تحقیقات آفات گیاهی
۴۹-۳۹ :(۳) ۴- ۱۳۹۳

بررسی سمیت تماسی ده اسانس از گیاهان خانواده ی نعناعیان روی کنه‌ی‌تارتن دولکه‌ای *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)

مریم کاوه[۱]، نفیسه پورجواد[۲] و جهانگیر خواجه علی*[۳]

۱، ۲ و ۳. به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد حشره شناسی کشاورزی و استادیارهای دانشکده ی کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان

(تاریخ دریافت: ۹۲/۸/۷ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۲/۲۴)

چکیده

کنه‌ی تارتن‌دولکه‌ای *Tetranychus urticae* یکی از مهم‌ترین آفات گلخانه، سبزیجات و گیاهان زینتی در سرتاسر جهان در فضاهای بسته و باز است. در حال حاضر در مدیریت این آفت استفاده از آفت‌کش‌ها بسیار رایج است، که باعث آلودگی محیط زیست، ایجاد مقاومت و افزایش دوباره ی جمعیت کنه می‌شود. در سال های اخیر، اسانس‌های گیاهی، عصاره‌ها و ترکیبات ثانویه ی گیاهان به دلیل خاصیت حشره کشی، کنه‌کشی، دورکنندگی و اثرات ضد تغذیه‌ای بسیار مورد توجه قرار گرفته‌اند. در این پژوهش به بررسی سمیت تماسی ده اسانس از گیاهان خانواده ی نعناعیان Lamiaceae روی بالغین کنه ی تارتن دولکه‌ای و اثر گیاه‌سوزی غلظت بالای این اسانس‌ها روی گیاه لوبیا پرداخته شد. اسانس‌های گیاهی با استفاده از دستگاه کلونجر و با روش تقطیر با آب استخراج شدند. مرگ و میر کنه ها پس از گذشت ۲۴ ساعت ارزیابی شد و میزان LC_{50} برای هر اسانس محاسبه شد. در این پژوهش مشخص شد که اسانس گیاهان آویشن شیرازی *Zataria multiflora* و نعناع فلفلی *Mentha piperita* به ترتیب با LC_{50} معادل ۴۱۹/۴۴ میلی‌گرم بر لیتر و ۴۲۵/۴۲ میلی‌گرم بر لیتر بیشترین سمیت را روی کنه تارتن دونقطه¬ای دارند. با افزایش غلظت اسانس‌ها میزان مرگ و میر کنه‌ها افزایش یافت. در غلظت‌های کمتر از ۱۶۰۰ پی پی ام هیچ گونه گیاه‌سوزی و در غلظت ۱۶۰۰ پی پی ام میزان گیاه سوزی اندکی روی برگ‌های گیاه لوبیا مشاهده شد.

