایی اسانس‌های گیاهی بسته به تنوع موجود در فنوتیپ شیمیایی (chemotype)، رنگ گل و برگ، بو، منشا گیاه، مرحله رشدی، اندام مورد استفاده برای اسانس‌گیری، فتوسنتز، کیفیت نور، تفاوت‌های آب و هوایی و فصلی، روابط غذایی، تنظیم کننده‌های رشد گیاهی، تراکم گیاه، رطوبت، شوری خاک، دما، روش برداشت و نحوه بارش متفاوت گزارش شده است (Diaz-Maroto *et al.*, 2005؛ Diaz- Maroto *et al.*, 2015؛ Sayed- Ahmad *et al.*, 2017؛ Khammassi *et al.*, 2015؛ Beatovic *et al.*, 2013؛ Dobravalskyte *et al.*, 2015؛ Bagheri *et al.*, 2014؛ Telci *et al.*, 2009؛ Taiwo *et al.*, 2023؛ Kim *et al.*, 2018)، از این رو، مقایسه و جمع‌بندی نتایج بررسی‌های مشابه به دلیل عدم استاندارد سازی شرایط رشد و محل‌های کشت گیاه بسیار سخت به نظر می‌رسد.

اسانس گیاهان آروماتیک مجموعه‌ی پیچیده‌ای از ترکیبات آلی فرار همانند ترپن‌ها (منوترپن‌ها، سسکوئی‌ترپن‌ها و دی‌ترپن‌ها) و ترکیبات آروماتیک (فنیل‌پروپانوئیدها) (Phenylpropanoids) با طیف متنوعی از گروه‌های عملکردی است (Bakkali *et al.*, 2008). اثرات زیستی اسانس‌های گیاهی به اجزاء اصلی سازنده آن‌ها نسبت داده می‌شود، حال آنکه به دلیل وجود اثرات سینرژیستی و یا آنتاگونیستی بین مجموعه‌ی عناصر تشکیل دهنده اسانس، شناخت خصوصیات زیستی این گروه از ترکیبات گیاهی، صرفاً براساس ویژگی‌های زیستی عناصر اصلی تشکیل دهنده آنها نادرست به نظر می‌رسد (Kim *et al.*, 2021؛ Feroz, 2020؛ Arena *et al.*, 2017). بررسی‌ها هم‌افزایی اثرات زیستی اسانس‌ها در کاربرد توام و ترکیبی با یکدیگر و نقش اسانس‌ها در تشدید فعالیت حشره‌کشی آفت‌کش‌های مرسوم در استفاده‌های ترکیبی را به اثبات رسانده است (Arena *et al.*, 2018)، فرایندی که ضمن کمک به کاهش مصرف ترکیبات آفت‌کش (کاهش دز موثر مصرف)، کاهش اثرات سوء بر موجودات غیر هدف از جمله انسان و محیط زیست را نیز امکان‌پذیر می‌سازد. یکی دیگر از چالش‌های اصلی استفاده از این گروه از ترکیبات گیاهی در برنامه‌های کنترل آفات، لزوم کاربرد غلظت/ دزهای بالا جهت ایجاد سمیت حاد یا اثر زیستی رضایت‌بخش بوده است (Kim *et al.*, 2021). در غالب موارد ساختار پیچیده اسانس‌های گیاهی، افزایش کارایی آنها در استفاده‌های ترکیبی علیه جمعیت‌های آفت را به دنبال دارد. بازدارندگی از تغذیه، دور کنندگی، کاهش نرخ جفت‌گیری، کاهش تعداد تخم گذاشته شده به ازاء هر حشره ماده و در نهایت کاهش نتاج در نسل بعد، برخی از اثرات زیرکشندگی تایید شده اسانس‌های گیاهی است (Pavela, 2015؛ Isman, 2020). بهره گرفتن از چنین تنوعی در اثرات زیرکشندگی اسانس‌های گیاهی در کنار توجه به امکان هم‌افزایی خواص زیستی آنها در کاربرد همزمان و ترکیبی با دیگر اسانس‌ها و یا آفت‌کش‌های مرسوم می‌تواند راه‌کار مناسبی جهت رفع چنین محدودیت‌هایی باشد. به رغم آنکه در سال‌های اخیر فعالیت حشره‌کشی اسانس‌های گیاهی مورد توجه بوده است، اما بررسی‌ها در خصوص هم‌افزایی خواص زیستی اسانس‌های گیاهی در کاربرد همزمان و ترکیبی محدود بوده است.

اسانس‌های گیاهی با داشتن طیف متنوعی از عناصر سازنده چربی‌دوست و فرار، در برابر نور، حرارت، رطوبت و اسیدیته بسیار ناپایدار هستند. عامل محدود کننده استفاده از این گروه از ترکیبات گیاهی به عنوان جایگزین‌های اکولوژیکی حشره‌کش‌های مرسوم، تجزیه‌پذیری و تخریب‌پذیری آنهاست، تا بدان جا که کنترل موثر جمعیت‌های آفت، مستلزم کاربرد دو و یا چندباره آنها در طول یک فصل رشد می‌باشد (Isman, 2020). طراحی و معرفی حشره‌کش‌های گیاهی جدید، مستلزم آگاهی از پایداری زیستی و بازه‌های زمانی واجد اثرات محافظتی مورد انتظار است. از این رو، بررسی پیش‌رو با هدف ۱) شناسایی ترکیبات مؤثر گونه‌های گیاهی مورد (Myrtaceae) *Myrtus communis* L.، رازیانه (Apiaceae) *Foeniculum vulgare* Mill.، اکالیپتوس *Eucalyptus globulus* Labill. (Myrtaceae) و بنه *Pistacia atlantica Desf. (Anacardiaceae)* با استفاده از روش کروماتوگرافی گازی–طیف‌سنجی جرمی در دو مرحله رشد رویشی و گل‌دهی کامل، ۲) ارزیابی پایداری زیستی و ۳) سمیت تنفسی اسانس گونه‌های گیاهی نام برده *در کاربرد مستقل و دوتایی علیه مراحل تخم و بالغ کنه T. urticae* انجام شد.

مواد و روش‌ها

پرورش کنه. کلنی اولیه کنه تارتن در اواخر شهریور ۱۴۰۰، از گلخانه‌ای آلوده در شهرستان کرمانشاه (میزبان لوبیا سبز) جمع‌آوری و پس از انتقال به آزمایشگاه مرکز تحقیقات کشاورزی، گونه آن تایید شد. پس از انتقال به گلخانه، پرورش کنه‌ها روی گیاه لوبیا سبز (Fabaceae) *Phaseolus vulgaris* L. رقم سان‌ری، در شرایط دمایی ۱ ± ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵ ± ۶۵ درصد و دوره‌ی نوری ۸ : ۱۶، انجام شد. آزمون‌های زیست‌سنجی پس از گذشت حداقل ۳ نسل، روی نتاج حاصل از این جمعیت گلخانه‌ای صورت گرفت.

JESI Accepted MS

جمع‌آوری گیاه و تهیه اسانس. جمع‌آوری گیاه در دو مرحله رشدی متفاوت، مرحله رشد رویشی و گل‌دهی کامل از نواحی اطراف شهرستان کرمانشاه (34° 53´ N, 48° 31´ E)، انجام شد. شناسایی گونه‌ها توسط کارشناسان گیاه‌شناسی موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور صورت گرفت. قسمت‌های هوایی گیاهان جمع‌آوری شده در دمای اتاق (۲۵° C) و در سایه خشک گردید. در هر نوبت اسانس‌گیری، ۱۰۰ گرم گیاه خشک با مقدارکافی آب مقطر مخلوط شده و اسانس‌گیری با استفاده از دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با آب (*hydrodistillation*) صورت گرفت. به مدت ۴ ساعت به ترکیب فرصت جوشیدن داده شد. با شکفته شدن سلول‌های گیاهی، ترکیبات شیمیایی آن به کمک فاز بخار آزاد شد. پس از آبگیری اسانس توسط سولفات سدیم بدون آب، اسانس بازیافتی وزن شده و درون لوله‌های شیشه‌ای تیره در یخچال (دمای ۴ درجه سلسیوس) تا زمان مصرف نگهداری گردید (Aouadi *et al.*, 2020). بازده اسانس‌گیری نیز به صورت درصد و با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Benddine *et al.*, 2013):

$$R\%= (P´/P) \times 100$$

در فرمول فوق، P´ و P به ترتیب وزن اسانس و وزن گیاه بر حسب گرم هستند.

شناسایی ترکیبات سازنده اسانس. شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده اسانس گونه‌های گیاهی اکالیپتوس، مورد، بنه و رازیانه با استفاده از یک دستگاه کروماتوگراف متصل به اسپکترومتر طیفی و مجهز به ستون مویین (اچ‌پی ۵، ضخامت لایه نازک ۰/۲۵ میکرومتر، طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر) انجام شد. پیش از تزریق، آبگیری و رقیق‌سازی نمونه‌های اسانس به ترتیب با استفاده از نمک سولفات سدیم و حلال هگزان صورت گرفت. شناسایی عناصر سازنده اسانس از طریق مقایسه شاخص‌های بازداری با شاخص‌های بازداری ترکیبات شناخته شده و تطبیق طیف‌های جرمی خروجی دستگاه با طیف‌های موجود در پایگاه داده طیف‌سنجی جرمی، انجام شد. در برنامه‌ی حرارتی، دمای اولیه ستون ابتدا به مدت ۴ دقیقه در ۶۰ درجه سلسیوس ثابت نگه داشته شد، سپس به مدت ۲ دقیقه تا دمای ۱۰۰ درجه سلسیوس (با سرعت ۳ درجه سلسیوس در هر دقیقه) افزایش یافت. در پایان، دما به مدت ۵ دقیقه تا دمای ۲۵۰ درجه سلسیوس (با سرعت ۴ درجه سلسیوس در هر دقیقه) بالا رفت. سرعت جریان گاز هلیوم ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه، حجم تزریق ۱ میکرولیتر و دمای اتاقک تزریق نیز ۲۶۰ درجه سلسیوس در نظر گرفته شد.

زیست‌سنجی

سمیت تنفسی- مرحله بالغ. ارزیابی سمیت تنفسی اسانس گیاهان رازیانه، اکالیپتوس، مورد و بنه روی کنه‌های بالغ (صرف نظر از جنسیت) (۲۴-۰ ساعته) و در ظروف شیشه‌ای درپوش‌دار به حجم ۶۰ میلی‌لیتر انجام شد. در آزمایشات زیست سنجی، درون هر یک ظروف شیشه‌ای، تعداد ۱۵-۱۰ کنه بالغ (۲۴-۰ ساعته) در سطح دیسک‌های برگی قرار داده شد. قطعه‌ای از کاغذ صافی به ابعاد ۲/۵×۲/۵ سانتی‌متر به سطح داخلی درپوش ظروف چسبانده و با غلظت‌های مشخصی از اسانس (بدون استفاده از حلال) آغشته گردید (Reddy & Dolma, 2018). بر اساس نتایج آزمون‌های مقدماتی و با استفاده از مدل فاصله لگاریتمی، سمیت تنفسی هر یک از اسانس‌ها در محدوده تلفات ۱۰ و ۹۰ درصد (Robertson *et al.*, 2007) و در بازه زمانی ۲۴ ساعت براورد گردید. به هر تیمار ۶ غلظت با حداقل ۹ تکرار اختصاص یافت. دامنه غلظت‌های مورد استفاده در زیست‌سنجی‌ها برای اسانس مورد، بنه، اکالیپتوس و رازیانه به ترتیب از ۲ تا ۸/۵، ۲/۵ تا ۱۲/۵، ۳/۴ تا ۲۰ و ۱/۰۸ تا ۱۵/۶ میکرولیتر بر لیتر هوا، متغیر بود. تمامی آزمایشات در شرایط دمایی ۱ ± ۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵ ± ۶۵ درصد و دوره‌ی نوری ۸ : ۱۶) انجام شد. در پایان ۲۴ ساعت، کنه‌های بالغی که قادر به حرکت پاهای خود در اثر تحریک با نوک سوزن نبودند، مرده در نظر گرفته شدند.

سمیت تنفسی- آزمون پایداری. به منظور ارزیابی میزان دوام اسانس گونه‌های گیاهی مورد، بنه، رازیانه و اکالیپتوس از ۵ برابر غلظت کشنده ۹۰ درصد، به ترتیب معادل ۵۶/۲۰، ۸۰/۶۵، ۱۲۵/۴۵ و ۱۶۴/۵۰ میکرولیتر بر لیتر هوا استفاده شد. روزانه تعداد ۲۰ کنه بالغ (۲۴-۰ ساعته) به ظروف شیشه‌ای منتقل شد. تلفات در بازه زمانی ۲۴ ساعت و به روش تنفسی محاسبه گردید. در پایان هر ۲۴ ساعت، جمعیت کنه‌های داخل ظروف شیشه‌ای با جمعیت‌های جدید (۲۰ کنه بالغ در هر بار) جایگزین شد، این روند تا زمان به صفر رسیدن تلفات کنه‌های بالغ در تیمار با اسانس‌ها، در حداقل ۶ تکرار ادامه یافت (Ahmadi *et al.*, 2018).

سمیت تنفسی- مرحله تخم. جهت ارزیابی قدرت تخم‌کشی هر یک از اسانس‌های مورد بررسی، از تخم‌های همسن (۲۴-۰ ساعته) استفاده شد. برای این منظور، ۸ کنه ماده بالغ در سطح برگ‌های تازه لوبیا قرار داده شد، پس از گذشت ۲۴ ساعت، کنه‌های ماده حذف و از تخم‌های گذاشته شده در سطح برگ‌ها در آزمون‌های زیست‌سنجی استفاده گردید. برای هر غلظت ۱۵۰-۱۳۰ تخم در سه تکرار جداگانه در نظر گرفته شد. تمامی تست‌ها در دمای ۲۶±۲ درجه سلسیوس، رطوبت ۱۰±۵۰ درصد و دوره تاریکی- روشنایی ۱۶:۸ انجام شد. از ظروف پلاستیکی ۴ لیتری به ابعاد ۱۶ سانتی‌متر قطر و ۲۰ سانتی‌متر ارتفاع با درپوش محکم و غیر قابل نفوذ، در زیست‌سنجی‌ها استفاده شد. براساس نتایج آزمون مقدماتی، غلظت‌های مورد استفاده در زیست‌سنجی با مرحله تخم از ۱/۲ تا ۱۱/۵ میکرولیتر بر لیتر هوا، متغیر بود. مدت زمان اسانس‌دهی نیز ۷۲ ساعت در نظر گرفته شد. تخم‌های تفریخ نشده در هر غلظت، مرده به شمار آمدند. ثبت نتایج این مرحله از زیست‌سنجی‌ها، تا ۵ روز پس از تفریخ اولین تخم در جمعیت شاهد ادامه یافت (Duso *et al.*, 2008).

سمیت تنفسی- کاربرد ترکیبی اسانس‌ها. در زیست‌سنجی ترکیبی با اسانس گونه‌های مورد، رازیانه، بنه و اکالیپتوس علیه مراحل تخم و بالغ *T. urticae* از نسبت حجمی مساوی (۱:۱) استفاده شد. دامنه غلظت اسانس‌ها در استفاده همزمان علیه مراحل بالغ و تخم، به ترتیب از ۲/۳ تا ۱۴/۵ و ۱/۲ تا ۶/۵ میکرولیتر بر لیتر هوا متغیر بود. اثرات متقابل اسانس‌های گیاهی در کاربرد همزمان با دیگر اسانس‌ها، ممکن است به یکی از سه صورتِ تجمعی (additive)، هم‌افزایی (synergistic) و یا هم‌زدایی (antagonistic) نمود یابد، فاکتور هم‌افزایی (SF, synergistic factor)، شاخص مهمی است که بر اساس مقدار عددی آن می‌توان ماهیت اثرات متقابل اسانس‌ها در سطح غلظت کشنده ۵۰ درصد (LC_{50}) بر روی جمعیت‌های هدف را مشخص نمود. بر اساس نتایج زیست‌سنجی‌ها، در بین اسانس‌های مورد بررسی اسانس‌های مورد و رازیانه از سمیت بالاتری در مقایسه با دیگر اسانس‌ها به ترتیب علیه مراحل بالغ و تخم کنه‌های آفت برخوردار بودند،

JESI Accepted MS

از این رو در محاسبه شاخص سمیت (TI, toxicity index) در سطح غلظت کشنده ۵۰ درصد (LC_{50}) از غلظت کشنده ۵۰ درصد اسانس‌های مورد و رازیانه استفاده شد (Sun, 1950). در مواردی که اثرات متقابل اسانس‌ها بر یکدیگر از نوع هم‌افزایی است، جهت تعیین میزان کاهش مصرف دز (یا غلظت) اسانس‌ها در کاربرد همزمان در مقایسه با کاربرد مستقل هر یک از آنها به تنهایی، از شاخص کاهش دز (DRI, dose reduction index) استفاده می‌شود، محاسبه این شاخص نیز همانند دیگر شاخص‌ها در سطح دز یا غلظت کشنده ۵۰ درصد نجام می‌شود. این شاخص از تقسیم غلظت/ دز کشنده ۵۰ درصد اسانس به تنهایی بر غلظت/ دز کشنده ۵۰ درصد ترکیب همان اسانس با اسانس‌های دیگر بدست می‌آید (Chou, 2010).

تحلیل آماری داده‌ها. تجزیه پروبیت دادهای حاصل از زیست‌سنجی با استفاده از نرم‌افزار POLO-Plus انجام گردید. فواصل اطمینان در سطح احتمال ۹۵٪ برای غلظت‌های کشنده ۵۰ و ۹۰ درصد محاسبه شد. در آزمون نهایی زیست‌سنجی مراحل تخم و بالغ، از ۷ غلظت استفاده شد. عدم هم‌پوشانی محدوده‌های اطمینان ۹۵٪، به مفهوم تایید اختلاف معنی‌دار مقادیر غلظت کشنده ۵۰ درصد (LC_{50}) براورد شده در آزمون‌های زیست‌سنجی است. در صورت وجود تلفاتِ کمتر از ۱۰ درصد در تیمار شاهد، میزان مرگ‌ومیر مشاهده شده به کمک فرمول ابوت تصحیح گردید (Abbott, 1925).

