اثر کشندگی و دورکنندگی فرمولاسیون اسانس نعناع بر شته جالیز در شرایط گلخانه

مهرناز ریاضی[۱]، جهانگیر خواجه‌علی[۱*]، نفیسه پورجواد[۱] و علی‌رضا بلندنظر[۲]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۹/۳۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۸/۲۶)

چکیده

در سال‌های اخیر، کاربرد اسانس‌های گیاهی مشتق شده از گیاهان معطر، به عنوان حشره‌کش‌های کم‌خطر، به طور قابل توجهی افزایش یافته است. این ترکیبات دارای اثرهای دورکنندگی، حشره‌کشی و کاهش رشد مراحل نابالغ حشرات مختلف می‌باشند. از آنجا که کاربرد اسانس‌های گیاهی در گلخانه‌ها و مزارع به صورت خالص امکان‌پذیر نمی‌باشد، تهیه فرمولاسیون‌های تجاری از این ترکیبات ضروری است. در این مطالعه، اثر حشره‌کشی و دورکنندگی اسانس گیاه نعناع و فرمولاسیون تهیه شده از آن در کنترل شته جالیز (*Aphis gossypii* Glover.)، که از آفات مهم محصولات گلخانه‌ای است، مورد بررسی قرار گرفت. میزان LC_{50} اثر تدخینی اسانس نعناع بر مراحل پوره سن یک، پوره سن سه و بالغ، به ترتیب ۲/۷۰، ۳/۴۱ و ۵/۲۴ میکرولیتر بر لیتر هوا محاسبه شد. فرمولاسیون اسانس نعناع در آزمایش‌های زیست‌سنجی تماسی، با توجه به آزمون مقدماتی، در چهار غلظت (۸۰۰۰، ۱۲۵۰۰، ۱۶۰۰۰ و ۲۵۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان داد که میزان مرگ و میر شته‌های بالغ با کاربرد فرمولاسیون اسانس نعناع، در مقایسه با فرمولاسیون بدون اسانس، در غلظت ۲۵۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر معادل ۸۸/۷ درصد است. درصد دورکنندگی فرمولاسیون اسانس نعناع در غلظت LC_{20} محاسبه شد و معادل ۱۰- درصد بود. این نتایج نشان می‌دهد که فرمولاسیون اسانس نعناع می‌تواند به عنوان جایگزین سموم شیمیایی، در کنترل شته جالیز به صورت تجاری مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: ***Mentha spicata*، حشره‌کش گیاهی، اثر حشره‌کشی، *Aphis gossypii***

مقدمه

شته جالیز (*Aphis gossypii*) یک گونه همه‌چیزخوار (پلی‌فاژ) و همه‌جازی است که به صورت گسترده در مناطق معتدل و گرمسیر انتشار دارد (۳۷). این شته از آفات پنبه، سبزی‌ها و گیاهان زینتی در مزرعه و گلخانه می‌باشد (۸). شته جالیز یکی از مخرب‌ترین شته‌هاست که حداقل به ۶۴ گونه از گیاهان مهم از نظر اقتصادی شامل پنبه و گیاهان مختلف از خانواده کدوئیان (مانند کدوتنبل، خیار، کدوسبز و طالبی) حمله می‌کند. تغذیه شته جالیز از گیاه منجر به کاهش قابل توجه عملکرد و زیان اقتصادی می‌شود. شته جالیز عمدتاً از شیره گیاهی برگ و ساقه تغذیه می‌کند. اما در تراکم‌های زیاد از همه قسمت‌های گیاه، بجز ساختارهای تولید مثلی و ریشه، تغذیه می‌کند (۵). خسارت مستقیم به علت تغذیه از شیره گیاه می‌باشد که باعث خسارت به اپیدرم، اسکلرانشیم و سلول‌های اسفنجی مزوفیل می‌شود (۲۹). خسارت غیرمستقیم شته جالیز از طریق ترشح عسلک و انتقال ویروس می‌باشد. عسلک، مواد غذایی برای رشد قارچ‌ها فراهم می‌کند. بنابراین، سطح برگ سیاه شده و از رسیدن نور خورشید و فعالیت فتوسنتز برگ جلوگیری می‌شود (۱۳).