واژگان کلیدی: اسانس های‌گیاهی، سمیت تماسی، کنه ی تارتن دولکه‌ای ، کنه‌کش

* نویسنده مسئول: khajeali@cc.iut.ac.ir

مقدمه

استفاده از آفت‌کش‌های شیمیایی همواره برای بشر مشکلات فراوانی به همراه داشته است. ترکیبات شیمیایی همواره سلامت انسان‌ها و محیط زیست را تهدید می-کنند(Aktar *et al*., 2009). بنابراین امروزه نیاز به جایگزین‌های امن، ارزان، با امکان مصرف آسان و سازگار با محیط زیست بیشتر احساس می‌شود. کنه تارتن دونقطه¬ای *Tetranychus urticae* یکی از مهم‌ترین آفات درختان میوه، سبزیجات و گیاهان زینتی در سرتاسر جهان در فضاهای بسته و باز است. این کنه باعث کاهش شدید محصول به‌خصوص زمانی که دما به حد کافی بالا است، می‌شود. مدیریت این آفت بر پایه‌ی استفاده از آفت-کش‌ها استوار است که نتیجه‌ی آن ایجاد مقاومت در جمعیت کنه‌ی تارتن، آلودگی محیط‌زیست و شیوع انواع سرطان‌ها می باشد (Attia *et al*., 2013). در سال‌های اخیر استفاده از مشتقات گیاهی برای کنترل آفات بسیار مورد توجه قرار گرفته است. به عنوان مثال ترکیبات ثانویه در گیاهان به عنوان یک سد دفاعی در برابر بسیاری از آفات عمل کرده و می‌توانند اثرات دورکنندگی و ضد تغذیه‌ای داشته باشند و بسیاری از آفات را تحت تأثیر قرار دهد. سمومی که از مشتقات گیاهی تهیه می‌شوند دارای اثرات کمی روی پستانداران هستند و در محیط‌زیست به سرعت تجزیه می‌شوند. بنابراین استفاده از مشتقات گیاهی می‌تواند به عنوان یک روش جایگزین در مدیریت این آفت مطرح شود (Laborda *et al*., 2013). در این بین استفاده از اسانس‌های گیاهی برای کنترل آفات کشاورزی اهمیت ویژه‌ای پیدا کرده است. اسانس‌های گیاهی مخلوطی از مایعات معطر هستند که از طریق تقطیر گیاهان آروماتیک به دست می‌آیند. این مواد معطر ترکیبات شیمیایی خاصی دارند که در شرایط عادی بسیار فرار بوده و با توجه به عطر و بوی خاص آن ها در موارد متعددی مورد استفاده قرار می‌گیرند. اسانس‌های گیاهی در بیش از ۲۰۰۰ گونه از گیاهان متعلق به ۶۰ خانواده ی گیاهی وجود دارند ولی فقط ۱۰۰ گونه از آن‌ها از نظر اقتصادی در جهان دارای اهمیت خاص هستند(Alvi *et al*., 2001). گیاهان خانواده‌ی نعناعیان[1] دارای اهمیت اقتصادی زیادی هستند، گیاهان این خانواده بیش از ۲۵۰۰ گونه دارند و بیشتر در مناطق معتدله می‌رویند. قسمت عمده‌ی این گیاهان علفی بوده و دارای ریشه‌های چندساله می‌باشند. در سطح برگ و ساقه جوان بیشتر گیاهان این خانواده پرزهای ساده و غده‌ای یافت می-شود که دارای ترشحات معطر می‌باشند. مطالعات انجام شده در زمینه‌ی بررسی خاصیت حشره‌کشی و کنه‌کشی گونه-های متفاوت از خانواده‌ی نعناعیان نشان داده است که گونه‌های مختلف این خانواده دارای ترکیبات متفاوتی هستند که خاصیت حشره‌کشی و کنه‌کشی خود را به واسطه‌ی این ترکیبات اعمال می‌کنند از جمله این ترکیبات می‌توان به تیمول[2]، کارواکرول[3] و منتول[4] اشاره کرد (Kumar *et al*., 2011; Rajendran and Sriranjini, 2008). هدف از این پژوهش بررسی اثر سمیت تماسی ده اسانس از گیاهان خانواده ی نعناعیان شامل آویشن دنایی *Thymus daenensis*، آویشن شیرازی *Zataria multiflora*، برازمبل *Perovskia abrotanoides*، پونه *Mentha longifolia*، پونه معطر *Mentha pulegium*، رزماری *Rosmarinus officinalis*، مرزه *Satureia hortensis*، مریم گلی سهندی *Salvia sahendica*، نعناع *Mentha spicata* و نعناع فلفلی *Mentha piperita* روی مرحله‌ی بالغ کنه‌ی تارتن دولکه‌ای می‌باشد. هم چنین میزان گیاه‌سوزی این ترکیبات نیز مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش ها

جمع‌آوری گیاهان

گیاهان آویشن دنایی، برازمبل و رزماری از اصفهان در اسفند ماه سال ۱۳۹۰ جمع‌آوری شدند. دو گیاه مریم گلی سهندی و مرزه از تبریز در شهریور ماه ۱۳۹۱ جمع‌آوری شدند. گیاه پونه در فروردین ماه ۱۳۹۱ از شیراز جمع‌آوری

1-Lamiaceae
2-Thymol
3-Carvacrol
4-Menthol

شد. سه گیاه پونه معطر، نعناع و نعناع فلفلی از دزفول در مرداد ماه ۱۳۹۱ جمع‌آوری شدند. هم چنین گیاه آویشن شیرازی در شهریور ماه ۱۳۹۱ از کازرون جمع آوری شد. گونه های گیاهی جمع آوری شده پس از شناسایی توسط متخصصین گیاه‌شناسی دانشگاه صنعتی اصفهان در آزمایشگاه در شرایط سایه و تهویه ی مناسب خشک شدند.

استخراج اسانس

گیاهان جمع‌آوری شده توسط دستگاه کلونجر[5] اسانس‌گیری شدند. گیاهان خشک شده توسط خردکن برقی پودر شده و در هر بار اسانس‌گیری ۵۰ گرم از پودر گیاهان و ۶۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر استفاده شد. مدت زمان اسانس‌گیری ۲ ساعت بود. اسانس‌های تهیه شده تا زمان استفاده در یخچال در دمای ۴ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

پرورش کنه‌ی تارتن‌دولکه‌ای *T. urticae*

کنه‌های تارتن دولکه‌ای از روی گیاهان لوبیای *Phaseolus vulgaris* آلوده به این آفت جمع‌آوری شدند و پس از شناسایی، در شرایط آزمایشگاهی روی گیاه لوبیا *P. vulgaris* در دمای ۱±۲۵ درجه ی سلسیوس و رطوبت نسبی ۶۰-۴۰ درصد و دوره ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی پرورش داده شدند.