نتایج

بازده اسانس‌گیری. اسانس‌گیری از اندام‌های هوایی گیاهان مورد، رازیانه، اکالیپتوس و بنه در مرحله رشد رویشی و گل‌دهی کامل، با استفاده از دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با آب انجام شد. بازده اسانس‌گیری در مراحل رشد رویشی و گل‌دهی کامل برای اکالیپتوس، مورد، رازیانه و بنه از ۰/۶۹ تا ۱/۲۷ درصد متغیر بود. (جدول ۱). در یک مقدار مساوی از مواد گیاهی و مدت زمان اسانس‌گیری، بیشترین و کمترین بازده اسانس‌گیری به ترتیب برای رازیانه (۱/۲۷) و مورد (۰/۶۹) درصد بدست آمد. مشخص شده است که گیاهان در مرحله گل‌دهی کامل، بالاترین عملکرد را دارند (Moghaddam *et al.*, 2015؛ Toncer *et al.*, 2017)، در بررسی حاضر نیز مرحله گل‌دهی کامل در هر چهار گونه، از بازده بیشتری در مقایسه با مرحله رشد رویشی برخوردار بود.

شناسایی ترکیبات مختلف سازنده اسانس. در تحقیق حاضر ترکیب شیمیایی اسانس گیاهان اکالیپتوس، رازیانه، مورد و بنه در دو مرحله مهم از چرخه زندگی گیاه یعنی مرحله رشد رویشی و گل‌دهی کامل با استفاده از آنالیز GC-MS بررسی شد (جدول۲، جدول۳، جدول۴ و جدول۵). تغییر درصد فراوانی عناصر اصلی سازنده اسانس گونه‌های گیاهی در مراحل مختلف رشدی گیاه، در مطالعات مشابه تایید شده است (Kholiva *et al.*, 2022؛ Jahani *et al.*, 2022). در مجموع در اسانس بنه، اکالیپتوس، مورد و رازیانه، به ترتیب ۲۳، ۲۴، ۳۴ و ۱۷ ترکیب مختلف، شناسایی شد. در مرحله گل‌دهی کامل گیاهان رازیانه، مورد و اکالیپتوس بیشترین فراوانی به ترکیبات منوترپنی حاوی اکسیژن و در اسانس بنه به هیدروکربن‌های منوترپنه اختصاص داشت (شکل۱). مقایسه داده‌های حاصل از آنالیز GC-MS در مراحل رشد رویشی و گل‌دهی کامل، تغییر ساختار شیمیایی و درصد فراوانی برخی عناصر تشکیل دهنده اسانس اکالیپتوس در بازه‌های زمانی مورد بررسی را تایید نمود. در هر دو مرحله رشد رویشی و گل‌دهی کامل، بالاترین درصد فراوانی به ترکیبات گروه منوترپن‌های اکسیژنه، هیدروکربن‌های منوترپنه و هیدروکربن‌های سسکوئی‌ترپن تعلق داشت. در مراحل رشد رویشی و گل‌دهی کامل، بیشترین غلظت برای اکالیپتول از گروه منوترپن‌های اکسیژنه (۵۲/۶۸ و ۵۰/۹۱ درصد) به ثبت رسید. پس از اکالیپتول، بیشترین سهم عناصر ردیابی شده در اسانس به ترتیب برای آلفا- پینن، آلفا- ترپینولن و آروماندرین به ثبت رسید (جدول۲). در اسانس حاصل از اندام‌های هوایی گیاه مورد، در هر دو مرحله رشد رویشی و گل‌دهی کامل گیاه ۳۴ ترکیب مختلف به ترتیب معادل ۹۸/۲ و ۹۸/۳۹ درصد ردیابی و مشاهده شد. صرف نظر از تغییرات افزایشی و کاهشی اجزاء تشکیل دهنده اسانس در طول دوره‌های رشدی گیاه، در بین عناصر اصلی تشکیل دهنده اسانس مورد، سینئول، لینالول و آلفا- ترپینول از گروه منوترپن‌های اکسیژنه و آلفا- توجون و آلفا- پینن از گروه هیدروکربن‌های منوترپنی به ترتیب از بیشترین درصد فراوانی در مقایسه با دیگر اجزاء برخوردار بودند (جدول۳). در مراحل رشد رویشی و گل‌دهی کامل گیاه بنه، ۲۰ و ۲۳ ترکیب مختلف به ترتیب معادل ۹۲/۵۹ و ۹۷/۹۹ درصد کل اجزاء سازنده اسانس شناسایی شد. در بین عناصر تشکیل دهنده اسانس بنه، بیشترین فراوانی در هر دو مرحله رشد رویشی و گل‌دهی کامل برای آلفا- پینن، از گروه هیدروکربن‌های منوترپنی به ترتیب با ۴۱/۶۸ و ۴۶/۳۹ درصد به ثبت رسید. پس از هیدروکربن‌های منوترپنی، بالاترین غلظت به منوترپن‌های اکسیژنه، هیدروکربن‌های سسکوئی‌ترپن و سسکوئی‌ترپن‌های اکسیژنه اختصاص داشت. خروجی آنالیز GC-MS اسانس بنه در مرحله رشد رویشی، نشان دهنده غیبت برخی از اجزاء سازنده اسانس از جدول نتایج بود (جدول۴). براساس نتایج آنالیز GC-MS در اسانس رازیانه، ۱۷ ترکیب مختلف در هر دو مرحله رشد رویشی (۹۷ درصد) و گل‌دهی کامل (۹۷/۷۹ درصد) شناسایی شد. به رغم تغییر درصد عناصر تشکیل دهنده اسانس بسته به مرحله رشدی گیاه، همچنان آنتول (۴۹/۶۶ و ۴۸/۰۲ درصد)، لیمونن (۱۱/۰۴ و ۱۲/۹ درصد)، فنچون (۱۰/۹ و ۱۱/۲۳ درصد)، استراژول (۶/۱۰ و ۷/۴۰ درصد) و لیمونیک اسید (۵/۳۰ و ۶/۰۸ درصد) فراوانترین عناصر تشکیل دهنده اسانس به ترتیب در مراحل رشد رویشی و گل‌دهی کامل بودند. به استثنای آنتول، درصد عناصر اصلی تشکیل دهنده اسانس رازیانه در مرحله گل‌دهیِ کامل بیشتر از مرحله رشد رویشی براورد شد (جدول۵).

سمیت تنفسی- آزمون پایداری. در بررسی حاضر پایداری زیستی اسانس گونه‌های مورد، رازیانه، اکالیپتوس و بنه در محیط آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفت. به رغم وجود برخی تفاوت‌ها، پایداری و دوام سمیت تنفسی باقی‌مانده در تمامی چهار اسانس نام برده با شیبی نسبتاً تند و در کمتر از ۱۰ روز به به صفر رسید (شکل۲). تلفات سمیت تنفسی باقی‌مانده اسانس‌های گیاهی مورد، اکالیپتوس، بنه و رازیانه در روز ششم بررسی‌ها به ترتیب ۱۴، ۱۱، ۹ و ۷ درصد براورد شد. بیشترین پایداری بر اساس درصد تلفات کنه‌های بالغ، برای اسانس مورد و کمترین پایداری نیز برای اسانس رازیانه مشاهده شد.

جدول ۱- بازده اسانس‌گیری گیاهان بنه، مورد، رازیانه و اکالیپتوس در دو مرحله رشد فنولوژیکی گیاه.

JESI Accepted MS

Table 1. Extraction yields of *Pistacia atlantica*, *Myrtus communis*, *Foeniculum vulgare* and *Eucalyptus globulus* essential oils at two phenological stages.

Scientific Name	Family	Development stage	weight of plant material (g)	weight of oil (g)	yields %
Eucalyptus globulus	Myrtaceae	Vegetative stage	150	1.49	0.99
		Full flowering stage	150	1.74	1.16
Pistacia atlanticae	*Anacardiaceae*	Vegetative stage	150	1.12	0.75
		Full flowering stage	150	1.67	1.13
Myrtus communis	Myrtaceae	Vegetative stage	150	1.03	0.69
		Full flowering stage	150	1.28	0.85
Foeniculum vulgare	Apiaceae	Vegetative stage	150	1.58	1.05
		Full flowering stage	150	1.91	1.27

زیست سنجی

مرحله بالغ. غلظت کشنده ۵۰ درصد اسانس حاصل از اندام‌های هوایی گیاهان مورد، رازیانه، بنه و اکالیپتوس در مرحله گل‌دهی کامل، روی کنه‌های بالغ به ترتیب ۳/۹۵، ۴/۲۷، ۵/۸۱ و ۸/۰۹ میکرولیتر بر لیتر هوا براورد گردید، در بین اسانس گونه‌های مورد بررسی بیشترین سمیت تنفسی به اسانس مورد و کمترین سمیت تنفسی نیز به اسانس اکالیپتوس اختصاص داشت (جدول۶). نظر به هم‌پوشانی محدوده اطمینان براورد شده برای غلظت‌های کشنده ۵۰ درصد اسانس مورد و رازیانه، از نظر آماری بین مقادیر غلظت براورد شده تفاوت معنی‌دار وجود ندارد. تفاوت سمیت اسانس‌های مختلف روی مراحل بالغ کنه، به استثنای اسانس مورد و رازیانه، در سایر موارد از نظر آماری معنی‌دار براورد شد. در ادامه زیست‌سنجی‌ها، جهت روشن شدن اثر متقابل اسانس‌های مورد، رازیانه، اکالیپتوس و بنه، سمیت تنفسی ترکیب دوتایی آنها روی کنه‌های بالغ در نسبت وزنی مساوی بررسی شد (جدول۷). دامنه مقدار عددی براورد شده برای شاخص کاهش دز، از ۱/۱۱ برای ترکیب دوتایی مورد- بنه تا ۱/۷۲ برای ترکیب دوتایی مورد- اکالیپتوس متغیر بود. فاکتور هم‌افزایی در کاربرد همزمان اسانس‌های مورد، رازیانه، اکالیپتوس و بنه، برای ترکیب‌های دوتایی مورد- اکالیپتوس، مورد- بنه، مورد- رازیانه، اکالیپتوس- بنه، رازیانه- اکالیپتوس و بنه- رازیانه به ترتیب ۱/۱۳، ۰/۹۸، ۱/۰۷، ۱/۴۴، ۰/۸۲ و ۱/۰۹ بدست آمد.

جدول ۲- ترکیب شیمیایی اسانس بدست آمده از اندام‌های هوایی گیاه اکالیپتوس در مرحله رشد رویشی و گل‌دهی کامل.

Table 2. Chemical composition of essential oils obtained from *Eucalyptol globulus* aerial parts at vegetative and full-flowering stages.

NO	compound	RT	Concentration (%)	
			Vegetative Stage	Full-flowering
1	alpha.-Pinene	5.07	10.65	10.77
2	alpha.-Terpinen	5.62	0.24	0.58
3	alpha.--Thujene	5.76	0.20	0.58
4	Eucalyptol (p-Cineole)	6.36	52.68	50.91
5	(+)-4-Carene	6.55	0.60	1.17
6	Isoterpinolene	6.84	0.40	0.47
7	iso-Amyl 2-methyl butyrate	6.95	0.46	0.69
8	cis-â-Terpineol	7.00	0.82	1.06
9	Camphenol	7.25	0.30	0.44
10	L-trans-Pinocarveol	7.44	0.40	1.92
11	Verbenone, (L)-	7.61	0.40	0.63
12	Cidalon (Thanisol)	7.70	0.56	0.41
13	L-terpinen-4-ol	7.76	3.68	3.07
14	α-Terpinolene	7.90	3.49	4.83
15	Linalyl butyrate	8.25	0.95	1.18
16	á-Terpineol acetate	9.02	1.68	1.71
17	Geranyl Formate	9.19	1.17	0.82
18	â-Patchoulene	9.49	0.21	0.48
19	Aromandendrene	9.72	3.45	3.32
20	Alloaromadendrene	9.87	2.11	2.78
21	Guaia-1(10),11-diene (δ-Guaijene)	10.88	0.65	1.21
22	d-Viridiflorol	10.60	0.32	0.55
23	(+)-Spathulenol	10.75	3.01	2.78
24	(-)-Globulol	10.80	2.65	2.74

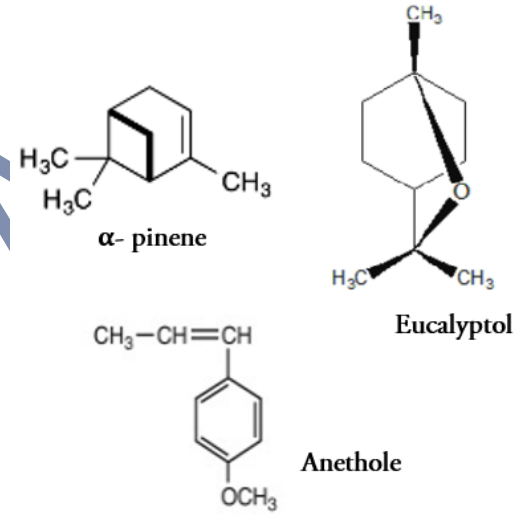
جدول ۳- ترکیب شیمیایی اسانس بدست آمده از اندام‌های هوایی گیاه مورد در مرحله رشد رویشی و گل‌دهی کامل.

Table 3. Chemical composition of essential oils obtained from *Myrtus communis* aerial parts at vegetative and full-flowering stages.

NO	compound	RT	Concentration (%)	
			Vegetative Stage	Full-flowering Stage
1	Isubutyl isobutyrate	4.778	0.81	**0.95**

Archive of SID

2	α- pinene	5.124	18.09	**17.91**
3	α- Fenchene	5.275	0.19	**0.23**
4	α- Terpinene	5.622	0.87	**0.35**
5	α- Thujone	5.758	18.41	**18.96**
6	8- Hydroxylinalool	5.799	0.22	**0.20**
7	α- Ocimene	6.002	0.26	**0.37**
8	Cineole	6.327	22.12	**21.43**
9	(+)- 4- Carene	6.543	0.29	**0.35**
10	cis- Linaloloxide	6.727	0.31	**0.15**
11	Allo- Ocimene	6.84	5.40	**6.10**
12	Trans- Limonene oxide	6.886	0.23	**0.19**
13	α- Linalool	7.037	7.16	**8.43**
14	Camphen- 6- ol	7.261	0.51	**0.39**
15	L- Pinocarveol	7.446	0.81	**0.75**
16	Isothujol	7.702	0.21	**0.17**
17	L- 4- terpineneol	7.759	0.81	**0.60**
18	α- Terpinol	7.92	7.01	**7.38**
19	3,6- Dimethylenectahydro- 1- benzofuran	8.051	0.51	**0.31**
20	cis- p- mentha- 1(7), 8- dien- 2- ol	8.146	0.81	**0.62**
21	Linlyl acetate	8.259	2.69	**2.05**
22	cis- Geraniol	8.336	1.21	**1.34**
23	10,13- Octadecadiynoic acid, methyl ester	8.659	0.56	**0.26**
24	α-Terpineol acetate	9.024	4.91	**4.06**
25	Geranyl acetate	9.198	0.75	**0.30**
26	Eugenol methyl ether	9.428	1.04	**1.13**
27	Isocaryophillene	9.585	0.10	**0.09**
28	Humulene	9.823	0.11	**0.19**
29	Cinerolone	10.22	0.51	**0.97**
30	Flavesone	10.35	0.22	**0.31**
31	Caryophylene oxide	10.77	0.39	**0.53**
32	Humulene- 1,2- epoxide	10.98	0.09	**0.21**
33	cis- Verbenol	11.19	0.59	**0.65**
34	Ethyl stearate, mono 9- epoxy	11.83	0.19	**0.27**



شکل ۱. ساختمان مولکولی سه جزء اصلی تشکیل دهنده اسانس بنه، مورد، رازیانه و اکالیپتوس

Fig. 1. Molecular structure of the major compounds found in the *Pistacia atlantica*, *Myrtus communis*, *Foeniculum vulgare* and *Eucalyptus globulus* essential oils.

جدول ٤– ترکیب شیمیایی اسانس بدست آمده از اندام‌های هوایی گیاه بنه در مرحله رشد رویشی و گل‌دهی کامل.

Table 4. Chemical composition of essential oils obtained from *Pistacia atlantica* aerial parts at vegetative and full-flowering stages.

NO	Compound	RT	Concentration (%)	
			Vegetative Stage	Full-flowering Stage
1	alpha.-Pinene	5.154	41.68	46.39
2	Camphene	5.294	2.14	2.06
3	Nopinene	5.629	6.20	5.49
4	alpha- Myrcene	5.773	11.06	10.98
5	α- Ocimene	6.002	-	0.69

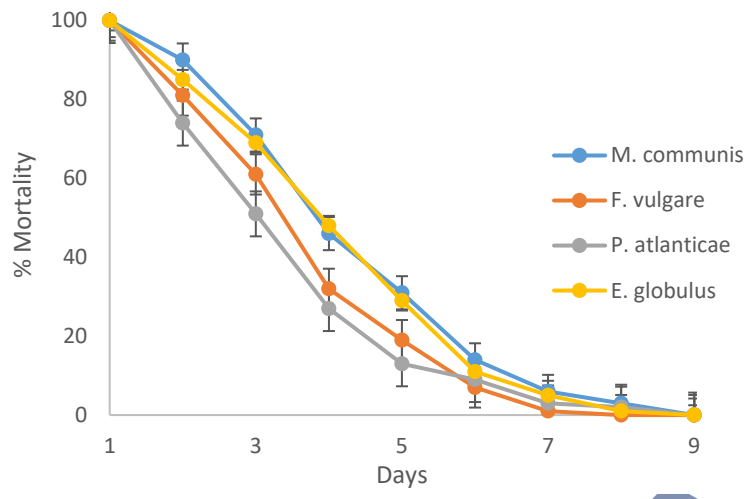
6	D- Limonene	6.219	2.40	3.10
7	Artemiseole	6.706	1.16	1.51
8	(+) - 4 - Carene	6.837	2.98	1.03
9	Camphenol	7.247	1.10	1.17
10	L-trans-Pinocarveol	7.445	1.79	2.95
11	2-Naphthalenamine	7.559	2.05	1.52
12	L- terpinen- 4- ol	7.76	1.32	1.17
13	L-α- Terpineol	7.905	5.84	6.86
14	Verbenone	8.045	1.11	1.37
15	cis- p- Mentha- 2, 8- dien-1- ol	8.144	-	0.90
16	2,4- Decadienal	8.299	1.19	1.37
17	Borneol acetate	8.554	2.17	3.37
18	E-2- Tetradecen- 1- ol	9.12	0.85	0.62
19	7- Hexadecanoic acid, methyl ester	9.52	1.45	0.56
20	Trans- Sesquisabinene hydrate	9.856	0.87	0.42
21	Cubenol	10.06	-	0.35
22	(+)- Spathulenol	10.75	3.08	3.10
23	n- Hexadecanoic acid	11.69	2.15	1.01

جدول ۵- ترکیب شیمیایی اسانس بدست آمده از اندام‌های هوایی گیاه رازیانه در مرحله رشد رویشی و گل‌دهی کامل.