مهمترین خسارت اقتصادی شته جالیز، توانایی آن در

۱. گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

۲. مرکز تحقیقات گیاهان دارویی شرکت باریج اسانس، کاشان

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: khajeali@cc.iut.ac.ir

انتقال بیش از ۶۰ بیماری ویروسی گیاه است. میزان خسارت این شته در گلخانه‌ها بعد از سفیدبالک گلخانه در مرتبه دوم اهمیت قرار دارد و روی خیار خسارت قابل توجهی ایجاد می‌کند (۲۲). فعالیت شته جالیز در گوجه‌فرنگی، با ظهور برگ‌های اصلی گیاه آغاز می‌شود و در اثر تغذیه پوره‌ها و حشرات کامل، گیاه میزبان ضعیف شده، برگ‌ها زرد و پیچیده می‌شوند و به دلیل کاهش سطح فتوسنتز، میزان عملکرد محصول کاهش می‌یابد. این آفت در انبوهی زیاد می‌تواند حتی سبب خشک شدن کامل بوته‌ها گردد (۲۲).

در دهه‌های اخیر، شته جالیز به تمامی گروه‌های اصلی حشره‌کش‌های سنتز شده مثل ارگانوفسفرها، کاربامات‌ها، ارگانوکلرها و پیرتروئیدها مقاوم شده است (۲۴). از هزاران سال پیش، ترکیبات طبیعی برای مصارف مختلف از جمله غذا، پوشش، آرایش، ساخت پناهگاه و تله، سموم، دارویی و ترکیبات محافظت از محصولات کاربرد داشته‌اند (۷). اسانس‌های گیاهی، روغن‌های فرّاری هستند که دارای ترکیبات آروماتیک قوی می‌باشند و رایحه، طعم یا عطر خاصی را به گیاه می‌دهند. این ترکیبات، محصولات متابولیسم گیاه هستند که عموماً متابولیت‌های ثانویه فرّار گیاه نامیده می‌شوند (۱۵). این روغن‌ها عموماً در دمای اتاق به صورت مایع هستند و به آسانی در دمای اتاق و یا دمای کمی بیشتر، بدون تجزیه شدن، از حالت مایع به گاز تبدیل می‌شوند. اسانس‌های گیاهی زلال، به‌ندرت رنگی و قابل حل در حلال‌های آلی با چگالی کمتر از آب می‌باشند (۱۳). این ترکیبات از موهای غده‌ای و حفره‌های ترشحی دیواره سلولی گیاه ترشح می‌شوند و به صورت قطره‌های مایع در برگ‌ها، ساقه‌ها، پوست درخت، گل‌ها، ریشه‌ها و میوه‌ها وجود دارند. میزان اسانس در اکثر گیاهان یک تا دو درصد است؛ اما در گیاهان مختلف می‌تواند از ۰/۰۱ تا ۱۰ درصد نیز باشد (۱۷).

در طبیعت، اسانس‌های گیاهی، با کاهش جذابیت گیاه، نقش مهمی در حفاظت گیاهان در مقابل حشرات و گیاه‌خواران، باکتری‌ها، ویروس‌ها و قارچ‌ها دارند. آللوکمیکال‌ها متابولیت‌های ثانویه هستند که توسط موجودات زنده، مانند گیاهان تولید، می‌شوند. این ترکیبات دارای اثر تحریک کنندگی یا دورکنندگی بر رشد، سلامت، رفتار و یا بیولوژی جمعیت ارگانیسم‌های مجاور مانند گیاهان، حشرات و میکروب‌ها می‌باشند (۴۰) و تأثیرات گسترده‌ای روی حشرات دارند. این ترکیبات می‌توانند کشنده، دورکننده، بازدارنده یا ضد تغذیه باشند و یا ممکن است مانع هضم غذا شوند. اسانس‌های گیاهی ممکن است دارای اثر تخم‌کشی و لاروکشی باشند. از قرن‌ها پیش، حشره‌کش‌های گیاهی برای مبارزه با آفات استفاده شده‌اند (۱۴). با این وجود، پس از جنگ جهانی دوم، حشره‌کش‌های شیمیایی سنتزی جایگزین گیاهان و ترکیبات آن شده و کاربرد حشره‌کش‌های گیاهی کاهش یافت. بعدها، اثرهای مضر حشره‌کش‌های شیمیایی مشخص شد، که شامل آلودگی محیط‌زیست، باقیمانده سموم در مواد غذایی و مقاومت آفات بود. از آنجا که حشره‌کش‌های گیاهی از نظر زیستی قابل تجزیه بوده و سمیت کمی برای پستانداران دارند، بنابراین علم استفاده از ترکیبات طبیعی در سال‌های اخیر دوباره مورد توجه قرار گرفته است. طبق بررسی‌های انجام شده، بیش از ۱۵۰۰ گونه از گیاهان دارای اثر حشره‌کشی می‌باشند (۱۸). علی‌رغم تلاش‌های تحقیقاتی قابل توجه در بسیاری از آزمایشگاه‌ها در سطح جهان و افزایش مقاله‌های علمی در رابطه با خاصیت آفت‌کشی اسانس‌های گیاهی و ترکیبات خالص شده از آنها، متأسفانه تعداد اندکی از آفات محصولات کشاورزی بر پایه اسانس‌های گیاهی کنترل می‌شود. از آنجا که کاربرد اسانس‌های گیاهی در گلخانه‌ها و مزارع به صورت خالص امکان‌پذیر نمی‌باشد، بنابراین نیاز به تهیه فرمولاسیون‌های تجاری این ترکیبات می‌باشد (۱۶).