بررسی سمیت تماسی اسانس ها روی کنه‌ی تارتن‌دولکه‌ای

برای بررسی سمیت تماسی هر اسانس، به طور جداگانه محلول های ۴۰۰،۲۰۰، ۸۰۰ و ۱۶۰۰ پی پی ام تهیه شد. برای تهیه ی محلول ۲۰۰ پی پی ام، ۴ میکرولیتر اسانس به ۱۸ میلی‌لیتر آب مقطر و ۲ میلی‌لیتر اتانول اضافه گردید. برای غلظت‌های بعدی به ترتیب میزان ۸، ۱۶ و ۳۲ میکرولیتر اسانس استفاده شد و میزان آب مقطر و اتانول ثابت بود. برای انجام آزمایش از روش غوطه‌وری[6] استفاده شد (Roh *et al.*, 2011). بدین صورت که پس از تهیه‌ی محلول‌ها، برگ‌های گیاه لوبیا *P. vulgaris* در ظروف حاوی غلظت‌های متفاوت از اسانس قرار گرفتند و پس از گذشت ۵ ثانیه برگ‌ها از محلول خارج شده و به مدت ۲۰ دقیقه درمعرض هوای آزاد قرار گرفتند تا خشک شوند. سپس برگ‌ها به اندازه های ۲×۲ سانتی متر بریده شدند و در ظروف پتری با ابعاد ۹×۲ سانتی متر و حجم ۴۰ میلی‌لیتر روی پدهای مرطوبی قرار گرفتند. تعداد ۲۰ عدد کنه‌ی بالغ ماده به وسیله ی یک قلم موی نازک روی برگ‌های بریده شده قرار گرفتند. درپوش پتری ها دارای حفرات مربعی شکل به اندازه ی ۱×۱ سانتی متر بودند که به وسیله ی یک توری نازک پوشانده شده بودند. تمامی پتری‌ها در شرایط دمایی ۲±۲۶ و رطوبت نسبی ۶۰±۵۵ درصد و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. برای تیمار شاهد محلول استفاده شده فقط آب مقطر و اتانول بود. برای هر غلظت ۴ تکرار در نظر گرفته شد. پس از ۲۴ ساعت میزان مرگ و میر کنه‌ها محاسبه شد.

تعیین میزان‌گیاه سوزی

به منظور ارزیابی میزان گیاه‌سوزی برگ‌ها، غلظت ۱۶۰۰ پی پی ام برای هر اسانس تهیه شد. برای هر گیاه ۴ تکرار در نظر گرفته شد. سپس برگ‌های لوبیا به طور جداگانه در پتری‌های حاوی محلول‌های تهیه شده قرار گرفتند. پس از غوطه‌ور کردن برگ‌ها در محلول‌های تهیه شده، این برگ‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در معرض هوای آزاد قرار گرفتند تا خشک شوند. پس از گذشت ۲۴ ساعت، هر دو سطح برگ توسط اسکنر کانن مدل ۴۴۱۰ اسکن شدند، سپس میزان کلروز هر برگ توسط روش پردازش تصویر[7] و با استفاده از نرم‌افزار برنامه نویسی MATLAB محاسبه شد. در این برنامه پس از تشخیص سطح برگ، یک بازه رنگی به عنوان سطح سوخته شده‌ی برگ تعیین و برای نرم‌افزار تعریف شد. سپس کل سطح برگ به صورت پیکسل به پیکسل مورد بررسی قرار گرفته و پیکسل‌هایی که در بازه‌های تعریف شده می‌گنجند به عنوان سطح سوختگی تشخیص داده می‌شوند. در انتها پس از بررسی کل سطح برگ، درصد سوختگی توسط نرم‌افزار محاسبه شد.

5-Clevenger
6-A leaf-dip method
7-Image processing

جداسازی و شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده‌ی اسانس‌های گیاهی

پس از اسانس‌گیری از نمونه‌ها، شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده‌ی اسانس به‌وسیله‌ی دستگاه GC-MS در دانشگاه آزاد اسلامی شهرکرد صورت گرفت (جدول۴). مدل دستگاه GC (Agilent 7890A) و مدل دستگاه Mass (Agilent 5975C) بود. برنامه ریزی دمایی ستون در یک مرحله انجام شد. این مرحله از دمای ۶۰ درجه‌ی سلسیوس تا ۲۸۰ درجه‌ی سلسیوس و با سرعت افزایش چهار درجه‌ی سلسیوس در دقیقه انجام گرفت. گاز حامل هلیوم بود، نوع ستون HP-5MS با طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میکرومتر بود.

آنالیز داده‌ها

میزان مرگ و میر کنه‌ها با توجه به مرگ و میر در شاهد به وسیله ی فرمول ابوت اصلاح شد. داده ها به روش رگرسیون پروبیت و به وسیله‌ی نرم افزار POLO-PC تجزیه شدند و میزان LC_{50} محاسبه شد. برای مقایسه میانگین‌ها از روش LSD در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد. قبل از تجزیه‌ی آماری، برای تثبیت واریانس داده‌های درصد مرگ و میر با تبدیل شدن به $\text{Arcsin}\sqrt{x/100}$ (تبدیل زاویه ای) نرمال شدند.