Table 5. Chemical composition of essential oils obtained from *Foeniculum vulgare* aerial parts at vegetative and full-flowering stages.

NO	compound	RT	Concentration (%)	
			Pre- flowering	Full-flowering Stage
1	Cyclofenchene	5.059	2.16	3.52
2	Bicyclo [2.2.1] heptane, 2,2- dimethyl- 3-methylene-, (1S)-	5.264	-	0.45
3	α- Pinene	5.568	0.91	0.7
4	α- Myrcene	5.753	0.78	1.05
5	α- Thujene	5.945	0.31	0.25
6	D- Limonene	6.229	12.9	11.04
7	α- Ocimene	6.401	0.36	0.57
8	α- Terpinen	6.537	1.42	1.20
9	Fenchone	6.908	11.23	10.90
10	Camphor	7.445	0.40	0.75
11	Estragole	7.912	7.40	6.10
12	Fenchy acetate	8.146	-	0.17
13	Anethole	8.714	48.02	49.66
14	P- Pentylanisole	9.417	1.11	1.20
15	1,3,12- Nonadecatriene-5, 14- diol	10.00	3.15	2.72
16	Linoleic acid	10.47	6.08	5.30
17	1-(4- methoxyphenyl)1-4-buthanediol	10.86	1.15	1.42

JESI Accepted MS



شکل ۲- تغییرات روزانه سمیت تنفسی اسانس مورد، رازیانه، بنه و اکالیپتوس در بالاترین غلظت روی کنه‌های بالغ *Tetanychus urticae*.

Fig. 2. Fumigant toxicity of the essential oils from *Myrtus communis*, *Foeniculum vulgare*, *Pistacia atlanticae* and *Eucalyptus globulus* against *Tetranychus urticae* at the highest concentration level during different days of exposure.

مرحله تخم. مقادیر غلظت کشنده ۵۰٪ (LC_{50}) حاصل از تیمار مرحله تخم کنه‌های *T. urticae* با اسانس مرحله گل‌دهی کامل گیاهان مورد، رازیانه، اکالیپتوس و بنه در جدول۶ آمده است. عدم هم‌پوشانی محدوده‌های اطمینان ۹۵٪ تفاوت معنی‌دار غلظت کشنده ۵۰ درصد محاسبه شده برای هر یک از اسانس‌های مورد، رازیانه، بنه و اکالیپتوس در بازه زمانی ۷۲ ساعته را تایید می‌کند. عدم هم‌پوشانی محدوده‌های اطمینان ۹۵٪ تفاوت معنی‌دار غلظت کشنده ۵۰ درصد محاسبه شده برای هر یک از اسانس‌های مورد، رازیانه، بنه و اکالیپتوس در بازه زمانی ۷۲ ساعته را تایید می‌کند. بیشترین و کمترین سمیت تنفسی برای مرحله تخم جمعیت‌های آفت، در تیمار با اسانس رازیانه (LC_{50}= ۰/۹۱ میکرو لیتر بر لیتر هوا) و بنه (LC_{50}= ۵/۸۷ میکرو لیتر بر لیتر هوا) به ثبت رسید. در آزمون‌های تکمیلی جهت روشن شدن اثر متقابل هر یک از اسانس‌های مورد، رازیانه، اکالیپتوس و بنه با دیگر اسانس‌ها، سمیت تنفسی ترکیب دوتایی آنها روی مرحله تخم کنه، در نسبت‌های وزنی مساوی بررسی شد (جدول۷).ترتیب غلظت کشنده ۵۰ درصد براورد شده برای ترکیب‌های دوتایی اسانس، از کمترین به بیشترین میزان به ترتیب برای ترکیب‌های دوتایی رازیانه- اکالیپتوس، اکالیپتوس- بنه، بنه- رازیانه، مورد- اکالیپتوس، مورد- رازیانه و مورد- بنه بدست آمد. فاکتور هم‌افزایی در کاربرد همزمان اسانس‌های مورد، رازیانه، اکالیپتوس و بنه، برای ترکیب‌های دوتایی مورد- اکالیپتوس، مورد- بنه، مورد- رازیانه، اکالیپتوس- بنه، رازیانه- اکالیپتوس و بنه- رازیانه به ترتیب ۰/۶۸، ۱/۴، ۰/۵۳، ۲/۹ و ۱/۴۴ بدست آمد. مقدار شاخص در کاهش یافته در کاربرد ترکیبی اسانس‌های مورد، رازیانه، اکالیپتوس و بنه، برای ترکیب‌های دوتایی مورد- اکالیپتوس، مورد- بنه، مورد- رازیانه، اکالیپتوس- بنه، رازیانه- اکالیپتوس و بنه- رازیانه به ترتیب ۱/۷۶، ۱/۸۲، ۱/۳۱، ۶/۸۲ و ۲/۱۱ و ۵/۲۹ براورد شد، به این ترتیب بیشترین کاهش در مطلوب برای ترکیب اکالیپتوس- بنه و کمترین آن نیز برای ترکیب مورد- رازیانه بدست آمد.

بحث

عوامل زیادی بر بازده اسانس‌دهی، ساختار شیمیایی و خواص زیستی اسانس‌های گیاهی موثر هستند، اندام گیاهی مورد استفاده (ریشه، ساقه، گل، میوه، برگ و بذر)، روش اسانس‌گیری (Bagheri *et al.*, 2014)، شرایط آب و هوایی، ویژگی‌های خاک منطقه رویش (Khammassi *et al.*, 2018)، فاکتورهای ژنتیکی (Dobravalskyte *et al.*, 2013)، فصل برداشت، عوامل جغرافیایی (Diaz-Maroto *et al.*, 2005)، دوره رسیدن (Telci *et al.*, 2009)، و شرایط انبارداری (نور، دما) (Sayed-Ahmad *et al.*, 2017) از مهمترین این عوامل به شمار می‌آیند. یکی از چالش‌های مهم کاربرد عملی این گروه از ترکیبات گیاهی در عمل، بهینه‌سازی این عوامل با هدف رسیدن به بیشترین کارایی اسانس‌گیری و بهترین کیفیت عناصر فعال تشکیل دهنده آن است. تغییر بازده اسانس‌دهی و ترکیب شیمیایی اسانس‌های گیاهی بسته به مرحله رشدی گیاه، حتی در بین گیاهان هم‌گونه نیز وجود دارد. در همین راستا و با هدف معرفی بهترین مرحله رشدی جهت برداشت گیاه با بیشترین بازده اسانس‌گیری و موثرترین خواص زیستی علیه گونه‌های آفت، اسانس‌گیری از اندام‌های هوایی گیاهان مورد، رازیانه، اکالیپتوس و بنه در مرحله رشد رویشی و گل‌دهی کامل، با استفاده از دستگاه کلونجر و به روش تقطیر با آب انجام شد. مشخص شده است که گیاهان در مرحله گل‌دهی کامل، بالاترین عملکرد را دارند (Moghaddam *et al.*, 2015؛ Toncer *et al.*, 2017)، در بررسی حاضر نیز مرحله گل‌دهی کامل در هر چهار گونه، از بازده بیشتری در مقایسه با مرحله رشد رویشی برخوردار بود. راندمان اسانس‌دهی گیاهان اکالیپتوس، مورد، رازیانه و بنه صرف نظر از مرحله رشدی از ۰/۶۹ تا ۱/۲۷ درصد متغیر بود (جدول۱). بازده اسانس‌دهی بنه در مرحله رشد رویشی و گل‌دهی کامل به ترتیب ۰/۷۵ و ۱/۱۳ درصد براورد شد که به مراتب بیشتر از داده‌های مشابه موجود است. در یک مطالعه (Zerkani *et al.*, 2022) در خصوص ترکیب شیمیایی، پتانسیل دارویی و سمیت اسانس بنه *P. atlanticae*، بازده اسانس‌دهی برگ، میوه و پوست بنه به ترتیب ۰/۰±۵۲/۳۶، ۰/۰±۴۶/۲۴ و ۰/۳۱±۰/۱۵ درصد گزارش شد. بازده اسانس‌دهی رازیانه *F. vulgare* در بررسی حاضر (۱/۲۷-۱/۰۵ درصد) در مقایسه با مقادیر گزارش شده (Hamada *et al.*, 2021) (۰/۸۹ درصد) به مراتب بیشتر بوده است. بر اساس یک تحقیق (Bouzabata *et al.*, 2015)، راندمان اسانس‌دهی بخش‌های

JESI Accepted MS

هوایی گیاه مورد *Myrtus communis* رشد یافته در مناطق شرقی، مرکزی و غرب الجزایر، بین ۰/۴ تا ۱ درصد متغیر بوده است. در تحقیقی مشابه (Mohamadi *et al.*, 2021) این شاخص برای گیاه مورد ۱۹ منطقه از ۹ ناحیه مشخص در الجزایر بین ۰/۲ تا ۱/۵۲ درصد و برای برگ‌های رازیانه مناطق شمال شرقی الجزایر ۰/۹۲ درصد (Foudil- Cherif *et al.*, 2013) گزارش شد. بازده اساتس‌دهی گزارش شده برای اسانس برگی مورد از ایران (Rahimmalek *et al.*, 2018)، یوگسلاوی (Savikin-Fodulovic *et al.*, 2000)، ترکیه (Ozcan & Chalchat, 2010)، ایتالیا (Montoro *et al.*, 2006)، پرتغال (Gama *et al.*, 2014)، مراکش (Viuda-Martos *et al.*, 2011) و عربستان سعودی (Khan & Musharaf, 2014) به ترتیب ۱/۴۷–۰/۴۷، ۰/۷۶، ۶۲/۱۰–۰/۱، ۰/۵۲، ۳۳/۷۴–۰/۰، ۳/۰–۰/۲ و ۰/۶۸ درصد گزارش شده است. در یک مطالعه (Kholiva *et al.*, 2022) بازدهی اسانس‌دهی گیاه ریحان شیرین *Ocimum basilicum* L. (Labiatae)، در چهار مرحله‌ی رشد رویشی، گل‌دهی ۵۰ درصد، گل‌دهی کامل و تشکیل بذر مورد ارزیابی قرار گرفت، در بین مراحل مختلف رشدی، بیشترین راندمان، برای مرحله گل‌دهی کامل با محتوای لینالول بیش از ۷۵ درصد بدست آمد. تاثیر معنی‌دار مرحله رشدی و تراکم گیاه در واحد سطح، بر ساختار شیمیایی اسانس و راندمان اسانس‌دهی، یافته دیگر این بررسی بوده است.

گزارش‌های متعددی از تغییر کمیت و کیفیت عناصر تشکیل دهنده اسانس‌های گیاهی بسته به مرحله رشدی گیاهان دارویی و معطر وجود دارد. خاستگاه گونه‌ها نیز در نحوه تاثیرپذیری ساختار شیمیایی ترکیبات گیاهی از تغییرات آب و هوایی و فصلیِ منطقه پرورش گیاه موثر است (Chalchat ؛ Bouyahya *et al.*, 2021؛ *et al.*, 1998). ارزیابی دقیق ساختار شیمیایی اسانس‌های گیاهی بدون بررسی تغییرات این گروه از ترکیبات گیاهی در طی فصل رشد امکان‌پذیر نمی‌باشد. این در حالی است که هر گونه تغییر در ترکیب شیمیایی اسانس‌های گیاهی، تغییر در سمیت و خواص زیستی آنها را به همراه دارد. نظر به اهمیت چنین تغییراتی، در تحقیق حاضر ترکیب شیمیایی اسانس گیاهان اکالیپتوس، رازیانه، مورد و بنه در دو مرحله مهم از چرخه زندگی گیاه یعنی مرحله رشد رویشی و گل‌دهی کامل با استفاده از آنالیز GC-MS بررسی شد (جدول۲، جدول۳، جدول۴ و جدول۵).

جدول ٦- سمیت تنفسی اسانس‌های مورد، بنه، اکالیپتوس و رازیانه روی مراحل تخم و بالغ *Tetranychus urticae*

Table 6. Fumigant toxicity of essential oils against eggs and adults of *Tetranychus urticae*.

Treatments used	Stage	Period (h)	n [a]	df [b]	Slop (SE)	χ^{2c}	LC_{50} (95% CL[d]) (µL/L air)
Myrtus communis	Egg	72	400	5	2.85 (0.19)	4.08	3.62 (3.39-3.87)
	Adult	24	300	5	2.82 (0.20)	4.53	3.95 (3.68-4.22)
Pistacia atlantica	Egg	72	400	5	4.36 (0.32)	6.40	5.87 (5.07-6.53)
	Adult	24	300	5	2.89 (0.19)	2.79	5.81(5.43-6.22)
Eucalyptus globulus	Egg	72	400	5	3.61 (0.29)	1.49	1.59 (1.44-1.71)
	Adult	24	300	5	2.61 (0.17)	3.94	8.09 (7.50-8.72)
Foeniculum vulgare	Egg	72	400	5	3.22 (0.31)	7.06	0.91 (0.76- 1.04)
	Adult	24	300	5	2.44 (0.11)	6.36	4.27 (3.73-4.87)
M-1	Egg	72	400	5	3.59 (0.27)	9.76	2.05 (1.55-2.44)
	Adult	24	300	5	3.39 (0.25)	3.83	4.69 (4.43-4.96)
M-2	Egg	72	400	5	3.16 (0.21)	2.94	3.23 (3.04-3.44)
	Adult	24	300	5	3.19 (0.22)	2.62	4.79 (4.51-5.09)
M-3	Egg	72	400	5	4.71 (0.29)	7.97	2.74 (2.44-3.09)
	Adult	24	300	5	3.35 (0.25)	4.84	3.84 (3.62-4.06)
M-4	Egg	72	400	5	2.69 (0.35)	3.94	0.86 (0.61-1.06)
	Adult	24	300	5	2.92 (0.21)	2.62	4.69 (4.38-5.00)
M-5	Egg	72	400	5	3.39 (0.45)	5.53	0.75 (0.57-0.89)
	Adult	24	300	5	3.21 (0.20)	2.60	6.84 (6.43-7.28)
M-6	Egg	72	400	5	2.85 (0.32)	4.53	1.11 (0.89-1.28)
	Adult	24	300	5	3.49 (0.23)	4.69	4.50 (4.25-4.76)

Different combinations are represented as M-1 (*M. communis* EO: *E. globulus* EO), M-2 (*M. communis* EO: *P. atlantica* EO), M-3 (*M. communis* EO: *F. vulgare* EO), M-4 (*E. globulus* EO: *P. atlantica* EO), M-5 (*F. vulgare* EO: *E. globulus* EO) and M-6 (*P. atlantica* EO: *F. vulgare*).

[a] The number of eggs/adults used in each bioassay.

[b] Degree of freedom.

[c] χ^2 represents Chi-square goodness-of-fit test.

[d] CL, confidence interval limit.

جدول۷– مقایسه شاخص‌های سمیت استفاده ترکیبی از اسانس‌های گیاهی روی مراحل تخم و بالغ کنه *Tetranychus urticae*.

Table 7. Comparison of toxicity indexes of essential oils binary mixtures against eggs and adults of *Tetranychus urticae*.

Treatments used	Stage	Period (h)	n [a]	Observed LC_{50} (µL/L air)	Theoretical LC_{50}[b] (µL/L air)	TI[c]	SF[d]	DRI[e]

Myrtus communis	Egg	72	400	3.62	-	25	-	-
	Adult	24	300	3.95	-	100	-	-
					-			
Pistacia atlantica	Egg	72	400	5.87	-	15	-	-
	Adult	24	300	5.81	-	67.92	-	-
					-			
Eucalyptus globulus	Egg	72	400	1.59	-	57	-	-
	Adult	24	300	8.09	-	48.79	-	-
					-			
Foeniculum vulgare	Egg	72	400	0.91	-	100	-	-
	Adult	24	300	4.27	-	92.43	-	-
M-1	Egg	72	400	2.05	1.39	-	0.68	1.76
	Adult	24	300	4.69	5.32	-	1.13	1.72
M-2	Egg	72	400	3.23	4.54	-	1.4	1.82
	Adult	24	300	4.79	4.72	-	0.98	1.21
M-3	Egg	72	400	2.74	1.45	-	0.53	1.31
	Adult	24	300	3.84	4.11	-	1.07	1.11
M-4	Egg	72	400	0.86	2.5	-	2.9	6.82
	Adult	24	300	4.69	6.76	-	1.44	1.72
M-5	Egg	72	400	0.75	1.15	-	1.53	2.11
	Adult	24	300	6.84	5.59	-	0.82	1.18
M-6	Egg	72	400	1.11	1.59	-	1.44	5.29
	Adult	24	300	4.50	4.93	-	1.09	1.29

Different combinations are represented as M-1 (*M. communis* EO: *E. globulus* EO), M-2 (*M. communis* EO: *P. atlantica* EO), M-3 (*M. communis* EO: *F. vulgare* EO), M-4 (*E. globulus* EO: *P. atlantica* EO), M-5 (*F. vulgare* EO: *E. globulus* EO) and M-6 (*P. atlantica* EO: *F. vulgare*).

[a] The number of eggs/adults used in each bioassay.

[b] Theoretical LC50 = [Proportion of essential oil A/LC_{50} of essential oil A + Proportion of essential oil B/LC_{50} of essential oil B]$^{-1}$.