نعناع (*Mentha spicata* Linn) از زمان‌های گذشته، به علت خواص دارویی، معروف‌ترین گیاه بوده است. نعناع گیاهی علفی و چندساله بوده و دارای ساقه‌های چهارگوش می‌باشد که به واسطه وجود آنتوسیانین به رنگ بنفش هستند. طول ساقه متفاوت بوده و به شرایط اقلیمی محل رویش گیاه

بستگی دارد و بین ۳۰ تا ۱۰۰ سانتی‌متر است. برگ‌ها بلند، به طول ۳-۹ و عرض ۱-۳ سانتی‌متر، بیضی شکل، پهن، در کناره‌ها دندانه‌دار و به رنگ سبز تیره مشاهده می‌شوند. گل‌های نعناع، بنفش روشن و به صورت خوشه‌های مجتمع روی چرخه‌هایی قرار دارند که هر چرخه مرکب از ۶ تا ۷ گل است. عمر گل‌ها بسیار کوتاه بوده و مدت کمی پس از تشکیل از گیاه جدا می‌شوند. میوه کپسولی، کوچک و به رنگ قرمز تیره است. دوره‌ی رویشی نعناع (از بدو رویش تا مرحله گل‌دهی)، ۸۰ تا ۱۰۰ روز به طول می‌انجامد (۱). هزاران سال پیش در مصر، یونان و روم، از اسانس گیاه نعناع در عطرها، طعم دهنده‌های غذا، دئودورانت‌ها و داروسازی استفاده می‌شده است (۴). در قرون وسطی، از پودر برگ‌های نعناع برای سفید کردن دندان استفاده می‌شده است (۱۱). در کنار خواص دارویی گیاه نعناع، از آن به‌عنوان حشره‌کش روی مورچه‌ها، مگس‌ها، زنبورها و سوسری‌ها استفاده می‌شده است. کاربرد این گیاه به عنوان دورکننده حشرات نیز توسعه یافته است. علاوه بر این، روغن گیاه نعناع و ترکیبات آن دارای خواص ضدمیکروبی و ضدقارچی نیز می‌باشد. تاکنون مطالعات زیادی از کاربرد این گیاه روی آفات انباری انجام گرفته است (۱۸).

هدف از تحقیق حاضر، بررسی سمیت اسانس گیاه نعناع روی شته جالیز بوده است. همچنین، اثر کشندگی و دورکنندگی فرمولاسیون تهیه شده از اسانس گیاه نعناع بر شته جالیز به‌منظور تجاری‌سازی این اسانس در کنترل آفات، مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

اسانس‌گیری از گیاه نعناع

قسمت‌های مختلف گیاه نعناع شامل برگ، ساقه و گل (اندام هوایی) در دمای اتاق به مدت سه روز خشک شدند. سپس، گیاه خشک شده آسیاب شد و ذراتی که از الک با مش ۲۰ عبور کردند برای اسانس‌گیری استفاده شدند. برای اسانس‌گیری، از دستگاه اسانس‌گیر شیشه‌ای (کلونجر) و روش تقطیر با آب استفاده شد. در هر بار اسانس‌گیری، ۱۰۰ گرم از پودر گیاه خرد شده در بالون یک لیتری ریخته و به آن آب مقطر اضافه شد تا دو سوم دستگاه پر شد. پس از ۴ ساعت، اسانس حاصل جمع آوری و با استفاده از یک گرم سولفات سدیم آبگیری انجام شد.