نتایج

پس از انجام آزمایش‌های زیست سنجی میزان مرگ و میر کنه‌ها محاسبه شد. مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون LSD و در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد (جدول۱). در این آزمایش‌ها با افزایش غلظت اسانس‌ها از ۲۰۰ پی پی ام به ۱۶۰۰ پی پی ام میزان مرگ و میر افزایش یافت به طوری که در غلظت ۱۶۰۰ پی پی ام بیشترین درصد مرگ و میر مشاهده شد. با توجه به محاسبات LC_{50}، کم‌ترین میزان LC_{50} مربوط به دو اسانس آویشن شیرازی و نعناع فلفلی به ترتیب با LC_{50} معادل ۴۱۹/۴۴ و ۴۲۵/۴۲ میلی‌گرم بر لیتر است. (جدول ۲).

شیب خط نشان دهنده‌ی اختلاف بین جمعیت کنه‌ها از نظر واکنش به اسانس‌های متفاوت است. در این آزمایش شیب خط برای اسانس‌های مختلف اختلاف چندانی نشان نداد. بالاترین شیب خط مربوط به گیاه برازمبل *P. abrotanoides* است که نشان دهنده‌ی کوچک‌تر بودن محدوده‌ی واکنش کنه‌ها ی تارتن به اسانس گیاه مذکور است.

در غلظت ۱۶۰۰ پی پی ام میزان گیاه‌سوزی اندکی روی برگ‌های گیاه لوبیا (به میزان کمتر از ۷/۵٪) مشاهده گردید (جدول ۳). با توجه به کم‌تر بودن میزان گیاه‌سوزی اسانس گیاه نعناع فلفلی و هم‌پوشانی دامنه‌ی LC_{50} این اسانس با اسانس گیاه آویشن شیرازی، استفاده از این دو گیاه در کنترل کنه ی تارتن دولکه ای اهمیت دارد.

جدول ۱- درصد مرگ و میر (میانگین ± خطای معیار) ناشی از تأثیر اسانس های مختلف گیاهی روی بالغین کنه ی تارتن‌دولکه‌ای

Table 1. The mortality percentage (mean±SE) induced by different essential oils of Lamiaceae on adults of *Tetranychus urticae*

Essential oils	%Mortality±SE			
	200 ppm	400 ppm	800 ppm	1600 ppm
Rosmarinus officinalis	24.3±2.91^{d}	39.74±3.79^{c}	56.41±3.75^{b}	85.89±2.17^{a}
Thymus daenensis	21.25±5.90^{c}	33.75±2.39^{c}	55±6.45^{b}	80±2.04^{a}
Perovskia abrotanoides	21.79±1.43^{d}	38.46±4.4^{c}	57.68±4.76^{b}	89.74±3.30^{a}
Salvia sahendica	20±5.05^{c}	45±3.53^{b}	50±2.04^{b}	78.75±4.26^{a}
Mentha longifolia	23.07±2.59^{c}	47.43±5^{b}	53.84±5.45^{b}	83.33±4.02^{a}
Satureia hortensis	21.25±2.39^{d}	32.5±5.54^{c}	53.75±2.39^{b}	78.75±4.26^{a}
Mentha spicata	25±2.34^{d}	46.25±2.39^{c}	61.25±3.14^{b}	78.75±4.26^{a}
Mentha pulegium	26.25±4.78^{d}	47.5±1.44^{c}	65±2.04^{b}	83.75±2.39^{a}
Mentha piperita	27.5±1.14^{d}	50±2.04^{c}	65±4.56^{b}	87.5±4.53^{a}
Zataria multiflora	23.75±2.39^{c}	58.75±4.2^{b}	66.25±6.2^{b}	81.25±1.25^{a}

Means ± SE, means within a row followed by the same letters are not significantly different (P>0.05, LSD test)

جدول ۲- میزان LC_{50} محاسبه شده ناشی از سمیت تماسی اسانس های مختلف گیاهی روی بالغین کنه ی تارتن‌دولکه‌ای

Table 2. The LC_{50} values for contact toxicity induced by different essential oils of Lamiaceae on adults of *Tetranychus urticae*

Essential oils	n	LC_{50}	Slope±SE	χ^2	Df
Rosmarinus officinalis	320	530.71 (435.38-641.60)	1.87±0.24	6.06	14
Thymus daenensis	320	446.19 (513.05-755.54)	1.81±0.23	12.03	14
Perovskia abrotanoides	320	526.71 (441.72-623.60)	2.14±0.25	10.73	14
Salvia sahendica	320	602.13 (489.33-747.06)	1.64±0.22	12.25	14
Mentha longifolia	320	523.4 (421.37-642.31)	1.71±0.23	11.36	14
Satureia hortensis	320	636.02 (524.43-781.98)	1.76±0.23	8.23	14
Mentha spicata	320	503 (400.68-622.53)	1.58±0.22	5.03	14
Mentha pulegium	320	454.44 (365.95-550.89)	1.75±0.23	2.52	14
Mentha piperita	320	425.42 (343.58-512.05)	1.83±0.23	7.7	14
Zataria multiflora	320	419.44 (328.1-514.02)	1.65±0.23	11.93	14