[c] TI (toxicity index) at LC_{50} level was calculated with respect to *F. vulgare* and *M. communis* essential oils because of their high toxicity *against eggs and adults, respectively (Sun, 1950).*

[d] SF = Theoretical LC_{50}/Observed LC_{50}; SF = 1 (Additive), >1 (Synergistic), <1 (Antagonistic).

[e] DRI = 1 (No dose reduction), >1 (Favorable dose reduction), <1 (Unfavorable dose reduction).

مقایسه داده‌های حاصل از آنالیز GC-MS در مراحل رشد رویشی و گل‌دهی کامل، تغییر ساختار شیمیایی و درصد فراوانی برخی عناصر تشکیل دهنده اسانس مورد، بنه، رازیانه و اکالیپتوس در بازه‌های زمانی مورد بررسی را تایید نمود. در مجموع در اسانس بنه، اکالیپتوس، مورد و رازیانه، به ترتیب ۲۳، ۲۴، ۳۴ و ۱۷ ترکیب مختلف معادل ۹۷/۹۹، ۹۵/۱، ۹۸/۲ و ۹۷/۷۹ درصد شناسایی شد. در مرحله گل‌دهی کامل گیاهان رازیانه، مورد و اکالیپتوس، بیشترین فراوانی به ترکیبات منوترپنی حاوی اکسیژن و در اسانس بنه به هیدروکربن‌های منوترپنه اختصاص داشت. تفاوت در ساختار شیمیایی و به تبع آن عملکرد زیستی ترکیبات گیاهی، حتی در بین افراد هم‌گونه نیز وجود دارد، تا بدان جا که مقایسه و جمع‌بندی نتایج بررسی‌های مشابه به دلیل عدم استاندارد سازی شرایط رشد و مناطق کشت گیاه بسیار سخت به نظر می‌رسد. جنس *Eucalyptus* (Myrtaceae)، بومی استرالیا بوده و بیش از ۹۰۰ گونه مختلف را در بر می‌گیرد. در حال حاضر، گستره جغرافیایی این گیاه تقریباً تمامی نقاط جهان به ویژه نواحی استوایی و معتدل را شامل می‌شود. در تحقیق پیش‌رو، از مجموع ۲۴ ترکیب شناسایی شده در اسانس اکالیپتوس *E. globulus*، بالاترین درصد فراوانی به اکالیپتول (پی- سینئول) و آلفا- پینن اختصاص داشت. براساس داده‌های حاصل از ۱۱۷ مقاله علمی منتشر شده، اکثر مطالعات صورت گرفته روی جنس *Eucalyptus*، مربوط به دو گونه *E. globulus* و *E. camaldulensis* بوده است. ۸،۱- سینئول، آلفا- پینن (alpha- pinene)، پی- سیمن (p- cymene)، آلفا ترپینئول (α- terpineol)، لیمونن، گاما- ترپینن (γ- terpinene)، آلفا-فلاندرین (α- phellandrene)، بتا- پینن (ß- pinene)، گلوبولول (globulol)، آرومادندرین (aromadendrene) و بتا- فلاندرین (ß- phellandrene)، از مهمترین ترکیبات سازنده اسانس اکالیپتوس شناخته می‌شوند (Danna *et al.*, 2024). در بین عناصر تشکیل دهنده اسانس بنه، بیشترین فراوانی در هر دو مرحله رشد رویشی و گل‌دهی کامل برای آلفا- پینن، از گروه هیدروکربن‌های منوترپنی به ترتیب با ۴۱/۶۸ و ۴۶/۳۹ درصد به ثبت رسید. پس از آلفا- پینن، بالاترین درصدها به ترتیب به آلفا-مرسین (alpha- myrcene)، نوپینن (Nopinene)، آلفا- ترپینئول (alpha- terpineol) و اسپاتیولنول (spathulenol) اختصاص داشت. ترکیب شیمیایی اسانس بنه بسته به اندام گیاهی مورد استفاده جهت اسانس‌گیری متفاوت گزارش شده است. براساس داده‌های حاصل از یک مطالعه (Zerkani *et al.*, 2022)، ترکیب اصلی شناسایی شده در اسانس بدست آمده از برگ و میوه‌های بنه، ترپینن -۴- ال به ترتیب با ۲۴/۸۸ و ۲۹/۰۷ درصد و ترکیب اصلی تشکیل دهنده اسانس پوست بنه نیز، آلفا- پینن با ۱۴/۶۱ درصد بوده است، ترپینن- ۴- ال، پی- سیمن، آلفا- پینن و اسپاتیولنل مهمترین ترکیبات شناسایی شده در اسانس برگی بنه، ترپینن- ۴- ال، سابینن (Sabinene) و آلفا- پینن مهمترین اجزاء شناسایی شده در اسانس حاصل از میوه‌های بنه و آلفا- پینن، میرتنول (myrtenol)، وربنول (verbenol) و بتا- پینن نیز از مهمترین اجزاء تشکیل دهنده اسانس پوست بنه در پژوهش مذکور بوده‌اند. به رغم تغییر درصد عناصر تشکیل دهنده اسانس رازیانه بسته به مرحله رشدی گیاه، همچنان آنتول (۴۹/۶۶ و ۴۸/۰۲ درصد)، لیمونن (۱۱/۰۴ و ۱۲/۹ درصد)، فنچون (۱۰/۹ و ۱۱/۲۳ درصد)، استراژول (۶/۱۰ و ۷/۴۰ درصد) و لیمونیک اسید (۵/۳۰ و ۶/۰۸ درصد) فراوانترین عناصر تشکیل

JESI Accepted MS

دهنده اسانس به ترتیب در مراحل رشد رویشی و گل‌دهی کامل، در تحقیق حاضر بوده‌اند. از ترانس– آنتول (trans-anethole) (۸۶/۵۰ درصد) و کامفور (camphor) (۷/۷۰ درصد)، به عنوان اجزاء اصلی تشکیل دهنده اسانس رازیانه در مناطق شرقی الجزایر (Boudraa *et al.*, 2021) و از آلفا– فلاندرن (alpha- phellandrene) (۲۹/۴۴ درصد)، آنت اتر (aneth-ether) (۲۱/۵۲ درصد) و دی– لیمینن (D- liminen) (۱۰/۱۱ درصد) نیز به عنوان عناصر اصلی سازنده اسانس رازیانه از مناطق جنوب شرقی الجزایر، نام برده شده است (Hamada *et al.*, 2021). در یک نگاه کلی، عناصر اصلی سازنده اسانس رازیانه مشتقات فنیل‌پروپانوئید (phenylpropanoid) و منوترپنوئیدها هستند. ترانس– آنتول (trans-anethole)، فنچون و استراتژول (estragole)، از گروه منوترپن‌های اکسیژنه (oxygenated monoterpenes) و لیمونن از منوترپن‌ها فراوانترین عناصر شناسایی شده در اسانس *F. vulgare* به شمار می‌روند. هیدروکربن‌های منوترپنی (monoterpene hydrocarbons) همچون آلفا–پینن، کامفور، لینالول نیز در اسانس رازیانه وجود دارند که از نظر اهمیت و فراوانی در مقایسه با دیگر گروه‌ها در اقلیت قرار دارند. در پژوهشی دیگر (Benddine *et al.*, 2023)، ۱۰ منوترپن (۱۰/۸۴ درصد)، ۵ منوترپن اکسیژنه (۸۸/۴۴ درصد) و ۳ سسکوئی‌ترپن (۰/۷۲ درصد) و در مجموع ۱۸ ماده موثره در اسانس رازیانه *Foeniculum vulgare* شناسایی گردید، در بین اجزاء شناسایی شده، بیشترین درصد فراوانی به آنتول (۸۴/۶۰ درصد) و کمترین درصدهای فراوانی نیز به ترتیب به دی– لیمونن (D- Limonene)، الفا– پینن (α- pinene) و ال– فنچون (L- fenchone) اختصاص داشت. در بخش دیگری از همین بررسی، نوع و درصد فراوانی هر یک از اجزاء سازنده اسانس مورد با استفاده از آنالیز شیمیایی GC-MS تعیین گردید. براین اساس، ۳۱ ترکیب شیمیایی مختلف، شامل ۱۳ منوترپن (۵۹/۷۳)، ۱۲ منوترپن اکسیژنه (۳۶/۵۵)، ۵ سسکوئی‌ترپن (۳/۳۲) و ۱ سسکوئی‌ترپن اکسیژنه (۰/۳۹) (کاریوفیلن اکسید caryophyllene oxide) در اسانس مورد *Myrtus communis* گزارش شد. آلفا– پینما– پینن (α-pinemea-pinene)، ۸،۱– سینئول (1,8- cineole)، نریل استات (neryl-acetate)، آلفا– ترپینئول (α-terpineol)، متیل اژنول (methyleugenol)، لینالول (linalool)، کاریوفیلن (caryophylene) و ژرانیل (geranyl) به ترتیب از مهمترین اجزاء سازنده اسانس مورد در مطالعه مذکور بوده‌اند. صرف نظر از تغییرات افزایشی و کاهشی اجزاء تشکیل دهنده اسانس بسته به مرحله رشدی گیاه مورد، در بین عناصر اصلی تشکیل دهنده اسانس در بررسی حاضر، بیشترین درصد فراوانی به ترتیب به سینئول، لینالول و آلفا– ترپینول از گروه منوترپن‌های اکسیژنه و آلفا– توجون و آلفا– پینن از گروه هیدروکربن‌های منوترپنی تعلق داشت (جدول۳). وجود فنوتیپ شیمیایی آلفا–پینن/ ۱،۸– سینئول در اسانس قسمت‌های هوایی *M. communis* در مطالعات قبلی نیز تایید شده است (Toudert- Taleb *et al.*, 2014؛ Bouzabata *et al.*, 2015؛ Bekhechi *et al.*, 2019). در یک بررسی (Moghrani & Maachi, 2008) از ۱،۸– سینئول (۱۵/۸)، لیمونن (limonene) (۸/۷) و آلفا– پینن (۲/۹) و در تحقیقی مشابه دیگری (Djenane *et al.*, 2011)، از ۱،۸– سینئول (۴۶/۹۸) و سیس– ژرانیول (۲۵/۱۸) (cis- geraniol) به عنوان مهمترین عناصر سازنده اسانس *M. communis* یاد شده است. ترکیب شیمیایی اسانس برگی مورد رویشی در مناطق مرکزی الجزایر در طی فصل میوه‌دهی گیاه غنی از لیمونن (۲۳/۴درصد)، لینالول (linalool) (۱۵/۴ درصد)، ژرانیل استات (geranyl acetate) (۱۰/۹ درصد)، آلفا– پینن (۱۰/۷ درصد)، لینالیل استات (linalyl acetate) (۸/۲ درصد) و ۱،۸– سینئول (۶/۶ درصد) گزارش شده است. (Hennia *et al.*, 2016) یافته‌های فوق، وجود فنوتیپ‌های شیمیایی الجزایری آلفا– پینن/ ۱،۸– سینئول (α- pinene/ 1,8- cineole)، ۱،۸– سینئول/ لیمونن (1,8- cineole/ limonene)، ۱،۸– سینئول/ ژرانیول (1,8- cineole/ geraniol) و لیمونن/آمپستر/ ژرانیل استات (limonene/ampestr/geranyl acetate) را به اثبات می‌رساند. به لحاظ ترکیب شیمیایی بین اسانس قسمت‌های هوایی گیاه مورد نواحی مختلف بسته به فصل برداشت و مرحله رشدی نوعی یکدستی و قرابت به چشم می‌خورد، به گونه‌ای که احتمال وجود نوعی ارتباط مستقیم بین فاکتورهای ژنتیکی و ترکیب شیمیایی اسانس *M. communis* تقویت می‌گردد (Bazzali ؛ Walle *et al.*, 2014؛ Mohamadi *et al.*, 2021؛ Mimica-Dukic *et al.*, 2010؛*et al.*, 2012). کارایی اسانس‌های اکالیپتوس، مورد، بنه و رازیانه روی جمعیت‌های آفت، مثبت ارزیابی شده است. بررسی حاضر با هدف ارزیابی سمیت تنفسی اسانس مورد، بنه، اکالیپتوس و رازیانه *در کاربرد مستقل و ترکیبی علیه مراحل تخم و بالغ کنه T. urticae انجام شد.* در بین اسانس گونه‌های مورد بررسی بیشترین سمیت تنفسی روی کنه‌های بالغ به اسانس مورد و کمترین سمیت تنفسی نیز به اسانس اکالیپتوس تعلق داشت (جدول۶). اسانس مورد در مقایسه با اسانس اکالیپتوس، رازیانه و بنه، به ترتیب ۲/۰۵، ۱/۴۷ و ۱/۰۸ برابر سمی‌تر گزارش شد. بیشترین و کمترین سمیت تنفسی برای مرحله تخم جمعیت‌های آفت، در تیمار با اسانس رازیانه (LC_{50}= ۰/۹۱ میکرولیتر بر لیتر هوا) و بنه (LC_{50}= ۵/۸۷ میکرو لیتر بر لیتر هوا) به ثبت رسید. همانند وضعیت مشاهده شده برای زیست‌سنجی با کنه‌های بالغ، در مرحله تخم نیز همسو با افزایش غلظت اسانس مصرفی، تلفات افزایش یافت. شیب نسبتاً تند خطوط دز– پاسخ، تاییدی بر یک‌دستی جمعیت و پاسخ مراحل تخم و بالغ کنه‌های تارعنکبوتی به اسانس‌های مصرفی بوده است. وجود تلفات بالا در تیمار مراحل تخم و بالغ در بازه زمانی کوتاه مدت ۲۴ ساعته، نشان دهنده تاثیر احتمالی اسانس‌های موردِ بررسی بر سیستم عصبی کنه تارعنکبوتی است، مشابه همین وضعیت در پژوهش‌های قبلی نیز گزارش شده است (Jalali Sendi & Ebadollahi, 2014؛ Susurluk, 2023). تاثیر سریع اسانس‌ها بر جمعیت‌های آفت، به اثرات زیستی ترپنوئیدهای موجود در این گروه از ترکیبات گیاهی بر سیستم عصبی گونه‌های هدف نسبت داده می‌شود (Plata-Rueda *et al.*, 2021). ارتباط قوی خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد میکروبی و کنه‌کشی اسانس‌های گیاهی با مقادیر بالای منوترپن‌ها و ترکیبات منوترپنوئیدی همچون کارواکرول، تیمول و پی– سیمن، به اثبات رسیده است (Koc *et al.*, 2013؛ Amizadeh *et al.*, 2013؛ Shang *et al.*, 2016؛Reddy & Dolma, 2018). تلفات ۱۰۰ درصدی کنه‌های *T. urticae* در تیمار با منوترپنوئیدهای کارواکرول، تیمول و اوژنول در غلظت ۱۰ پی‌پی‌ام و پس از ۲۴ ساعت در معرض قرارگیری نیز گزارش شده است (Lee *et al.*, 1997). یافته‌ها، اثرات کنه‌کشی اسانس گونه‌های مختلف گیاهان روی کنه‌های تارعنکبوتی را تایید نموده است، هر چند که در کمیت و کیفیت این تاثیر گذاری، تفاوت‌هایی وجود دارد. در بین گونه‌های مختلف گیاهی، افراد خانواده Lamiaceae با داشتن طیفی از خواص حشره‌کشی و کنه‌کشی از پتانسیل بسیار خوبی جهت استفاده در برنامه‌های کنترل آفات برخوردار هستند (Tabet *et al.*, 2018؛ Mahmoud *et al.*, 2019؛ Ebadollahi *et al.*, 2020)، تلفات ۹۵ درصدی تنفسی اسانس *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) در غلظت ۲ میکرو لیتر بر لیتر هوا روی نمف و افراد بالغ کنه *T. urticae* در پایان ۱۲۰ ساعت در معرض قرارگیری (Calmasur *et al.*, 2006)، مرگ‌ومیر ۱۰۰ درصدی کنه‌های بالغ در غلظت ۰/۰۱۹ میکرولیتر بر لیتر هوا پس از گذشت ۲۴ ساعت (Choi *et al.*, 2004) و اثرات کنه‌کشی وابسته به دز اسانس *Oryganum onites* L. (Lamiaceae) با محتوای ۶۸/۲۳ درصدی کارواکرول علیه کنه *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) (Sertkaya et al., 2010) نیز گزارش شده است. بررسی‌های متمرکز بر سمیت گیاهان خانواده Myrtaceae (گونه‌های هم خانواده مورد و اکالیپتوس) روی جمعیت کنه‌های *T. urticae* طیف متنوعی از نتایج را به همراه داشته است (Rincon *et al.*, 2019). در یک مطالعه (Roh *et al.*, 2011)، اسانس ۰/۱ درصد گیاه *S ygygium aromaticum* L. (Myrtaceae) در