تهیه فرمولاسیون از اسانس نعناع

اسانس نعناع طبق روش زیر فرموله شد: اسانس: ۱۰٪ وزنی حجمی، امولسیفایر (۲۵): ۴٪ وزنی حجمی، عامل چسباننده (PVP) (۲۸): ۳٪ وزنی حجمی و الکل ۹۶ درجه: تا رسیدن به ۱۰۰٪ حجم. ابتدا عامل چسباننده در ۵۰ سی‌سی الکل ۹۶ درجه حل شد. سپس، امولسیفایر و اسانس مورد نظر اضافه شد. در نهایت، محلول با الکل ۹۶ درجه به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. غلظت‌های ۸۰۰۰، ۱۲۵۰۰، ۱۶۰۰۰ و ۲۵۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر با رقیق کردن ۱۲، ۸، ۶ و ۴ برابر فرمولاسیون ۱۰٪ اسانس نعناع با آب مقطر تهیه شد.

آنالیز اسانس نعناع

نمونه‌های اسانس به‌دست آمده از گیاه به وسیله‌ی دستگاه کروماتوگراف تلفیق شده با طیف‌سنج جرمی (مدل HP-5973 ساخت شرکت Agilent) دارای ستون مویین HP-5MS با فاز ساکن متیل فنیل سیلوکسان ۵٪ (طول ۳۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر، ضخامت لایه‌ی ساکن ۰/۲۵ میکرومتر) و انرژی یونیزاسیون ۷۰ الکترون ولت جهت شناسایی کیفی اجزا، تجزیه شدند. برنامه‌ریزی دمایی چنین بود: دمای ابتدایی آون ۶۰ درجه سلسیوس بود. دما در هر دقیقه ۳ درجه افزایش یافت تا به ۲۴۶ درجه سلسیوس رسید و به مدت ۱۰ دقیقه در این دما نگه داشته شد. در دستگاه مورد استفاده در انتهای ستون، یک تقسیم‌کننده قرار دارد که خروجی ستون را به دو قسمت تقسیم می‌کند، که یک قسمت وارد طیف‌سنج جرمی شده و بخش دوم وارد آشکارساز FID می‌گردد. بنابراین، به طور همزمان طیف

FID و TIC نمونه‌ها تعیین گردید. دمای تمامی محفظه‌های تزریق و ورودی آشکارساز FID و ورودی طیف‌سنج جرمی ۲۵۰ درجه سلسیوس تنظیم گردید. مقدار ۰/۱ میکرولیتر نمونه خالص با سیستم تزریق split با نسبت ۱ به ۱۰ برای تجزیه مورد استفاده قرار گرفت. گاز حامل هلیم با سرعت جریان ثابت ۱/۵ میلی‌لیتر در دقیقه در طول تجزیه مورد استفاده قرار گرفت (۳۰).

کشت خیار

گیاه خیار (*Cucumis sativus*) جهت پرورش شته جالیز و تهیه دیسک‌های برگی برای انجام آزمایش‌ها در گلخانه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان در گلدان‌های حاوی خاک و پیت ماس و پرلیت (دو سوم خاک و یک سوم پیت ماس و پرلیت) کاشته شد. سپس، گلدان‌ها به زیر داربست توری منتقل شدند تا از انتقال هر گونه آلودگی ممانعت شود. گلدان‌ها در شرایط گلخانه با دمای ۵±۲۵ درجه سلسیوس و رطوبت نسبی ۲۰±۵۰ درصد نگهداری شدند. هر روز آبیاری صورت گرفت. یک ماه بعد از کاشت، از گیاه برای پرورش شته و از برگ‌ها جهت آزمایش‌های زیست‌سنجی استفاده شد.

پرورش شته جالیز

برای ایجاد جمعیت اولیه شته، برگ‌های خیار آلوده به شته جالیز از پردیس منابع طبیعی دانشگاه تهران تهیه شد. شته‌ها به گلدان‌های خیار منتقل شدند. گلدان‌ها در قفس با پوشش توری قرار داده شدند و در گلخانه با دمای ۵±۲۵ درجه سلسیوس، رطوبت نسبی ۵±۵۰٪ و دوره‌ی نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند تا کلنی به حد قابل قبولی رسید. برای حفظ جمعیت شته و داشتن جمعیت زیاد، هر سه روز یک‌بار چند گیاه سالم وارد کلنی شته در قفس شد.