جدول ۳- درصد گیاه سوزی ناشی از تأثیر اسانس های مختلف روی برگ های گیاه لوبیا در غلظت ۱۶۰۰ پی پی ام

Table 3. The percentage of phytotoxicity (mean ± SE) resulted from the application of different essential oils of Lamiaceae on the leaves of *Phaseolus vulgaris* in 1600 ppm

Essential oils	%Phytotoxicity
Rosmarinus officinalis	2.07±0.6^{bc}
Thymus daenensis	4.27±2.44^{ab}
Perovskia abrotanoides	7.49±1.53^{bc}
Salvia sahendica	6.49±1.17^{a}
Mentha longifolia	2.04±0.27^{bc}
Satureia hortensis	2.35±0.31^{bc}
Mentha spicata	4.36±0.91^{ab}
Mentha pulegium	4.43±1.46^{ab}
Mentha piperita	1.72±0.3^{c}
Zataria multiflora	2.18±0.46^{bc}

Means±SE, means by the same letters are not significantly different (P>0.05, LSD test)

بحث

در این پژوهش مشخص شد که اسانس‌های ده گونه‌ی گیاهی از خانواده‌ی نعناعیان دارای سمیت تماسی روی بالغین کنه‌ی تارتن‌دولکه‌ای می‌باشند، هم چنین تمامی اسانس‌های به کار برده شده در این آزمایش باعث ایجاد بیش از ۷۰ درصد مرگ و میر در کنه‌ها ی مذکور شدند. در غلظت ۴۰۰ پی پی ام دو اسانس آویشن شیرازی و نعناع فلفلی تلفاتی بیش از ۵۰ درصد ایجاد کردند، این در حالی است که سایر اسانس‌های به کار برده شده تلفاتی کم تر از ۵۰ درصد ایجاد کردند. مطالعات انجام شده در زمینه ی اثر اسانس‌های گیاهی روی کنه‌ی تارتن دولکه ای نشان داده است که این ترکیبات به واسطه‌ی دارا بودن مواد شیمیایی خاص دارای اثرات متفاوتی روی آفات می‌باشند که از آن جمله می‌توان به اثرات کنه‌کشی، حشره‌کشی، دورکنندگی و ضدتغذیه‌ای آن‌ها اشاره کرد. در این پژوهش مشخص شد که اسانس گیاهان *R. officinalis* و *S. sahendica* دارای فعالیت کنه‌کشی هستند و این نتایج با نتایج به دست آمده توسط لابردا و همکاران(Laborda *et al*., 2013) مطابقت دارد. آن ها در پژوهش های خود به بررسی اثرات سمیت تماسی دو اسانس گیاهان *R. officinalis* و *Salvia officinalis* پرداختند. شناسایی ترکیبات تشکیل دهنده‌ی اسانس توسط آنالیز کروماتوگرافی گازی طیف سنجی جرمی[8] نشان داد که عمده ترکیبات دو اسانس ذکر شده شامل Camphor, 1,8-Cineole و α-Pinene می‌باشد و هر دو گیاه دارای سمیت تماسی روی کنه‌ها ی تارتن-دولکه‌ای بوده و باعث کاهش میزان باروری و ظهور لاروهای این کنه می‌شوند هم چنین میزان سمیت اسانس گیاه مریم گلی *S. officinalis* نسبت به اسانس گیاه رزماری بیشتر بود. با این حال در این پژوهش مشخص شد که سمیت اسانس گیاه رزماری *R. officinalis* بیشتر از سمیت اسانس گیاه مریم گلی سهندی *S. sahendica* می-باشد که دلیل این امر می تواند متفاوت بودن ترکیبات اسانس‌های گیاهی و هم چنین متفاوت بودن نوع آزمایش باشد. هم‌چنین دو ترکیب 1,8-Cineole و α-Pinene در اسانس گیاهان آویشن شیرازی و نعناع فلفلی وجود داشتند. در ارتباط با اهمیت ترکیبات شیمیایی اسانس‌های گیاهی که به عنوان آفت‌کش مورد استفاده قرار می‌گیرند می توان به مطالعات تامزیک و سوزکو (Tomczyk and Suszko, 2011) اشاره کرد. در این آزمایش‌ها به بررسی نقش فنول موجود در اسانس گیاه مریم گلی *S. officinalis* روی کنه ی تارتن دولکه ای پرداخته شد. نتایج آزمایش‌ها نشان داد که پس از حذف فنول از اسانس گیاه مذکور سمیت اسانس گیاه مریم گلی به طور چشمگیری کاهش پیدا کرد. بنابراین می‌توان سمیت اسانس گیاه مریم گلی را به فنول موجود در