JESI Accepted MS

زیست سنجی به روش غوطه‌وری دیسک برگ تلفات ۴۱/۳ درصدی ماده‌های بالغ *T. urticae* را به دنبال داشت. خاصیت کنه‌کشی اسانس میخک *S. aromaticum* روی کنه *T. urticae* به عناصر اصلی آن اژنول (eugenol) و بتا–کاریوفیلن (ß- Caryophylene) نسبت داده می‌شود (Eldoksch, *et al.*, 2009). غلظت ۱/۵ درصدی اسانس *S. aromaticum* دربازه‌های زمانی ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۱۲۰ساعت به ترتیب نرخ مرگ‌ومیر ۵۳/۳۳، ۶۳/۳۳، ۷۳/۳۳ و ۹۸/۵۴ درصدی را در جمعیت کنه‌های *Oligonychus coffeae* Nietner (Acari: Tetranychidae) در پی داشته است (Barua *et al.*, 2015). در دو بررسی جداگانه (Beynaghi *et al.*, 2015; Kheradmand *et al.*, 2015)، مقدار غلظت کشنده ۵۰ درصد گزارش شده برای اسانس *S. aromaticum* علیه کنه‌های بالغ *T. urticae* روی دیسک برگی لوبیا و پس از ۲۴ ساعت در معرض قرارگیری ۶/۱۳ میکرولیتر بر لیتر هوا، براورد شد که در مقایسه با تحقیق مشابه دیگری در همین خصوص (Susurluk, 2023)، به مراتب کمتر بوده است (۱۷/۴۵ میکرولیتر بر لیتر هوا). چنین تفاوتی می‌تواند با تنوع ترکیب شیمیایی اسانس *S. aromaticum* در بررسی‌ها مرتبط باشد، به بیان دیگر، درصد اوژنول، بتا– کاریوفیلن و آلفا– هومولن (α-Humulene) شناسایی شده در اسانس *S. aromaticum* به ترتیب ۷۸/۵، ۱۳/۸ و ۲/۸ درصد (Kheradmand *et al.*, **2015**) و ۶۳/۳۱، ۶/۵۸ و ۱/۸۰ درصد (Susurluk, 2023) بوده است. در تحقیقی در خصوص اثرات کنه‌کشی، دورکنندگی و بازدارندگی از تخم‌گذاری فرمولاسیون تجاری اسانس‌های *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) و *Syzygium aromaticum* (L.) (Myrtaceae) علیه کنه *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) به روش دیسک برگی، روی میزبان‌های گوجه‌فرنگی و لوبیا (Susurluk, 2023)، مشخص شد اسانس *O. vulgare* در مقایسه با اسانس *S. aromaticum* از سمیت بیشتری برای پروتونمف و ماده‌های بالغ ساکن بر برگ‌های لوبیا و گوجه‌فرنگی برخوردار است. مقادیر غلظت کشنده ۵۰ درصد برای مراحل پروتونمف و ماده‌های بالغ جمعیت مستقر روی لوبیا به ترتیب ۱/۶۷ و ۲/۰۵ و برای جمعیت مستقر روی گوجه‌فرنگی به ترتیب ۱/۸۷ و ۳/۰۷ میکرولیتر بر لیتر هوا گزارش شد. به رغم سمیت بیشتر اسانس *O. vulgare*، اسانس *S. aromaticum* از قدرت دورکنندگی قوی‌تری علیه جمعیت کنه‌های مستقر روی لوبیای برخوردار بود. اسانس گونه‌های مختلف اکالیپتوس (خانواده Myrtaceae) روی ۵۰ گونه حشره و ۱۳ گونه مختلف از کنه‌ها آزمایش شده است. از این تعداد بیشترین مطالعات روی گونه‌های *Aedes aegypti*، *Musca domestica*، *Callosobruchus maculatus*، *Tribolium castaneum*، *Sitophilus orizae*، *Pediculus humanus* صورت گرفته است. ارزیابی قدرت تخم‌کشی، دور کنندگی، ضد تغذیه‌ای، سمیت تماسی، سمیت موضعی، سمیت تنفسی، اختلال در عملکرد زیستی شاخک، توانایی مهار آنزیم استیل‌کولین استراز و اختلال در زادآوری حشرات و کنه‌های آفت در تمامی مراحل رشدی، اعم از مرحله تخم، لارو، شفیره، نمف و بالغ، از مهمترین اهداف تحقیق در پژوهش‌های انجام شده بوده‌اند (Danna *et al.*, 2024). در یک مطالعه (Amizadeh *et al.*, 2013)، با هدف ارزیابی سمیت تنفسی اسانس گونه‌های گیاهی *Eucalyptus microtheca* F. Muell، *Satureja sahendica* Bornm و *Heracleum persicum* Desf. علیه مرحله تخم و ماده‌های بالغ کنه تارعنکبوتی *T. urticae* به روش استفاده از کاغذ صافی، مشخص شد اسانس برگی گونه‌های *E. microtheca* و *S. sahendica* در مقایسه با اسانس دیگر گونه‌ها از پتانسیل مناسبی جهت استفاده در برنامه‌های تلفیقی کنترل این آفت در شرایط گلخانه برخوردار می‌باشد. مقدار غلظت کشنده ۵۰ درصد محاسبه شده برای سمیت اسانس بدست آمده از برگ و میوه *E. microtheca*، برگ *S. sahendica*، میوه *H. persicum* و دانه *F. Vulgare*، علیه کنه‌های ماده به ترتیب ۱/۵۲، ۵/۷۰، ۰/۹۸، ۳/۱۵ و ۵/۷۵ میکرولیتر بر لیتر هوا و علیه مرحله تخم به ترتیب ۰/۵۶، ۲/۳۶، ۰/۵۴، ۱/۵۳ و ۱/۱۷ میکرولیتر بر لیتر هوا بوده است. اثرات زیستی و خصوصیات اسانس‌های گیاهی بسته به اندام مورد استفاده برای اسانس‌گیری متفاوت گزارش شده است، چنین تفاوت‌هایی در ماهیت خواص زیستی اسانس بنه، بسته به اندام گیاهی مورد استفاده جهت اسانس‌گیری تایید شده است (Zerkani *et al.*, 2022). کاربرد اسانس جدا شده از برگ، میوه و صمغ بنه علیه سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات *Callosobruchum maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae)، اسانس جدا شده از برگ، میوه و پوست بنه روی شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) (Pourya *et al.*, 2018) و موثر توصیف شده است. قدرت حشره‌کشی اسانس بنه روی جمعیت‌های مگس میوه مدیترانه‌ای *Ceratitis capitate* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) (Zerkani *et al.*, 2022) نیز نویدبخش بوده است. نظر به تایید سمیت تنفسی و کشندگی مطلوب مرسین به عنوان یکی از ترکیبات اصلی سازنده اسانس بنه روی سوسک‌های قرمز آرد *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae)، این امیدواری وجود دارد که بتوان از غلظت‌های پایین مرسین و ترکیبات مشابه جهت کنترل موثر جمعیت‌های آفت بهره گرفت (Sadeghi *et al.*, 2016). اسانس رازیانه *Foeniculum vulgare* از پتانسیل مناسبی جهت کنترل جمعیت‌های مزرعه‌ای آفات (Kim *et al.*, 2002)، از جمله *Pyrrhocoris apterus L. (Heteroptera: Pyrrhocoridae)* (Borotova *et al.*, 2021) برخوردار است. اثرات حشره‌کشی قابل توجه ای– آنتول (E- anethol)، ای– نرولیدول (E- nerolidol) و لیمونن از عناصر اصلی سازنده اسانس رازیانه، علیه لارو پشه‌های *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) تایید شده است (Chantraine *et al.*, 1998). سمیت و اثرات ضد کولین‌استرازی اسانس رازیانه عمدتاً به ترانس آنتول به عنوان ترکیب اصلی سازنده اسانس نسبت داده می‌شود (Aboelhadid *et al.*, 2021). یافته‌های یک تحقیق (Benddine *et al.*, 2023) در خصوص ارزیابی سمیت اسانس‌های مورد *Myrtus communis* (Myrtaceae) و رازیانه *Foeniculum vulgare* (Apiaceae) در شرایط مزرعه علیه شته برگ ذرت *Rhopalosiphum maidis* (Fitch) (Hemiptera: Aphididae)، ضمن تایید سمیت تماسی هر دو اسانس علیه جمعیت‌های مزرعه‌ای شته و ارتباط مستقیم مرگ‌ومیر شته‌ها با افزایش غلظت اسانس مصرفی، تلفات ۷۰/۲۴ و ۸۸/۱۳ درصدی آفت در غلظت‌های ۵ و ۶ میلی‌لیتر بر لیتر اسانس را نیز گزارش نمود. سمیت اسانس مورد علیه مرحله لاروی پشه‌های *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) (Conti *et al.*, 2010)، کشندگی مطلوب اسانس مورد علیه مراحل تخم و لارو کنه *Tetranychus cinnabarinus* (Boisduval) (Acari: Tetranychidae) (Topuz & Erler, 2007)، مرگ‌ومیر ۶۲/۲ درصدی پشه خاکی *Phlebotomus paoatasi* (Scopoli) (Diptera: Psychodidae) در تیمار با غلظت ۱/۶میلی‌گرم بر سانتی‌متر مربع اسانس برگی گیاه مورد ایرانی *M. communis* (Yaghoobi-Ershadi *et al.*, 2006)، تلفات ۸۰ درصدی پشه‌های بالغ جمعیت‌های مراکشی پشه جو *Mayetiola destructor* (Diptera: Cecidomyiidae) در تیمار با غلظت ۱۰ میکرولیتر بر لیتر اسانس مورد *Myrtus communis* در پایان ۱۲۰دقیقه در معرض قرارگیری و تلفات ۵۶ درصدی مرحله تخم همین گونه در تیمار ۲۴ ساعته با غلظت ۲۰ میکرولیتر بر لیتر اسانس (Lamiri *et al.*, 2001) نیز گزارش شده است.

اسانس‌های گیاهی ترکیب پیچیده‌ای از عناصر مختلف با روش تاثیر متفاوت هستند (Miresmailli *et al.*, 2006). محل تاثیر اسانس‌ها همانند آفت‌کش‌های مرسوم، سیستم عصبی حشرات است، البته بسته به ماهیت شیمیایی عناصر سازنده اسانس (Isman, 2020) جایگاه هدف متنوعی را در سیستم عصبی هدف قرار داده و/ یا به عنوان مهار کننده آنزیم‌های عصبی، به جمعیت‌های آفت آسیب می‌رسانند، براساس گزارش میلز و همکاران (Mills *et al.*, 2004)، ترپینن–۴–اُل و

JESI Accepted MS

۱،۸- سینئول از توانایی مهار آنزیم استیل‌کولین‌استراز در جمعیت‌های هدف برخوردار هستند. کارایی حشره‌کشی اسانس‌های گیاهی، به سطح بالای ترکیبات منوترپنی در آنها نسبت داده می‌شود (Lee *et al.*, 2004؛ Rozman *et al.*, 2007). توانایی منوترپن‌ها در هدف قرار دادن مسیرهای عصبی مرتبط با سامانه‌های گابا، کلینرژیک و اکتوپامینرژیک تایید شده است (Rattan, 2010)، توانایی نفوذ آنها از کوتیکول، سیستم تراشه‌ای و دستگاه گوارش حشرات، از دلایل چنین قابلیتی به شمار می‌رود (Gnankine & Bassole, 2017). اثرات زیستی و سمیت ترپنوییدهای اکسیژن‌دار در مقایسه با ترکیبات مشابه فاقد اکسیژن به مراتب بیشتر است، شدت و ماهیت اثرات بیولوژیکی این گروه از ترکیبات، بسته به اشباع یا غیر اشباع بودن پیوندها و نوع گروه‌های عاملی شرکت کننده در ساختار آنها متفاوت گزارش شده است (Pavela 2008). اجزاء اسانس از طریق کوتیکول حشرات و به شیوه‌ای همانند حشره‌کش‌های مرسوم به درون بدن نفوذ می‌کنند، البته به دلیل ماهیت بالای چربی‌دوستی، ورود آنها به درون هموئلف ممکن است کند و محدود باشد (Veal 1996). اثرات زیستی اسانس‌های گیاهی به اجزاء فعال آنها، ترکیباتی همچون منوترپن‌ها، سسکوئی‌ترپن‌ها، کاروکرول و تیمول نسبت داده می‌شود، این در حالی است که تفاوت در ساختار شیمیایی این گروه از ترکیبات گیاهی، حتی در بین افراد هم گونه نیز به صورت گسترده وجود دارد (Magierowicz, Gorska-Golan, 2019). فعالیت حشره‌کشی منوترپن‌های موجود در اسانس‌های گیاهی همانند آلفا- پینن، بتا پینن، ۱،۸- سینئول، کامفور (camphor)، کامفن (camphene)، لینالول، بتا- مرسین (β- myrcene) و آلفا-فلاندرین (α- phellandrene) در دزهای بالا به سازوکارهای هم‌افزایی موثر بر جایگاه‌های هدف چندگانه نسبت داده می‌شود. اختلال و یا توقف در فعالیت‌های حیاتی حشرات همچون رشد و نمو، دگردیسی و تولید مثل، اختلال و بازدارندگی در عملکرد آنزیم‌های تنفسی غشاء میتوکندریایی، سمیت سلولی و اختلال در فرایند تنظیم مصرف اکسیژن و مقدار دی اکسید کربن آزاد شده، از سازوکارهای تاثیر اسانس‌های گیاهی در جمعیت‌های هدف به شمار می‌روند (Kim *et al.*, 2003؛ Feroz, 2020). ماهیت چربی‌دوستی اسانس‌های گیاهی، ضمن تغییرعملکرد محافظتی پوشش کوتیکولی حشرات، آسیب‌پذیری آنها نسبت به از دست دادن آب بدن و حمله پارازیتوئیدها را نیز شدت می‌بخشد. به نظر می‌رسد نفوذ اجزاء فرار از سیستم تراشه‌ای، علت اصلی سمیت اسانس‌ها باشد. ترکیبات منوترپنی از فراریت بالایی برخوردار هستند، به گونه‌ای که قادرند سریعاً در بدن حشرات نفوذ کرده و فیزیولوژی طبیعی آفت را هدف مختل سازند، از این‌رو، در مقایسه با ترکیبات چربی‌دوست سازنده اسانس، فعالیت حشره‌کشی اسانس‌های گیاهی در بسیاری از موارد به اجزاء منوترپنی، فراریت بالا و فرم گازی آنها نسبت داده می‌شود (Rajendran & Sriranjini, 2008).

سمیت تنفسی ترکیب منوترپنی اکالیپتول روی حشرات گزارش شده است (Lee *et al.*, 2002). وجود بیش از یک ماده موثره در ساختار اسانس‌ها، تقویت فعالیت زیستی و کشندگی آنها علیه گونه‌های آفت را به دنبال دارد. اختلال در فیزیولوژی طبیعی بسیاری از حشرات در نتیجه هم‌افزایی مجموعه عناصر تشکیل دهنده اسانس‌ها به اثبات رسیده است (Lucia *et al.*, 2009). به صورت معمول فعالیت زیستی اسانس‌ها به عناصر اصلی سازنده آنها نسبت داده می‌شود، حال آنکه در برخی موارد فعالیت زیستی این گروه از ترکیبات گیاهی اعم از کشندگی و رفتار دورکنندگی نتیجه اثرات تجمعی و هم‌افزایی عناصر فرعی با درصدهای کوچکی از فراوانی بوده است. مجموعه عناصر سازنده اسانس به صورت مستقل و یا در همراهی با دیگر اجزاء در بروز و ظهور فعالیت زیستی اسانس با طیفی از اثرات کشندگی و زیر کشندگی همچون بازدارندگی از تخم‌گذاری، ضد تغذیه‌ای و دورکنندگی دخالت دارند (Rajendran & Sriranjini, 2008). سمیت عصبی، سمیت سلولی، سمیت جلدی و جهش‌زایی این گروه از ترکیبات گیاهی در حشرات گزارش شده است (Bakkali *et al.*, 2008). تاثیر اسانس‌های گیاهی بر جمعیت‌های هدف، چند سطحی است، از این رو احتمال ایجاد مقاومت و گسترش آن در جمعیت‌های آفت پایین است. تنوع در نحوه تاثیر و اثرات زیستی اسانس‌ها، نشان دهنده تنوع در سازوکار تاثیر اسانس‌های گیاهی است و درست به همین دلیل، اثرات این گروه از ترکیبات گیاهی بر گونه‌های هدف می‌بایست به صورت ترکیبی و در شرایط محیطی متفاوت اعم از مزرعه و گلخانه با جزئیات مورد بررسی قرار گیرد. آگاهی از ماهیت هم‌افزایی اسانس‌های گیاهی نسبت به یکدیگر به معرفی استراتژی‌های مناسب‌تر و کارامدتر بر پایه ترکیبات طبیعی خواهد انجامید. از این رو، در ادامه زیست‌سنجی‌ها، جهت روشن شدن اثر متقابل اسانس‌های مورد، رازیانه، اکالیپتوس و بنه، سمیت تنفسی ترکیب دوتایی آنها روی کنه‌های بالغ در نسبت وزنی مساوی بررسی شد (جدول۷). به استناد شاخص SF و به استثنای ترکیب مورد- بنه و رازیانه- اکالیپتوس، سایر الگوهای ترکیبی اسانس‌ها در کاربرد توام، هم‌افزایی در قدرت کشندگی را به دنبال داشت. کوچکتر بودن شاخص هم‌افزایی ترکیب اسانس‌های مورد- بنه و رازیانه- اکالیپتوس از عدد مبنای ۱، بروز اثرات آنتاگونیستی در قدرت حشره‌کشی را تایید می‌کند. مقدار عددی شاخص کاهش دز در تمامی الگوهای کاربرد توام اسانس‌ها با یکدیگر، بزرگتر از یک براورد شد، بزرگتر بودن میزان این شاخص از عدد مبنای ۱، به مفهوم کاهش موثر دز مصرف ترکیب اسانس‌ها در مقایسه با کاربرد مستقل هر یک از اجزاء روی جمعیت کنه‌های بالغ می‌باشد که از نگاه کنترل موثر گونه‌های خسارت‌زا، مدیریت مقاومت در جمعیت‌های آفت، مسائل زیست‌محیطی و صرفه اقتصادی حائز اهمیت است. در یک نگاه کلی، ترکیب اکالیپتوس - بنه ضمن کاهش موثر غلظت کشنده ۵۰ درصد، به ۴/۶۹ میکرولیتر بر لیتر هوا، در مقایسه با LC_{50} براورد شده برای کاربرد مستقل اسانس اکالیپتوس (۸/۰۹ میکرولیتر بر لیتر هوا) و اسانس بنه (۵/۸۱ میکرولیتر بر لیتر هوا)، بیشترین کاهش در دز مصرف (۱/۷۲) را نیز موجب گردید، البته در بین ترکیب اسانس‌ها، کمترین کارایی بر مبنای غلظت کشنده ۵۰ درصد، برای ترکیب مورد- رازیانه با مقدار کاهش دز مصرف ۱/۱۱ مشاهده شد. همانند مرحله بالغ، جهت روشن شدن اثر متقابل هر یک از اسانس‌های مورد، رازیانه، اکالیپتوس و بنه با دیگر اسانس‌ها، سمیت تنفسی ترکیب دوتایی آنها روی مرحله تخم کنه‌ها در نسبت‌های وزنی مساوی بررسی شد (جدول۷). ترتیب غلظت کشنده ۵۰ درصد براورد شده برای ترکیب‌های دوتایی اسانس، از کمترین به بیشترین میزان به ترتیب برای ترکیب‌های دوتایی رازیانه- اکالیپتوس، اکالیپتوس- بنه، بنه- رازیانه، مورد- اکالیپتوس، مورد- رازیانه و مورد- بنه بدست آمد. براساس شاخص SF (فاکتور هم‌افزایی) تعامل تمامی ترکیب‌ها در استفاده‌های همزمان به استثنای ترکیب‌های دوتایی مورد- رازیانه و مورد- اکالیپتوس، هم‌افزایی تشخیص داده شد، بیشترین هم‌افزایی (۲/۹) نیز برای ترکیب اکالیپتوس- بنه به ثبت رسید. تعامل اسانس‌های مورد - رازیانه و مورد - اکالیپتوس، در کاربرد ترکیبی، آنتاگونیستی براورد شد. در کاربرد توام اسانس‌ها با یکدیگر، بیشترین کاهش دز مطلوب برای ترکیب اکالیپتوس- بنه و کمترین آن نیز برای ترکیب مورد- رازیانه بدست آمد. به رغم ثبت کوچکترین LC_{50} برای ترکیب رازیانه - اکالیپتوس، بزرگترین نرخ سینرژیستی و کاهش دز- مطلوب به ترکیب دوتایی اکالیپتوس- بنه تعلق داشت. شاخص سمیت نسبی اسانس‌های اکالیپتوس، مورد و بنه به ترتیب ۴۳، ۷۵ و ۸۵ درصد کمتر از سمیت اسانس رازیانه، به عنوان موثرترین ترکیب، براورد شد. سمیت قوی‌تر اسانس رازیانه در مقایسه با دیگر اسانس‌ها در بررسی حاضر، به ساختار شیمیایی اسانس، روش تاثیر و آسیب‌پذیری جایگاه هدف آفت نسبت داده شود (Faraone *et al.*, 2015). در پژوهشی مشابه (Kim *et al.*, 2021)، فعالیت حشره‌کشی ۲۸ اسانس و ترکیب آنها علیه لارو سن سوم *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae) مورد ارزیابی قرار گرفت. در بین اسانس‌های مورد بررسی،