آزمایش‌های زیست‌سنجی

تمامی آزمایش‌های زیست‌سنجی در دمای ۱±۲۵ °C، رطوبت نسبی ۵±۶۰ درصد و فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انجام شد.

بررسی سمیت تدخینی

برای زیست‌سنجی تدخینی، از روش تریپاتی و همکاران (۳۶) با کمی تغییر استفاده شد. بررسی سمیت تدخینی اسانس گیاه نعناع روی مراحل بالغ، پوره سن یک و پوره سن سه انجام گرفت. برای انجام آزمایش‌ها از ظروف شیشه‌ای ۷۰۰ میلی‌لیتری و ظروف پلاستیکی به قطر ۶ سانتی‌متر استفاده شد. برگ‌ها روی لایه نازکی از آگار ۱/۵ درصد در پتری قرار داده شدند. ده عدد شته هم‌سن (بالغ/پوره) توسط قلم‌مو به برگ‌ها انتقال داده شد. آزمایش‌ها در چهار تکرار انجام شد. سپس، روی پتری‌ها با توری ظریفی پوشانده شد تا از برخورد احتمالی حشرات با اسانس جلوگیری شود. پتری‌ها به قسمت داخلی درب شیشه‌های ۷۰۰ گرمی چسبانده شد. میزان مشخصی از اسانس (برای حشره بالغ غلظت‌های ۱/۷۶، ۳/۸۲، ۶/۴۷، ۸/۸ و ۱۱/۱۷ میکرولیتر بر لیتر هوا، برای پوره سن سه غلظت‌های ۱/۴، ۲/۲، ۳/۳۸، ۵/۵۸ و ۸/۸۲ میکرولیتر بر لیتر هوا و برای پوره سن یک غلظت‌های ۱/۴، ۲/۰۵، ۲/۷۹، ۴/۱۱ و ۵/۸۸ میکرولیتر بر لیتر هوا) توسط پیپت روی تکه‌ای پنبه قرار داده شد و در کف ظروف شیشه‌ای تعبیه شد. تیمار شاهد شامل شرایط مشابه، اما بدون کاربرد اسانس بود. جهت جلوگیری از خروج بخار اسانس به بیرون، اطراف درپوش با نوار پارافیلم محکم بسته شد. در آزمایش‌های مقدماتی، تفاوتی در میزان مرگ و میر پس از ۲۴ و ۴۸ ساعت مشاهده نشد. بنابراین، زمان مناسب ۲۴ ساعت تعیین شد و مرگ و میر بررسی گردید. ملاک تشخیص حشرات مرده این بود که اگر شاخک‌ها و پاها به وسیله سوزن تحریک می‌شد، هیچ عکس‌العملی دیده نمی‌شد.

بررسی سمیت تماسی فرمولاسیون

سمیت تماسی فرمولاسیون اسانس نعناع روی شته بالغ از روش

کوپا و همکاران (۶)، با کمی تغییر، تعیین شد. فرمولاسیون اسانس نعناع در چهار غلظت (۸۰۰۰، ۱۲۵۰۰، ۱۶۰۰۰ و ۲۵۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) مورد استفاده قرار گرفت. ظروف آزمایش شامل ظروف پلاستیکی به قطر ۶ سانتی‌متر بود. دیسک‌های برگ روی لایه نازکی از آگار ۱/۵ درصد داخل ظروف پلاستیکی قرار داده شد. تعداد ۱۰ عدد شته بالغ هم‌سن توسط قلم‌مو به پتری‌ها منتقل شد. مقدار ۴/۸ میلی‌گرم بر سانتی‌متر مربع فرمولاسیون توسط سم‌پاش دستی روی برگ‌ها و شته‌ها اسپری شد. واسنجی با پاشش ۲۰ مرتبه فرمولاسیون روی دیسک دایره‌ای به مساحت ۷۰/۸۴ سانتی‌متر مربع و اندازه‌گیری دقیق میزان پاشش در هر مرتبه تعیین شد. جهت تهویه، روی درب پتری یک سوراخ ایجاد شد و با یک توری نازک پوشانده شد تا از فرار شته‌ها جلوگیری شود. پس از خشک شدن برگ‌ها، درب پتری‌ها قرار داده شد. آزمایش‌ها در چهار تکرار انجام شد. تلفات پس از گذشت ۲۴ ساعت در هر ظرف شمارش شد.