8-GC-MS analysis

آن نسبت داد. با این حال انجام آزمایش‌های بیشتر برای تأیید نتیجه‌ی فوق توصیه می شود. هم چنین آزمایش‌های انجام شده توسط میراسماعیلی و ایسمان (Miresmailli and Isman., 2006) نشان داد که میزان LC_{50} به دست آمده ناشی از سمیت تماسی اسانس گیاه رزماری *R. officinalis* روی کنه¬ها ی پرورش یافته روی گیاه لوبیا *P. vulgaris* کمتر از میزان LC_{50} به دست آمده برای کنه¬ها ی پرورش یافته روی گیاه گوجه‌فرنگی *Lycopersicon esculentum* می‌باشد که این نشان دهنده ی حساسیت بیشتر کنه‌ها ی پرورش یافته روی گیاه لوبیا است این در حالی است که کنه‌ی شکارگر *Phytoseiulus persimilis* نیز حساسیت کمی نسبت به اسانس مذکور دارد. هم چنین در این آزمایش‌ها مشخص شد که عمده ترکیب تشکیل دهنده‌ی اسانس گیاه رزماری *R. officinalis* ترکیب 1,8-Cineole می‌باشد. در بررسی‌های انجام شده توسط چوی و همکاران (Choi *et al*., 2004) اثر چندین اسانس گیاهی روی مراحل تخم و بالغ کنه‌ی تارتن‌دولکه‌ای و کنه‌ی شکارگر *P. persimilis* مورد بررسی قرار گرفت. دو اسانس از بین اسانس‌های گیاهی استفاده شده در این آزمایش‌ها، اسانس گیاه مریم-گلی *S. officinalis* و اسانس گیاه نعناع فلفلی *Mentha piperita* می باشد. نتایج آزمایش با توجه به نوع اسانس گیاهی، گونه‌ی کنه‌ها ی تحت بررسی قرار گرفته و میزان غلظت به کار برده شده متفاوت بود. به طوری که بیشتر اسانس‌های گیاهی به کار برده‌شده باعث مرگ و میر ۹۰ درصد کنه‌ها ی تارتن شدند، این در حالی است که فقط تعداد اندکی از آن‌ها در غلظت‌های بالا سمیت زیادی روی کنه‌ی شکارگر داشتند. در پژوهش حاضر نیز اسانس گیاه نعناع فلفلی در بالاترین غلظت باعث مرگ و میر ۸۷/۵ درصد از بالغین کنه¬ها ی تارتن دولکه ای شد. هم چنین با توجه به میزان LC_{50} محاسبه شده در این پژوهش، سمیت اسانس گیاه نعناع فلفلی نسبت به دو اسانس رزماری *R. officinalis* و مریم‌گلی سهندی *S. sahendica* بیشتر است. در آزمایش‌های انجام شده در زمینه‌ی بررسی سمیت تماسی و بازدارندگی تخم ریزی اسانس‌های گیاهی توسط روه و همکاران (Roh *et al*., 2011) مشخص شده است که اسانس‌های گیاهی آویشن *T. vulgaris* و گیاه *Santalum austrocaledonicum* در بین اسانس‌های گیاهان دیگر، بیشترین تلفات را روی کنه‌ی تارتن دولکه‌ای ایجاد کردند. هم چنین گیاه *S. austrocaledonicum* سبب بازدارندگی تخم ریزی روی کنه‌ی تارتن دولکه‌ای شد. شناسایی اجزای تشکیل دهنده‌ی دو گیاه آویشن *T. vulgaris* و *S. austrocaledonicum* اسانس مشخص کرد که عمده ترکیبات این دو اسانس به ترتیب Thymol و α-Santalol می باشد. شایان ذکر است که ترکیب عمده‌ی اسانس آویشن شیرازی در این پژوهش ترکیب Thymol می‌باشد. هم چنین بررسی سمیت تدخینی دو اسانس گیاهی *Eucalyptus codonocarpa* و *Eucalyptus dives* از خانواده‌ی Myrtaceae روی بالغین کنه‌ی تارتن دولکه‌ای نشان داده‌است که این اسانس‌ها داری خاصیت کنه‌کشی بوده و اثر کنه‌کشی به واسطه‌ی وجود دو ترکیب Piperitone و Terpinene-4-ol در این اسانس ها می-باشد (Lim *et al*., 2011). ترکیب Piperitone در اسانس گیاه نعناع فلفلی موجود در این پژوهش وجود دارد. مطالعات انجام شده در زمینه‌ی بررسی خاصیت حشره‌کشی و کنه‌کشی گونه های متفاوت جنس Mentha از خانواده ی نعناعیان نشان داده است که گونه‌های مختلف این جنس دارای ترکیبات متفاوتی هستند که خاصیت حشره‌کشی و کنه‌کشی خود را به واسطه ی این ترکیبات اعمال می کنند. به طور مثال گونه‌های متفاوت این جنس دارای مقادیر زیادی Carvone، Piperitone، Terpinene-4-ol، Menthol و β-Caryophyllene بوده و بیشتر گونه‌های این جنس دارای خاصیت کنه‌کشی روی مراحل مختلف زندگی کنه¬ها ی آفت و هم چنین خاصیت دورکنندگی می‌باشند (Kumar *et al*., 2011). هم چنین در آزمایشات بررسی سمیت تماسی، تدخینی و دورکنندگی اسانس گیاه *Piper aduncum* که توسط آراجو و همکاران (Araujo *et al*., 2012) صورت گرفت مشخص شد که اسانس این