JESI Accepted MS

بیشترین سمیت تماسی برای اسانس ریحان و بیشترین هم‌افزایی برای استفاده ترکیبی اسانس ریحان با ماندارین بدست آمد. براساس آزمون حذف ترکیب، استراژول (estragole) و لینالول (linalool) به عنوان اجزاء اصلی اسانس ریحان و لیمونن نیز به عنوان عنصر اصلی تشکیل دهنده اسانس ماندارین شناسایی شد. براساس مقادیر غلظت کشندگی ۵۰ درصد براورد شده، ترکیب دوتایی اسانس ریحان و ماندارین در مقایسه با کاربرد هر یک از اسانس‌ها به تنهایی، افزایش سمیت با نرخ سینرژیسم ۱/۳ و ۱/۴ را به دنبال داشت. در زیست‌سنجی با اجزاء اصلی تشکیل دهنده اسانس، کاربرد همزمان استراژول، لینالول و لیمونن در نسبت ۷:۲:۷ نیز افزایش سمیت، با نرخ هم‌افزایی برابر با استفاده ترکیبی اسانس‌های ریحان و ماندارین را موجب گردید. مشاهده اثرات هم‌افزایی تنها برای ترکیب سه تایی اجزاء اصلی اسانس، نشان دهنده نقش مهم هر یک از اجزاء در سمیت کلی اسانس‌های مورد بررسی علیه جمعیت آفت است. افزایش نفوذ کوتیکولی و تشدید عکس‌العمل نروفیزیولوژیکی جمعیت هدف، دلایل چنین هم‌افزایی عنوان شد. در بررسی تکمیلی، دز کشنده ۵۰ درصد و زوایای تماس اسانس ریحان و ترکیب دوتایی استراژول و لینالول (اجزاء اصلی اسانس ریحان) یکسان براورد شد، به این معنی که تاثیر متقابل/ برهم‌کنش مثبت استراژول و لینالول عامل سمیت تماسی و تاثیر فیزیکوشیمیایی (کشش سطحی/surface tension) اسانس ریحان بوده است. وجود تفاوت معنی‌دار بین مقادیر دز کشنده پنجاه درصد و زوایای تماس اسانس ماندارین و جزء اصلی سازنده آن، لیمونن، به مفهوم تاثیر سایر عناصر تشکیل دهنده اسانس (۲۸/۱ درصد) در سمیت اسانس ماندارین در نظر گرفته شد. در بین عناصر اصلی سازنده اسانس، به نظر می‌رسد نقش لینالول در سمیت نهایی مشاهده شده برجسته‌تر باشد. به رغم کوچکتر بودن نسبت لینالول در ترکیب‌های دوتایی استراژول + لینالول (۷:۲) و سه تایی استراژول+ لینالول+ لیمونن (۷:۲:۷)، نقش کلیدی لینالول در ظهور سمیت بالقوه اسانس ریحان و ترکیب دوتایی اسانس ریحان با ماندارین تایید شده است. سمیت ترکیب دوتایی لینالول و استراژول به شکل معنی‌داری از سمیت هر یک از اجزاء بیشتر براورد گردید، نتایج حاصل از آنالیز عصاره هملنف و اندازه‌گیری زاویه تماس، نقش لینالول در کاهش کشش سطحی و کمک به نفوذ کوتیکولی استراژول را محتمل می‌داند. توجه به ماهیت پیوندهای شیمیایی و تمایل اجزاء تشکیل دهنده اسانس در پیوند شدن به سطوح چربی‌دوست، در شناخت ماهیت واقعی سازوکارهای پدید آورنده اثرات زیستی اسانس‌ها در کاربردهای ترکیبی ضروری به نظر می‌رسد. مشابه همین وضعیت برای کاربرد ترکیبی اسانس رزماری *Rosmarinus officinalis* و اجزاء اصلی سازنده آن، علیه جمعیتی از کنه‌های تار عنکبوتی نیز گزارش شده است (Miresmailli *et al*., 2006)، تلفات به مراتب کمتر جمعیت کنه تار عنکبوتی *Tetranychus urticae* در استفاده اختصاصی از مواد فعال اسانس در مقایسه با مرگ‌ومیر ناشی از تیمار همین جمعیت با اسانس رزماری و هم‌افزایی قابل توجه مشاهده شده در کاربرد توام مواد موثره و اجزاء غیرفعال اسانس نشان دهنده این واقعیت است که تمامی اجزاء سازنده اسانس، در شکل‌گیری و بروز سمیت اسانس رزماری نقش‌آفرین بوده‌اند. تنوع در روش تاثیر به دلیل ماهیت پیچیده عناصر سازنده اسانس‌های گیاهی، افزایش سمیت این گروه از ترکیبات گیاهی علیه جمعیت‌های هدف و افزایش نفوذ کوتیکولی آنها به دلیل تغییر در کشش سطحی را به همراه دارد. عقیده بر این است که بروز اثرات متقابل از نوع هم‌افزایی در بین ترکیب اسانس‌های گیاهی با یکدیگر و اسانس‌های گیاهی با ترکیبات حشره‌کش از طریق اختلال چند جانبه در چندین جایگاه هدف در جمعیت‌های آفت اتفاق می‌افتد (Suwannayod *et al*., 2019). این احتمال وجود دارد که دلیل چنین هم‌افزایی‌هایی، سرکوب آنزیم‌های موثر در سم‌زدایی متابولیکی ترکیبات حشره‌کش همانند اکسیدازهای وابسته به سامانه آنزیمی سیتوکروم پی-۴۵۰ و یا کربوکسیل‌استرازها باشد (Tong & bloomquist, 2013؛ Norris *et al*., 2018). اثرات هم‌افزایی اسانس‌ها روی حشرات با قابلیت برخی از عناصر سازنده آن در تسهیل جذب ترکیبات فعال زیستی مرتبط است (Armstrong *et al*., 1951؛ Wang *et al*., 2015؛ Ahmad *et al*., 2006)، نقش ۱،۸- سینئول در ورود اجزاء خاصی از اسانس‌های گیاهی (Tak & Isman, 2015؛ 2016؛ 2017) به درون بدن جمعیت‌های هدف و مهار آنزیم‌های سیتوکروم پی-۴۵۰ و کربوکسیل استرازها (Ruttanaphan *et al*., 2019) تایید شده است. سمیت اسانس‌ها و کارایی حشره‌کشی آنها بسته به سمیت هر یک از عناصر سازنده، نوع تعامل بین عناصر و شرایط کاربرد آنها علیه گونه‌های هدف، متفاوت ارزیابی می‌شود. در خصوص سازوکارهای پدید آورنده اثرات سینرژیستی در اسانس‌های گیاهی چندین فرضیه مطرح شده است، وجود جایگاه‌های هدف چندگانه، اثر فارماکوکینتیکی (افزایش نفوذپذیری)، مهار متابولیسمی و حذف اثرات ناخواسته از مهمترین این فرضیات به شمار می‌روند (Langeveld *et al*., 2014؛ Wagner & Urich-Merzenich, 2009). البته در صورت پیشنهاد بیش از یک سازوکار برای اثرات سینرژیستی اسانس‌های گیاهی، تعیین دقیق نقش هر یک از سازوکارهای پدید آورنده اثرات سینرژیستی به دلیل به برهم‌کنش بین آنها چالش برانگیز و تقریباً ناممکن است، در چنین مواردی انجام بررسی‌های بیشتر و تکمیلی با هدف تعیین نقش دقیق و درصد مشارکت هر یک از سازوکارها در بروز سمیت کلی ترکیب، ضروری به نظر می‌رسد.

فراریت بالا، اکسیداسیون سریع و تجزیه در برابر نور، دما و اشعه ماوراء بنفش از مهمترین مواردی هستند که استفاده عملی و موفق اسانس‌های گیاهی در برنامه‌های مدیریتی آفات را با چالش‌های جدی مواجه ساخته است. آگاهی از نحوه رفتار، در دسترسی زیستی و سمیت باقی‌مانده این گروه از ترکیبات گیاهی در محیط‌های آزمایشگاهی و طبیعی یک ضرورت است. از این رو در بررسی حاضر پایداری زیستی اسانس گونه‌های مورد، رازیانه، اکالیپتوس و بنه در محیط آزمایشگاهی مورد ارزیابی قرار گرفت. به رغم وجود برخی تفاوت‌ها، تلفات ناشی از سمیت تنفسی باقی‌مانده در تمامی چهار اسانس، در کمتر از ۹ روز و با شیبی نسبتاً تند به صفر رسید. نوعی رهایش اولیه‌ی سریع یا انفجارگونه‌ی اجزاء فعال اسانس در فاصله زمانی ۷۲ ساعت، به طور میانگین، تلفات ۶۳ درصدی کنه‌های بالغ در تیمار با اسانس‌ها را در پی داشت، به گونه‌ای که پس از این رهایش انفجاری و از روز سوم به بعد، تلفات کنه‌های بالغ در تمامی تیمارها به صورت مشهودی کاهش یافت. تلفات سمیت تنفسی باقی‌مانده اسانس‌های گیاهی مورد، اکالیپتوس، بنه و رازیانه در روز سوم بررسی‌ها به ترتیب ۷۱، ۶۹، ۵۱ و ۶۱ درصد و در روز ششم بررسی‌ها به ترتیب ۱۴، ۱۱، ۹ و ۷ درصد براورد شد و در کمتر از ۹ روز به صفر رسید. چنین رهایش اولیه و سریعی می‌تواند کاهش قابل توجه سمیت باقی مانده اسانس‌های گیاهی را در پی داشته باشد. در تحقیقی مشابه (Ahmadi *et al*., 2018) سمیت تنفسی باقی مانده اسانس *S. hortensis* L. (Lamiaceae) روی ماده‌های بالغ *T. urticae* در فاصله ۱۴ روز به کمتر از ۱۵ درصد کاهش یافت، این در شرایطی بود که سمیت تنفسی باقی‌مانده نانوذرات اسانس در همین فاصله زمانی ۱۴ روز، ۸۰ درصد گزارش شد (شکل۲). در حال حاضر تلاش‌های گسترده‌ای با هدف پایدارسازی و افزایش در دسترسی زیستی اسانس‌های گیاهی در سامانه‌های نانوئی دوستدار محیط زیست درحال انجام است.

نتیجه گیری

JESI Accepted MS

ساختار شیمیایی و ترکیب عناصر سازنده اسانس‌های گیاهی حتی در بین افراد هم گونه بر حسب منطقه جغرافیایی، شرایط محیطی، کموتایپ و روش استخراج بسیار متنوع است. از این رو مقایسه و جمع‌بندی نتایج بررسی‌های مشابه به دلیل عدم استاندارد سازی شرایط رشد و محل‌های کشت گیاه بسیار سخت به نظر می‌رسد.کارایی زیستی ترکیبات گیاهی در مقایسه با حشره‌کش‌های مرسوم به مراتب کمتر است. به عنوان مثال فعالیت حشره‌کشی دلتامترین حداقل ۷/۸ برابر بیشتر از اسانس ریحان براورد شده است (Kim *et al.*, 2021). با این وجود، امروزه حشره‌کش‌های زیستی گیاهی به دلیل سمیت کم برای انسان و دیگر پستانداران و نیز سازگاری با محیط زیست بسیار مورد توجه هستند. روش تاثیر متفاوت و جدید در کنار ساختار شیمیایی پیچیده و متنوع ترکیبات گیاهی، ویژگی‌های مثبتی هستند که بر پایه آنها می‌توان نسبت به مدیریت موفق مقاومت گونه‌های آفت امیدوار بود. اسانس‌ها و عصاره‌های گیاهی با داشتن طیفی از خواص حشره‌کشی و کنه‌کشی، جایگزین‌های بالقوه آفت‌کش‌های مرسوم به شمار می‌روند. به رغم تایید اثرات زیستی اسانس‌های گیاهی علیه طیف گسترده‌ای از جمعیت‌های آفت، استفاده از این گروه از ترکیبات گیاهی به عنوان جایگزین آفت‌کش‌های مرسوم مستلزم کاربرد غلظت بالایی از مواد موثره گیاهی است. افزایش کارایی اسانس‌های گیاهی از طریق هم‌افزایی یک راه حل بالقوه جهت رفع چنین محدودیتی به شمار می‌رود. پیامد ارزشمند چنین هم‌افزایی‌هایی در عمل، کاهش نرخ مصرف آفت‌کش‌های مرسوم می‌باشد. تحقیق پیش‌رو، قدمی رو به جلو در مسیر معرفی و استفاده از روش‌های جایگزین بر پایه استفاده از آفت‌کش‌های زیستی در برنامه‌های کنترلی گونه‌های آفت به شمار می‌آید. تاثیر سریع و ثبت تلفات ۱۰۰ درصدی در زیست‌سنجی‌ها، اسانس گونه‌های گیاهی مورد، رازیانه، بنه و اکالیپتوس را به کاندیداهای مناسبی جهت جایگزینی با آفت‌کش‌های مرسوم تبدیل نموده است. در خصوص هم‌افزایی ترکیب اسانس‌های مورد، رازیانه، بنه و اکالیپتوس در کاربرد توام علیه جمعیت کنه‌های *T. urticae* اطلاعی در دست نیست و به نظر می‌رسد بررسی حاضر اولین در نوع خود باشد. روشن شدن دقیق سازوکار هم‌افزایی مشاهده شده منوط به بررسی‌های تکمیلی در خصوص تحریکات عصبی جایگاه‌های هدف، متابولیسم مواد موثره اصلی تشکیل دهنده اسانس و نحوه نفوذ کوتیکولی اسانس خواهد بود.

سپاسگزاری

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه بوعلی‌سینا، به جهت حمایت مالی تحقیق حاضر قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, 18, 265–267.

Aboelhadid, S. M., Arafa, W. M., Abdel-Baki, A. A. S., Sokmen, A., Al-Quraishy, S., Hassan, A. O. & Kamel, A. A. (2021). Acaricidal activity of *Foeniculum vulgare* against *Rhipicephalus annulatus* is mainly dependent on its constituent from transanethone. PLoS ONE 16, 1–15. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0260172.

Ahmad, M., Denholm, I. & Bromilow, R. H. (2006). Delayed cuticular penetration and enhanced metabolism of deltamethrin in pyrethroid-resistant strains of *Helicoverpa armigera* from China and Pakistan. *Pest Management Science,* 62, 805–810. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16649192/

Ahmadi, Z., Saber., M., Bagheri, M. & Mahdavinia, G. R. (2018). *Achillea millefolium* essential oil and chitosan nanocapsules with enhanced activity against *Tetranychus urticae. Journal of pest science,* 91, 837-848. https://link.springer.com/article/10.1007/s10340-017-0912-6.

Amizadeh, M., Hejazi, M. J. & Saryazdi, G. A. (2013). Fumigant toxicity of some essential oils on *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *International Journal of Acarology,* 39, 285–289. 10.1080/01647954.2013.777782.

Aouadi, G., Haouel, S., Soltani, A., Ben Abada, M., Boushih, E., Elkahoui, S., Taibi, F., Mediouni Ben Jemaa, J. & Bennadja, S. (2020). Screening for insecticidal efficacy of two Algerian essential oils with special concern to their impact on biological parameters of *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Plant Diseases and Protection*, 127, 471–482 https://link.springer.com/article/10.1007/s41348-020-00340-y.

Aprotosoaie, A. C., Spac, A., Hancianu, M., Miron, A., Tanasescu, V. F., Dorneanu, V. & Stanescu, U. (2010). The chemical profile of essential oils obtained from fennel fruits (*Foeniculum vulgare* Mill.). *Farmacia,* 58, 46–53. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24502057/.

Arena, J. S., Omarini, A. B., Zunino, M. P., Peschiutta, M. L., Defago, M. T. & Zygadlo, J. A. (2018). Essential oils from *Dysphania ambrosioides* and *Tagetes minuta* enhance the toxicity of a conventional insecticide against *Alphitobius diaperinus*. *Industrial Crops* and *Products,* 122, 190–194. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.05.077

Arena, J. S., Peschiutta, M. L., Calvimonte, H. & Zygadlo, J. A. (2017). Fumigant and repellent activities of different essential oils alone and combined against the maize weevil (Sitophilus zeamais Motschulsky). *MOJ Bioorganic and Organic Chemistry*, 1, 249–253. 10.15406/mojboc.2017.01.00043.

Armstrong, G., Bradbury, F. R., Standen, H. (1951). Penetration of the insect cuticle by isomers of benzenehexachloride. *Nature,* 167, 319–319. https://www.nature.com/articles/167319a0.

Bagheri, H., Abdul, B., Manap, M. Y. & Solati, Z. (2014). Antioxidant activity of *Piper nigrum* L. essential oil extracted by supercritical CO2 extraction and hydrodistillation. *Talanta*, 121, 220–228. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.01.007.

Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. & Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils—a review. *Food and Chemical Toxicology,* 46, 446–475. 10.1016/j.fct.2007.09.106.

JESI Accepted MS

Barua, A., Roy, S., Handique, G., Bora, F. R., Rahman, A., Pujari, D. & Muraleedharan, N. (2015**).** Clove oil efficacy on the red spider mite, *Oligonychus coffeae* Nietner (Acari: Tetranychidae) infesting tea plants. *Proceedings of the Zoological Society,* 70, 92–96. 10.1007/s12595-015-0147-6.

Bazzali, O., Tomi, F., Casanova, J. & Bighelli, A. (2012). Occurrence of C8–C10 esters in Mediterranean *Myrtus communis* L. leaf essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*, 27, 335–340. https://doi.org/10.1002/ffj.3102.

Beatovic, D., Krstic- Milosevic, D., Trifunovic, S., Siljegovic, J., Glamocliji, J. & Ristic Jelacic, S. (2015). Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of twelve *Ocimum basilicum* L. cultivars grown in Serbia. *Records of Natural Products*, 9, 62-75. 10.1016/j.foodchem.2007.12.010**.**

Bekhechi, C., Watheq Malti, C. E., Boussaïd, M., Achouri, I., Belilet, K., Gibernau, M., Casanova, J. & Tomi, F. (2019). Composition and Chemical Variability of *Myrtus communis* Leaf Oil from Northwestern Algeria. *Natural Product Communications*, 5, 1659-62. https://doi.org/10.1177/1934578X19850030.

Benddine, H., Zaid, R., Babaali, D. & Daoudi-Hacini, S. (2023). Biological activity of essential oils of *Myrtus communis* (Myrtaceae, Family) and *Foeniculum vulgare* (Apiaceae, Family) on open fields conditions against corn aphids Rhopalosiphum maidis (Fitch, 1856) in western Algeria. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 22, 78-88. https://doi.org/10.1016/j.jssas.2022.07.001.

Beynaghi, S., Kheradmand, K., Asgari, S. & Garjan, A. S. (2015). Sublethal effects of *Cuminum cyminum* and *Eugenia caryophyllata* essential oils on two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *Applied Entomology and Phytopathology*, 82, 81–90. 10.22092/jaep.2015.100695.

Borotova, P., Galovicova, L., Valkova, V., Duranova, H., Vukovic, N., Vukic, M., Babošova, M. & Kacaniova, M. (2021). Biological activity of essential oil from *Foeniculum vulgare*. *Acta horticulturae et* regiotecturae, 24, 148–152. https://doi.org/10.2478/ahr-2021-0037.

Boudraa, H., Kadri, N., Mouni, L. & Madani, K. (2021). Microwave-assisted hydrodistillation of essential oil from fennel seeds: Optimization using Plackett–Burman design and response surface methodology. *Journal of applied research on medicinal and aromatic plants*, 23, 100-307. https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2021.100307

Bouyahya, A., El Omari, N., Elmenyiy, N., Guaouguaou, F. E., Balahbib, A., Belmehdi, O. & Bakri, Y. (2021). Moroccan antidiabetic medicinal plants: Ethnobotanical studies, phytochemical bioactive compounds, preclinical investigations, toxicological validations and clinical evidences; challenges, guidance and perspectives for future management of diabetes worldwide. *Trends* in *Food Science* and *Technology*, 115, 147–254. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.03.032

Bouzabata, A., Cabral, C., Gonçalves, M. J., Cruz, M. T., Bighelli, A., Cavaleiro, C., Casanova, J., Tomi, F. & Salgueiro, L. (2015). *Myrtus communis* L. as source of a bioactive and safe essential oil. *Food and Chemical Toxicology* 75, 166–172. https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.11.009.

Bozhuyuk, A. U., Kordalí, S. & Kesdek, M. (2020). Toxicities of different essential oils to *Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae) and *Acanthoscelides obtectus* (Say, 1831) (Coleoptera: Bruchidae) adults. *Turkish Journal of Entomology,* 44, 39–47. https://doi.org/10.16970/entoted.587710.

Cagatay, N. S., Menault, P., Riga, M., Vontas, J. & Ay, R. (2018). Identification and characterization of abamectin resistance in *Tetranychus urticae* Koch populations from greenhouses in Turkey. *Crop Protection*, 112, 112–117. 10.1016/j.cropro.2018.05.016

Calmasur, O., Aslan, I. & Sahin, F. (2006). Insecticidal and acaricidal effect of three Lamiaceae plant essential oils against *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn. *Industrial Crops and Products,* 23, 140–146. 10.1016/j.indcrop.2005.05.003.

Chalchat, J. C., Michet, A. & Pasquier, B. S. (1998). Study of Clones of *Salvia officinalis* L. Yields and Chemical Composition of Essential Oil. *Flavour and Fragrance Journal*, 13, 68–70. https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1026(199801/02)13:1<68::AID-FFJ698>3.0.CO;2-8

Chantraine, J. M., Laurent, D., Ballivian, C., Saavedra, G., Ibanez, R. & Vilaseca, L. A. (1998). Insecticidal activity of essential oils on *Aedes aegypti* larvae. *Phototherapy Research*, 12, 350–354. https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199808)12:5<350::AID-PTR311>3.0.CO;2-7.

Choi, W. I., Lee, S. G., Park, H. M. & Ahn, Y. J. (2004). Toxicity of plant essential oils to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). *Journal of Economic Entomology*, 97, 553–558. 10.1093/jee/97.2.553.

Chou, T. C. (2010). Drug combination studies and their synergy quantification using the Chou-Talalay method. *Cancer Research*, 70, 440-446. https://doi.org/10.1158/0008e5472.CANe09e19470008e5472.CANe09e1947.

Conti, B., Canale, A., Bertoli, A., Gozzini, F. & Pistelli, L. (2010). Essential oil composition and larvicidal activity of six Mediterranean aromatic plants against the mosquito *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research,* 107, 1455–1461. https://doi.org/10.1007/s00436-010-2018-4.

Danna, C., Malaspina, P., Cornara, L., Smeriglio, A., Trombetta, D., De Feo, V. & Vanin, S. (2024). *Eucalyptus* essential oils in pest control: a review of chemical composition and applications against insects and mites. *Crop Protection*, 176, 106319. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2023.106319.

Diaz-Maroto, M. C., Díaz-Maroto Hidalgo, I. J., Sánchez-Palomo, E. & Pérez-Coello, M. S. (2005). Volatile components and key odorants of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) and thyme (*Thymus vulgaris* L.) oil extracts obtained by simultaneous

JESI Accepted MS

distillation extraction and supercritical fluid extraction, *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 53, 5385–5389. https://doi.org/10.1021/jf050340+.

Diaz-Maroto, M. C., Perez-Coello, M. S., Esteban, J. & Sanz, J. (2006). Comparison of the volatile composition of wild fennel samples (*Foeniculum vulgare* Mill) from central Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 6814–6818. https://doi.org/10.1021/jf0609532.

Djenane, D., Yanguela, J., Amrouche, T., Boubrit, S., Boussad, N. & Roncales, P. (2011). Chemical Composition and Antimicrobial Effects of Essential Oils of *Eucalyptus globulus, Myrtus communis* and *Satureja hortensis* against Escherichia coli O157: H7 and Staphylococcus aureus in minced beef. *Food Science and Technology International,* 17, 505–515. https://doi.org/10.1177/1082013211398803.

Dobravalskyte, D., Venskutonis, P. R., Zebib, B., Merah, O. & Talou, T. (2013). Essential oil composition of *Myrrhis odorata* L. Scop. leaves grown in Lithuania and France. *Journal of Essential Oil Research*. 25, 44–48. https://doi.org/10.1080/10412905.2012.744703.

Duso, C., Malagnini, V., Pozzebon, A., Castagnoli, M., Liguori, M. & Simoni, S. (2008). Comparative toxicity of botanical and reduced-risk insecticides to Mediterranean populations of *Tetranychus urticae* and *Phytoseiulus persimilis* (Acari Tetranychidae, Phytoseiidae). *Biological Control*, 47, 16–21. https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.06.011.

Ebadollahi, A., Sendi, J. J., Aliakbar, A. & Razmjou, J. (2014). Chemical composition and acaricidal effects of essential oils *of Foeniculum vulgare* Mill. (Apiales: Apiaceae) and *Lavandula angustifolia* Miller (Lamiales: Lamiaceae) against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Psyche: A Journal of Entomology*, 1–6. 10.1155/2014/424078.

Ebadollahi, A., Ziaee, M. & Palla, F. (2020). Essential oils extracted from different species of the Lamiaceae plant family as prospective bioagents against several detrimental pests. *Molecules* 25:1556. 10.3390/molecules25071556.

Eldoksch, H. A., Ayad, A. & El-Sebae, A. K. H. (2009). Acaricidal activity of plant extracts and their main terpenoids on the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Alexandria Science Exchange Journal*, 30, 344–349. 10.21608/asejaiqjsae.2009.3248.

Enan, E. E. (2005). Molecular and pharmacological analysis of an octopamine receptor from american cockroach and fruit fly in response to plant essential oils. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology,* 59, 161–171. https://doi.org/10.1002/arch.20076.

Faraone, N., Hillier, N. K., & Cutler, G. C. (2015). Plant essential oils synergize and antagonize toxicity of different conventional insecticides against *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). *PloS one,* 10, e0127774. 10.1371/journal.pone.0127774

Feng, R. & Isman, M. B. (1995). Selection for resistance to azadirachtin in the green peach aphid, *Myzus persicae. Experientia,* 51, 831–833. https://doi.org/10.1007/BF01922438

Feroz, A. (2020). Efficacy and cytotoxic potential of deltamethrin, essential oils of *Cymbopogon citratus* and *Cinnamonum camphora* and their synergistic combinations against stored product pest. *Trogoderma granarium* (Everts). *Journal of Stored Products Research*, 87, 101614. https://doi.org/10.1016/j.jspr.2020.101614

Foudil-Cherif, Y., Boutarene, N. & Yassaa, N. (2013). Chemical composition of essential oils of Algerian *Myrtus communis* and chiral analysis of their leave volatiles. *Journal of Essential Oil Research,* 25, 402–408. https://doi.org/10.1080/10412905.2013.828323.

Gama, U. S. N., Neto, A. C. A., Bruno, R. D. L. A., Junior, L. R. P. & Medeiros, J. G. F. (2014). Thermotherapy in treating fennel seeds (*Foeniculum vulgare* Mill.): effects on health and physiological quality. *Revista Ciencia Agronomica*, 45, 842–849. https://doi.org/10.1590/S1806-66902014000400023.

Gnankine, O. & Bassole, I. (2017). Essential oils as an alternative to pyrethroids' resistance against *Anopheles* species complex giles (Diptera: Culicidae). *Molecules*, 22, 1321. 10.3390/molecules22101321.

Gotoh, T., Bruin, J., Sabelis, M. W. & Menken, S. B. J. (1993). Host race formation in Tetranychus urticae: genetic differentiation, host plant preference, and mate choice in a tomato and a cucumber strain. *Entomologia Experimentalis et Applicata,* 68, 171–178. DOI 10.1111/j.1570-7458.1993.tb01700.x.

Hamada, D., Bekri, R., Medjahid, A., Kamaci, R., Belkhalfa, H., Salhi, N. & Ladjel, S. (2021). Biological control with essential oil of *Foeniculum vulgare* Mill. *European Journal of Science and Technology*, 28, 52–55. https://doi.org/10.31590/ejosat.981759.

Han, Y., Zhang, Y. C., Ye, W. N., Wang, S. M., Wang, X. & Gao, C. F. (2024). Increasing resistance of Tetranychus urticae to common acaricides in China and risk assessment to spiromesifen. *Crop Protection*, 176, 106519. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2023.106519.

Hennia, A., Miguel, G. M., Brada, M., Nemmiche, S. & Figueiredo, A. C. (2016). Composition, chemical variability and effect of distillation time on leaf and fruits essential oils of *Myrtus communis* from north western Algeria, *Journal* of *Essential Oil Research*, 28, 146-156, https://doi.org/10.1080/10412905.2015.1090936.

Hummelbrunner, L. A. & Isman, M. B. (2001). Acute, sublethal, antifeedant, and synergistic effects of monoterpenoid essential oil compounds on the tobacco cutworm, *Spodoptera litura* (Lep., Noctuidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry,* 49, 715–720. https://doi.org/10.1021/jf000749t.

JES Accepted MS

Isman, M. B. (2020). Botanical Insecticides in the Twenty-First Century-Fulfilling Their Promise? *Annual Review of Entomology,* 65, 233-249. 10.1146/annurev.ento.51.110104.151146

Jahani, R., Behzad, S., Saffariha, M., Tabrizi, N. T. & Faizi, M. (2022). Sedative-Hypnotic, Anxiolytic and Possible Side Effects of *Salvia Limbata* CA Mey. Extracts and the Effects of Phenological Stage and Altitude on the Rosmarinic Acid Content. *Journal of Ethnopharmacology*, 282, 114630. 10.1007/s11101-010-9170-4

Jalali Sendi J. & Ebadollahi, A. (2014). Biological activities of essential oils on insects. In Recent Progress in Medicinal Plants (RPMP): Essential Oils-II. 37, 129–150. https://www.academia.edu/34031499/Biological_Activities_of_Essential_Oils_on_Insects

Khammassi, M., Loupassaki, S., Tazarki, H., Mezni, F., Slama, A., Tlili, N., Zaouali, Y., Mighri, H., Jamoussi, B. & Khaldi, A. (2018). Variation in essential oil composition and biological activities of Foeniculum vulgare Mill. populations growing widely in Tunisia. *Journal* of *Food Biochemistry*, 42. https://doi.org/10.1111/jfbc.12532.

Khan, M. & Musharaf, S. (2014). *Foeniculum vulgare* Mill. A Medicinal Herb. *Journal of Medicinal Plants Research,* 4, 46–54. https://doi.org/10.5376/mpr.2014.04.0006.

Kheradmand, K., Beynaghi, S., Asgari, S. & Garjan, A. S. (2015). Toxicity and repellency effects of three plant essential oils against two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Journal of Agricultural Science and Technology*, 17, 1223–1232. https://doi.org/10.22073/pja.v9i1.55853

Kholiva, S., Punetha, A., Cha uham, A., Venkatesha, K. T., Dipender, K., Upadhyay, R. K. & Padalia, R. C. (2022). Essential oil yield and composition of Ocimum basilicum L. at different phenological stages, plant density and post-harvest drying method. *South African Journal of Botany*, 151, 919-925. 10.1016/j.sajb.2022.11.019

Kim, D. H., Kim, S. I., Chang, K. S. & Ahn, Y. J. (2002). Repellent Activity of Constituents Identified in *Foeniculum vulgare* Fruit against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6993–6996. https://doi.org/10.1021/jf020504b.

Kim, S. I., Roh, J. Y., Kim, D. H., Lee, H. S. & Ahn, Y. J. (2003). Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. *Journal* of *Stored Products Research,* 39, 293-303. https://doi.org/10.1016/S0022-474X(02)00017.

Kim, S., Yoon, J. & Tak, J. H. (2021). Synergistic mechanism of insecticidal activity in basil and mandarin essential oils against the tobacco cutworm. *Journal of Pest Science*, 94, 1119–1131. 10.1007/s10340-021-01345-8.

Koc, S., Oz, E., Cinbilgel, I., Aydin, L. & Cetin, H. (2013). Acaricidal activity of *Origanum bilgeri* P.H. Davis (Lamiaceae) essential oil and its major component, carvacrol against adults Rhipicephalus turanicus (Acari: Ixodidae). *Veterinary Parasitology,* 193, 316–319. DOI 10.1016/j.vetpar.2012.11.010.

Lamiri, A., Lhaloui, S., Benjilali, B. & Berrada, M. (2001). Insecticidal effects of essential oils against Hessian fly, *Mayetiola destructor* (Say). *Field Crops Research*, 71, 9–15. https://doi.org/10.1016/S0378-4290(01)00139-3.

Langeveld, W. T., Veldhuizen, E. J. A. & Burt, S. A. (2014). Synergy between essential oil components and antibiotics: a review. *Critical Reviews in Microbiology,* 40, 76–94. https://doi.org/10.3109/1040841X.2013.763219.

Lee, B. H., Annis, P. C., Tumaalii, F. & Choi, W. S. (2004). Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1,8-cineole against 3 major stored-grain insects. *Journal of Stored Products Research*, 40, 553–564. https://doi.org/10.1016/j.jspr.2003.09.001

Lee, S., Peterson, C. J. & Coats, J. R. (2002). Fumigation Toxicity of Monoterpenoids to several stored product pests. *Journal of Stored Products Research*, 39, 77-85. https://doi.org/10.1016/S0022-474X(02)00020-6

Lee, S., Tsao, R., Peterson, C. & Coats, J. R. (1997). Insecticidal activity of monoterpenes to western corn root worm (Coleoptera: Chrysomelidae), two spotted spider mite (Acari: Tetranychidae), and housefly (Diptera: Muscidae). *Journal of Economic Entomology* 90, 883–892. 0.1093/jee/90.4.883.

Lucia, A., Licastro, S., Zerba, E., Gonzalez, A. P. & Masuh, H. (2009). Sensitivity of *Aedes aegypti* adults (Diptera: Culicidae) to the vapors of *Eucalyptus* Essential oils. *Bioresource Technology*, 100, 6083–87. 10.1016/j.biortech.2009.02.075

Magierowicz, K., Gorska-Drabik, E. & Golan, K. (2019). Effects of plant extracts and essential oils on the behavior of *Acrobasis advenella* (Zinck.) caterpillars and females. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 127, 63–71. 10.1007/s41348-019-00275-z.