گیاه دارای خاصیت کنه‌کشی روی کنه‌ی تارتن‌دولکه‌ای می باشد و با انجام آزمایش‌های متعدد این ویژگی به β-Caryophyllene موجود در اسانس این گیاه نسبت داده شد. هم چنین در پژوهش حاضر در بین اسانس‌های گیاهی مورد استفاده، گونه‌های جنس Mentha دارای اثر کنه‌کشی قابل ملاحظه‌ای هستند و با توجه به اینکه براساس مطالعات کومار و همکاران (Kumar *et al*., 2011) بیشتر گونه-های این جنس حاوی β- Caryophyllene هستند بنابراین می توان خاصیت کنه‌کشی اسانس‌های مذکور را به این ترکیب نسبت داد. شایان ذکر است که در پژوهش حاضر بالاترین درصد مرگ و میر در غلظت ۱۶۰۰ پی پی ام مربوط به اسانس گیاه برازمبل *P. abrotanoides* می - باشد، که تحقیقات چندانی در مورد تأثیرات کنه‌کشی این اسانس انجام نشده است. درمورد گیاه‌سوزی ایجاد شده توسط اسانس‌های گیاهی می‌توان به تحقیقات روه و همکاران (Roh *et al*., 2011) اشاره کرد. محققین مذکور در آزمایش‌های خود به بررسی اثر گیاه‌سوزی اسانس گیاه *S. austrocaledonicum* روی قسمت‌های مختلف گیاه رز *Rosa hybrida* پرداختند و محلول ۰/۱ درصد از اسانس گیاه *S. austrocaledonicum* را روی قسمت‌های مختلف گیاه رز اسپری کردند، پس از ۲۴ ساعت میزان گیاه‌سوزی مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که اسانس مذکور روی گیاه رز *Rosa hybrida* گیاه‌سوزی ایجاد نمی‌کند. هم چنین میراسماعیلی و ایسمان (Miresmailli and Isman., 2006) نیز در پژوهش های خود به عدم گیاه سوزی اسانس گیاه رزماری *R. officinalis* روی گیاه لوبیا *P. vulgaris* و گوجه فرنگی *L.esculentum* اشاره کرده اند. با توجه به این که اسانس-های گیاهی حاوی ترکیباتی با خاصیت حشره‌کشی و کنه-کشی می‌باشند، هم چنین استفاده از آن‌ها باعث آلودگی محیط زیست نمی‌شود و عوامل کنترل بیولوژیک را کم تر تحت تأثیر قرار می‌دهند (Choi *et al*., 2004 and Gonzalez *et al*., 2013)، لذا استفاده از این ترکیبات در کنترل آفات توصیه می‌شود. در این پژوهش نیز مشخص شد اسانس گیاهان به کار برده شده دارای اثرات سمی روی مرحله ی بالغ کنه‌ی تارتن هستند و در غلظت‌های متفاوت درصدهای متفاوتی از مرگ ومیر را روی کنه ایجاد می-کنند. با توجه به گیاه‌سوزی این ترکیبات در غلظت‌های بالا، تلاش برای تهیه‌ی فرمولاسیون‌های مؤثرتر با گیاه‌سوزی کمتر می‌تواند منجر به گسترش کاربرد این ترکیبات در مدیریت آفات گلخانه‌ای شود.

جدول ۴- مهم‌ترین ترکیبات تشکیل دهنده‌ی شناسایی شده‌ی اسانس دو گیاه آویشن شیرازی و نعناع فلفلی به وسیله ی آنالیز GC-MS

Table 4. Main components of *Zataria multiflora* and *Mentha piperita* essential oils by GC-MS (n.d. = not detected)

Compound	RI	*Zataria multiflora*	*Mentha piperita*
α-Pinene	935	2.26	0.54
1-Limonene	948	-	3.29
β-Pinene	977	0.34	0.8
β-Myrcene	991	0.54	0.31
α-Terpinene	1016	0.9	0.19
P-Cymene	1027	6.92	n.d.
1,8-Cineole	1030	0.61	3.74
γ-Terpinene	1056	2.74	0.32
L-Menthone	1057	n.d.	23.37
P-Menthan-3-one	1063	n.d.	5.44
Menthofuran	1065	n.d.	1.9
Neo-Menthol	1069	n.d.	3.78
Menthol	1090	n.d.	36.94
Linalool	1098	1.19	n.d.
Carvone	1127	n.d.	3.81
Piperitone	1135	n.d.	0.75
Trans-Anethole	1165	n.d.	1.26
Pulegone	1208	4.1	n.d.
Carvacrol Methyl Ether	1239	1.3	n.d.
Thymol	1291	35.9	n.d.
Carvacrol	1296	24.57	n.d.
Thymol acetate	1354	1.55	n.d.
Carvacryl acetate	1372	1.49	n.d.
Trans-Caryophyllene	1412	1.55	n.d.