Mahmoud, N. F., Badawy, M. E. I., Marei, Abd, El. SM. & Abdelgaleil, S. A. M. (2019). Acaricidal and antiacetylcholinesterase activities of essential oils from six plants growing in Egypt. *International Journal of Acarology,* 45, 245–251.10.1080/01647954.2019.1611919.

Mills, C., Cleary, B.V., Walsh, J. J. & Gilmer, J. F. (2004). Inhibition of acetylcholinesterase by Tea Tree oil. *Journal of Pharmacy and Pharmacology,* 56, 375–379. https://doi.org/10.1211/0022357022773.

Mimica-Dukic, N., Bugarin, D., Grbovic, S., Miticculafic, D., Vukovic-Gacic, B., Orcic, D., Jovin, E., & Couladis, M. (2010). Essential Oil of *Myrtus communis* L. as a Potential Antioxidant and Antimutagenic Agents. *Molecules*, 15, 2759–2770. https://doi.org/10.3390/molecules15042759.

Miresmailli, S., Bradbury, R., & Isman, M. B. (2006). Comparative toxicity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and blends of its major constituents against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on two different host plants. *Pest Managements science*, 62, 366–371. https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/ps.1157.

JESI Accepted MS

Moghaddam, M., Pirbalouti, A. G., Mehdizadeh, L. & Pirmoradi, M. R. (2015). Changes in composition and essential oil yield of *Ocimum ciliatum* at different phenological stages *European Food Research and Technology*, 240, 199-204. http://library.vru.ac.ir/dL/search/default.aspx?Term=1169&Field=0&DTC=130.

Moghrani, H. & Maachi, R. (2008). Valorization of *Myrtus communis* essential oil obtained by steam driving distillation. *Asian Journal* of *Scientific Research,*1, 518–524. https:// doi.org/10.3923/ajsr.2008.518.524.

Mohamadi, Y., Lograda, T., Ramdani, M., Figueredo, G. & Chalard, P. (2021). Chemical composition and antimicrobial activity of *Myrtus communis* essential oils from Algeria. *Biodiversitas*, 22,933-946. https://doi.org/10.13057/biodiv/d220249.

Montoro, P., Tuberoso, C. I. G., Piacente, S., Perrone, A., Feo, V. D., Cabras, P. & Pizza, C. (2006). Stability and antioxidant activity of polyphenols in extracts of *Myrtus communis* L. berries used for the preparation of myrtle liqueur. *Journal of Pharmaceutical* and *Biomedical Analysis*, 41, 1614–1619. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2006.02.018.

Norris, E. J., Johnson, J. B., Gross, A. D., Bartholomay, L. C. & Coats, J. R. (2018). Plant essential oils enhance diverse pyrethroids against multiple strains of mosquitoes and inhibit detoxification enzyme processes. *Insects*, 9, 132. https://doi.org/10.3390/insects9040132.

Ouis, N., Hariri, A. & El Abed, D. (2014). Phytochemical analysis and antimicrobial bioactivity of the Algerian parsley essential oil (*Petroselinum crispum*). *African Journal of Microbiology Research*, 8, 1157–1169. https://doi.org/10.5897/AJMR12.1021.

Ozcan, M. M. & Chalchat, J. C. (2010). Comparison of chemical composition of essential oil obtained from different parts of *Foeniculum vulgare* ssp. Piperitum used as condiment. *Journal of Food Biochemistry*, 34, 1268–1274. https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2010.00370.x.

Pavela, R. & Benelli, G. (2016). Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints. *Trends in Plant Science* 21,1000–1007. 10.1016/j.tplants.2016.10.005

Pavela, R. (2008). Insecticidal properties of several essential oils on the house fly (*Musca domestica* L.). *Phytotherapy Research*, 22, 274–278. 10.1002/ptr.2300

Pavela, R. (2015) Acute toxicity and synergistic and antagonistic effects of the aromatic compounds of some essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say larvae. *Parasitology Research*, 114, 3835– 3853. https://doi.org/10.1007/s00436-015-4614-9.

Plata-Rueda A., Zanuncio J. C., Serrao, J. E. & Martinez, L. C. (2021). *Origanum vulgare* essential oil against *Tenebrio molitor* (Coleptera: Tenebrionidae): composition, insecticidal activity, and behavioral response. *Plants*, 10:2513. https://doi.org/10.3390/plants10112513.

Pourya, M., Sadeghi, A., Ghobari, H., Taning, C. N. T. & Smagghe, G. (2018). Bioactivity of *Pistacia atlantica* desf. Subsp. *Kurdica* (Zohary) Rech. F. and *Pistacia khinjuk* stocks essential oils against *Callosobruchus maculatus* (F, 1775) (Coloeptera: Bruchidae) under laboratory conditions. *Journal of Stored Products Research,* 77, 96–105. https://doi.org/10.1016/j.jspr.2018.03.007.

Rahimmalek, M., Maghsoudi, H., Sabzalian, M. R. & Pirbalouti, G. (2018). Variability of Essential Oil Content and Composition of Different Iranian Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) Accessions in Relation to Some Morphological and Climatic Factors. *Journal of Agricultural Science and Technology,* 16, 1365–1374. https://sid.ir/paper/718047/en.

Rajendran, S. & Sriranjini, V. (2008). Plant products as fumigants for stored-product insect control. *Journal of Stored Products and Resources,* 44, 126–35.

Rattan, R. S. (2010). Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. *Crop Protection,* 29, 913–920. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.05.008

Reddy, S. G. E. & Dolma, S. K. (2018). Acaricidal activities of essential oils against two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch. *Toxin Reviews*, 37, 62-66, 10.1080/15569543.2017.1320805.

Rincon, R. A., Rodríguez, D. & Coy-Barrera, E. (2019). Botanicals against *Tetranychus urticae* Koch under laboratory conditions: a survey of alternatives for controlling pest mites. *Plants* 8, 272. 10.3390/plants8080272.

Robertson, J. L., Russel, R. M., Preisler, H. K. & Savin, N. E. (2007). *Bioassays with Arthropods. 2nd ed.* CRC Press, Inc, Boca Raton, FL.

Roh, H. S., Lim, E. G., Kim, J. & Park, C. G. (2011). Acaricidal and oviposition deterring effects of santalol identified in sandalwood oil against two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Journal of Pest Science,* 84, 495–501. 10.1007/s10340-011-0377-y.

Rozman, V., Kalinovic, I. & Korunic, Z. (2007). Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*, 43, 349–355. https://doi.org/10.1016/j.jspr.2006.09.001.

Ruttanaphan, T., Pluempanupat, W., Aungsirisawat, C., Boonyarit, P., Le, G. G., & Bullangpoti, V. (2019) Effect of plant essential oils and their major constituents on cypermethrin Tolerance associated detoxification enzyme activities in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, 112, 2167–2176 . https://academic.oup.com/jee/article/112/5/2167/5505288.

Sadeghi, A., Pourya, M. & Smagghe, G. (2016). Insecticidal activity and composition of essential oils from *Pistacia atlantica* subsp. *Kurdica* against the model and stored product pest beetle *Tribolium castaneum*. *Phytoparasitica*, 44, 601–607. https://doi.org/10.30491/JABR.2020.107583

JESI Accepted MS

Santamaria, M. E., Arnaiz, A., Rosa-Diaz, I., González-Melendi, P., Romero-Hernandez, G., Ojeda-Martinez, D. A., Garcia, A., Contreras, E., Martinez, M. & Diaz, I. (2020). Plant defenses against *Tetranychus urticae*: mind the gaps. *Plants*, 9, 464. 10.3390/plants9040464.

Savikin-Fodulovic, K. P., Bulatovic, V. M., Menkovic, N. R. & Grubisic, D. V. (2000). Comparison between the Essential Oil of *Myrtus communis* L. Obtained from Naturally Grown and In Vitro Plants. *Journal* of *Essential Oil Research,* 12, 75–78. https://doi.org/10.1080/10412905.2000.9712047.

Sayed-Ahmad, B., Talou, T., Saad, Z., Hijazi, A. & Merah, O. (2017). The Apiaceae: Ethnomedicinal family as source for industrial uses. *Industrial Crops and Products,* 109, 661–671. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.027.

Sertkaya, E., Kaya, K. & Soylu, S. (2010). Acaricidal activities of the essential oils from several medicinal plants against the carmine spider mite (*Tetranychus cinnabarinus* Boisd.) (Acarina: Tetranychidae). *Industrial Crops and Products,* 31, 107–112. 10.1016/j.indcrop.2009.09.009.

Shang, X., Wang, Y., Zhou, X, Guo, X., Dong, S., Wang, D., Zhang, J., Pan, H., Zhang, Y. & Miao, X. (2016). Acaricidal activity of oregano oil and its major component, carvacrol, thymol and p-cymene against Psoroptes cuniculi in vitro and in vivo. *Veterinary, Parasitology,* 226, 93–96. 10.1016/j.vetpar.2016.07.001.

Shi, L., Shi, Y., Zhang, Y. & Liao, X. (2019). A systemic study of indoxacarb resistance in *Spodoptera litura* revealed complex expression profiles and regulatory mechanism. *Scientific Reports*, 9, 14997. https://www.nature.com/articles/s41598-019-51234-5.

Sun, Y. P. (1950). Toxicity Index-an improved Method of comparing the relative 378 Toxicity of Insecticides. *Journal of Economic Entomology*, *43*, 45-53. https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/19501000378.

Susurluk, H. (2023). Potential use of essential oils from *Origanum vulgare* and *Syzygium aromaticum* to control *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on two host plant species. *PeerJ*, 11, e14475. http://doi.org/10.7717/peerj.14475

Suwannayod, S., Sukontason, K. L., Pitasawat, B., Junkum, A., Limsopatham, K., Jones, M. K., Somboon, P., Leksomboon, R., Chareonviriyaphap, T., Tawatsin, A., Thavara, U. & Sukontason, K. (2019). Synergistic toxicity of plant essential oils combined with pyrethroid insecticides against blow flies and the house fly. *Insects,* 10, 1-16. https://doi.org/10.3390%2Finsects10060178.

Tabet, V. G., Vieira, M. R., Martins, G. L. M., Milan de Sousa, C. G. N. (2018). Plant extracts with potential to control of two-spotted spider mite. *Agricultural Entomology*, 85,1–8. 10.1590/1808-1657000762015.

Taiwo, O. W., Ofuya, T. I., Adebayo, R. A. & Idoko, J. E. (2023). Antagonistic, additive and synergistic interactions in the fumigant toxicity of binary mixes of powders of cloves and citrus fruit peels to adults of *Callosobruchus maculatus* Fabricius (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 24, 285–289. https://doi.org/10.30574/gscbps.2023.24.2.0296.

Tak, J. H. & Isman, M. B. (2015). Enhanced cuticular penetration as the mechanism for synergy of insecticidal constituents of rosemary essential oil in *Trichoplusia ni. Scientific Reports,* 5, 12690. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26223769/.

Tak, J. H. & Isman, M. B. (2016). Metabolism of citral, the major constituent of lemongrass oil, in the cabbage looper, *Trichoplusia ni,* and effects of enzyme inhibitors on toxicity and metabolism. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 133, 20–25. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2016.03.009

Tak, J. H. & Isman, M. B. (2017). Penetration-enhancement underlies synergy of plant essential oil terpenoids as insecticides in the cabbage looper *Trichoplusia ni, Scientific Reports,* 7, 42432. https://www.nature.com/articles/srep42432

Telci, I., Demirtas, I. & Sahin, A. (2009). Variation in plant properties and essential oil composition of sweet fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) fruit during stages of maturity. *Industrial Crops and Products,* 30, 126–130. https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.02.010

Toncer, O., Karaman, S., Diraz, E. & Tansi, S. (2017). Essential oil composition of *Ocimum basilicum* L. at different phenological stages in semi-arid environmental conditions. *Fresenius Environmental Bulletin,* 26, 5441-5446. https://www.researchgate.net/publication/326850091

Tong, F. & Bloomquist, J. R. (2013). Plant essential oils affect the toxicities of carbaryl and permethrin against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology,* 50, 826-832. 10.1603/me13002.

Tong, F. & Coats, J. R. (2010). Effects of monoterpenoid insecticides on [^{3}H]-TBOB binding in house fly GABA receptor and Cl− uptake in American cockroach ventral nerve cord. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 98, 317–324. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2010.07.003.

Topuz, E. & Erler, F. (2007). Bioefficacy of some essential oils against the carmine spider mite, *Tetranychus cinnabarinus*. *Fresenius Environmental Bulletin*, 16, 1498–1502. https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&.

Toudert-Taleb, K., Hedjal-Chebheb, M., Hami, H., Debras, J. F. & Kellouche, A. (2014). Composition of Essential Oils Extracted from Six Aromatic Plants of Kabylian Origin (Algeria) and Evaluation of Their Bioactivity on *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Bruchidae). *African Entomology,* 22, 417–427. https://doi.org/10.4001/003.022.0220

Veal, L. (1996). The potential effectiveness of essential oils as a treatment for headlice, *Pediculus humanus capitis*. *Complementary Therapies in Nursing and Midwifery*, 2, 97–101. 10.1016/s1353-6117(96)80083-7 .

JESI Accepted MS

Viuda-Martos, M., Mohamady, M. A., Fernández-Lopez, J., Abd ElRazik, K. A., Omer, E. A., Pérez-Alvarez, J. A. & Sendra, E. (2011). In vitro antioxidant and antibacterial activities of essentials oils obtained from Egyptian aromatic plants. *Food. Control.* 22, 1715–1722. https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.04.003.

Wagner, H. & Ulrich-Merzenich, G. (2009). Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. *Phytomedicine* 16, 97–110. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.12.018.

Walle, M., Walle, B., Zerihun, L. & Makonnen, E. (2014). Sedative-hypnotic like effect of the essential oil from the leaves of *Myrtus communis* on mice. *Asian Journal of Biological and Life sciences,* 2, 70–77. https://doi.org/10.11648/j.ajbls.20140204.12.

Wang, D. C., Qiu, D. R., Shi, L. N, Pan, H. Y., Li, Y. W., Sun, J. Z., Xue, Y. J., Wei, D. S. & Li, X. (2015). Identification of insecticidal constituents of the essential oils of *Dahlia pinnata* Cav. against *Sitophilus zeamais* and *Sitophilus oryzae*. Natural *Product Research*, 29, 1748-51. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25563135/

Yaghoobi-Ershadi, M. R., Moosa-Kazemi, S. H., Zahraei-Ramazani, A. R., Jalai-Zand, A. R., Akhavan, A. A., Arandian, M. H. & Hosseini, M. (2006). Evaluation of deltamethrin-impregnated bed nets and curtains for control of zoonotic cutaneous leish-maniasis in. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique,* 99, 43–48. https://doi.org/10.3185/pathexo2818.

Zerkani, H., Amalich, S., Tagnaout, I., Bouharroud, R. & Zair, T. (2022). Chemical composition, pharmaceutical potential and toxicity of the essential oils extracted from the leaves, fruits and barks of *Pistacia atlantica*. *Biocatalysis* and *Agricultural Biotechnology,* 43, 102431. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102431.

JESI Accepted MS

Chemical composition and Synergistic toxicity of four essential oils on *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae)

Farhad Sharifi & Maryam Malekmohammadi

Department of plant protection, Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

✉ shariffarhad@yahoo.com https://orcid.org/0000-0000-2457-1107
✉ m.malekmohamadi@basu.ac.ir https://orcid.org/0000-0002-3108-1355

Article History
Received: xx 2024 | *Accepted:* xx 2024 | Subject Editor: Mahboubeh Sharifi

Abstract
Problems associated with the use of pesticides have urged the need for biodegradable, environmentally and ecologically safe pesticides. Owing to the high heterogeneity and complex composition, binary combinations of plant derived-essential oils often exhibit increased insecticidal activity through synergistic interactions. The aims of the present study, therefore were to: 1) determine essential oil yield and chemical composition of *Myrtus communis* L. (Myrtaceae), *Foeniculum vulgare* Mill. (Apiaceae), *Eucalyptus globulus* Labill. (Myrtaceae) and *Pistacia atlantica Desf. (Anacardiaceae)* essential oils by gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) at two different phenological stages and 2) evaluate durability and 3) fumigant toxicity of above-mentioned essential oils and their binary combinations against two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) eggs and adults. The essential oils yields (w/w %) varied between 0.69% for *M. communis* at vegetative stage and 1.27% for *F. vulgare* at full flowering stage. At the full flowering stage, 23, 24, 34, and 17 components were identified in essential oils of *P. atlanticae, E. globulus, M. communis* and *F. vulgare, respectively.* Oxygenated monoterpenes and monoterpene hydrocarbons constituted the majority of chemical classes in essential oils of the studied plants. Among the oils tested, the most toxic essential oils against adults and eggs of *T. urticae* were *M. communis* (LC_{50}= 3.95 µL L^{-1} air) and *F. vulgare* (LC_{50}= 0.91 µL L^{-1} air), respectively. The LC_{50} values for the binary mixtures of the essential oils ranged between 0.75 to 3.23 µL L^{-1} and between 3.78 to 6.84 µL L^{-1}, for *T. urticae* eggs and adults, respectively. Based on the synergistic factor and dose reduction index, the most promising binary mixtures to *T. urticae* eggs and adults was *E. globulus* EO: *P. atlantica* EO. The essential oils of *M. communis, E. globulus, F. vulgare* and *P. atlantica* caused 71%, 69%, 61% and 51% mortality at 3rd day exposure, respectively. No mortality was recorded on 9th day of exposure for all plant essential oils. Such this fast-initial release could reduce the toxicological effects expected to each essential oils. Overall it seems that essential oils of *the* above mentioned plants *have the potential to be used in management of T. urticae in greenhouse conditions.*

Keywords: two-spotted spider mite; chemical composition of essential oil; binary combinations; fumigant toxicity

Corresponding Author: Maryam Malekmohammadi: (m.malekmohamadi@basu.ac.ir)

Citation: Sharifi, F. & Malekmohammadi, M. (2024) Chemical composition and Synergistic toxicity of four essential oils on *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) (Acari: Tenuipalpidae). *J. Entomol. Soc. Iran*, 44 (1), 87–99. https://doi.org.10.61186/jesi.44.1.7

JESI Accepted MS