References

Aktar, M. W., Sengupta, D. and Chowdhury, A. 2009. Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards. **Journal of Interdisciplinary Toxicology** 2(1): 1-12.

Alvi, M. N., Ahmad, S. and Rehman, K. 2001. Short communication preparation of menthol crystals from mint (*Mentha arvensis*). **International Journal of Agriculture and Biology** 3(4): 527-528.

Araujo, M. J. C., Camara, C. A. G., Born, F.S., Moraes, M. M. and Badji, M. M. S. 2012. Acaricidal activity and repellency of essential oil from *Piper aduncum* and its components against *Tetranychus urticae*. **Journal of Experimental and Applied Acarology** 57: 139-155.

Attia, S., Grissa, K. L., Lognay, G., Bitume, E., Hance, T. and Mailleux, A. C. 2013. A review of the major biological approaches to control the worldwide pest *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) with special reference to natural pesticides. **Journal of Pest Science** 86(3): 361-386.

Choi, W., Lee, S., Park, H. and Ahn, Y. 2004. Toxicity of plant essential oils to *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Phytoseiulus persimilis* (Acari: Phytoseiidae). **Journal of Economic Entomology** 97(2): 553-558.

Gonzalez, J. O. W., Laumann, R. A., Silveira, S. D., Moraes, M. C. B., Borges, M. and Ferrero, A. A. 2013. Lethal and sublethal effects of four essential oils on the egg parasitoids *Trissolcus basalis*. **Journal of Chemosphere** 92: 608-615.

Kumar, P., Mishra, S., Malik, A. and Satya, S. 2011. Insecticidal properties of Mentha species: A review. **Journal of Industrial Crops and Products** 34: 802-817.

Laborda, R., Manzano, I., Gamon, M., Gavidia, I., Perez-Bermudes, P. and Boluda, R. 2013. Effects of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* essential oils on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Journal of Industrial Crops and Pruducts** 48: 106-110.

Lim, E., Lee, B. H. and Park, C. G. 2011. Fumigant activity of essential oils and their components from *Eucalyptus codonocarpa* and *E. dives* against *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) at three temperatures. **Journal of Applied Entomology** 136: 698-703.

Miresmailli, S. and 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. **Journal of Pest Management Science** 62: 366-371.

Motazedian, N., Ravan, S. and Bandani, A. R. 2012. Toxicity and repellency effects of three essential oils against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). **Journal of Agriculture Science and Technology** 14: 275-284.

Rajendran, S. and Sriranjini, V. 2008. Plant products as fumigants for stored-product insect control. **Journal of Stored Products Research 44:** 126-132.

Roh, H. S., Lim, E. G., Kim, J. and Park, Ch. 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.

Tomczyk, A. and Suszko, M. 2011. The role of phenols in the influence of herbal extracts from *Salvia officinalis* L. and *Matricaria chamomilla* L. on *Tetranychus urticae* Koch. **Journal of Biology Letters** 48: 193-205.

Plant Pests Research
2014- 4(3): 39-49

Evaluation of contact toxicity of ten essential oils from Lamiaceae plants against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae)

M. Kaveh[1], N. Poorjavad[2] and J. Khajehali[*3]
1, 2 and 3. Msc. Student of Agricultural Entomology and Assistant Professors, Department of Plant Protection, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.

(Received: October 29, 2013- Accepted: March 15, 2014)

Abstract

Two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) is an important pest of greenhouse, vegetables and ornamental crops. The mite management is commonly based on the repetitive applications of pesticides, resulting in environmental pollution and resistance in pest population. In recent years, essential oils, plant extracts and plant secondary metabolites have received much attention as pest controlling agents because of their insecticidal, acaricidal, repellent and antifeedant properties. In the present study, contact toxicity of the essential oils from ten Lamiaceae plants were evaluated against adults of *T. urticae*. Bioassays were carried out in 4 concentrations (200, 400, 800 and 1600 ppm). The essential oils were obtained by hydrodistillation using modified Clevenger-type apparatus. Adults' mortality was determined 24 hour after treatment and the LC_{50} values of the essential oils were evaluated. Results showed that the essential oils from *Zataria multiflora* and *Mentha piperita* with LC_{50}=419.44 mg/L and LC_{50}=425.42 mg/L were the most toxic on *T. urticae*. Essential oils from ten Lamiaceae plants showed acaricidal activities in a dose-dependent manner. The tested essential oils had no phytotoxicity at concentrations less than 1600 ppm and low phytotoxicity at 1600 ppm.

Key words: Essential oils, Contact toxicity, Two-spotted spider mite, Acaricide

* Corresponding author: khajeali@cc.iut.ac.ir