بررسی اثر دورکنندگی فرمولاسیون

بررسی اثر دورکنندگی فرمولاسیون اسانس گیاه نعناع روی شته بالغ به روش کوپا و همکاران (۶)، با کمی تغییر، به صورت انتخابی انجام شد. دیسک‌های برگی به قطر ۹ سانتی‌متر تهیه شد. نصف برگ با فرمولاسیون دارای اسانس در غلظت LC_{20} و نصف دیگر برگ با فرمولاسیون بدون اسانس (شاهد) تیمار شد. دیسک‌های برگی به مدت یک ساعت در معرض هوا خشک شده و سپس روی لایه نازکی از آگار ۱/۵ درصد در پتری‌های ۹ سانتی‌متری قرار داده شدند. ده شته بالغ بی‌بال به وسیله قلم‌مو در مرکز پتری قرار داده و سپس درب پتری بسته شد. جهت ایجاد تهویه، روی درب پتری یک سوراخ ایجاد شد. سوراخ به وسیله توری نازک پوشانده شد تا از فرار شته‌ها جلوگیری شود. پس از ۲۴ ساعت، تعداد شته‌های روی هر نیمه برگ شمارش شد. آزمایش‌ها در چهار تکرار انجام شد. درصد دورکنندگی با استفاده از فرمول زیر به‌دست آمد (۶):

$$P_R = [(N_C - N_T)/(N_C + N_T)] \times ۱۰۰ \quad (۱)$$

که P_R درصد دورکنندگی، N_C تعداد حشرات در نیمه شاهد و N_T تعداد حشرات در نیمه تیمار می‌باشد. مقادیر مثبت نشان‌دهنده دورکنندگی و مقادیر منفی بیانگر خاصیت جذب‌کنندگی اسانس است.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

داده‌ها با استفاده از آنالیز پروبیت نرم‌افزار SAS 9.0 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای مقایسه میانگین‌ها از روش LSD در سطح احتمال ۵٪ و با استفاده از طرح کاملاً تصادفی استفاده شد. قبل از تجزیه آماری، برای تثبیت واریانس، داده‌های درصد مرگ و میر با تبدیل شدن به Arcsin√x (تبدیل زاویه‌ای) نرمال شدند.

نتایج

ترکیب شیمیایی اسانس نعناع

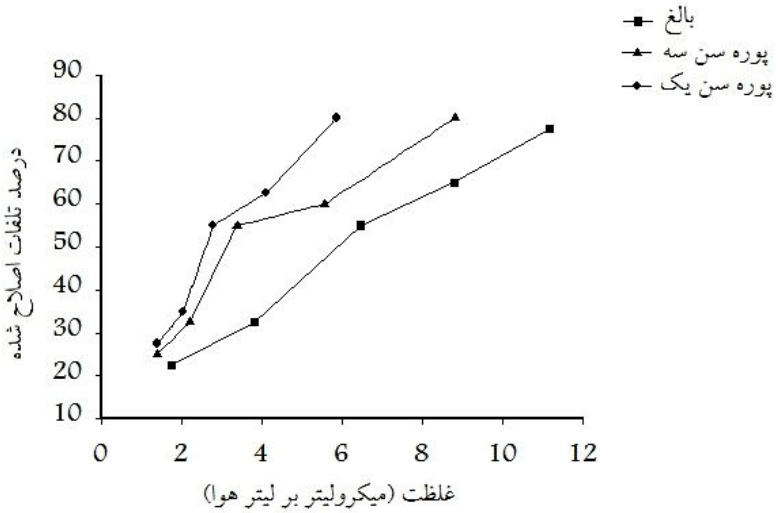
از آنالیز GC-Mass اسانس گیاه نعناع، ۱۵ ترکیب شناسایی شد (جدول ۱). اصلی‌ترین ترکیبات شیمیایی این اسانس Carvone، 1,8-Cineole+Limonene و β-Caryophyllene به ترتیب به میزان ۵۵، ۱۲/۷۳ و ۷/۰۳ شناسایی شد.

بررسی سمیت تدخینی

نتایج حاصل از اثر تدخینی غلظت‌های مختلف اسانس بر میزان مرگ و میر سنین مختلف شته نشان داد که با افزایش غلظت، میزان مرگ و میر نیز افزایش می‌یابد (شکل ۱). همچنین، با افزایش سن شته، میزان مقاومت نسبت به اسانس افزایش یافته است (شکل ۱). اسانس نعناع به ترتیب روی مراحل پوره سن یک، پوره سن سه و بالغ در غلظت‌های ۵/۸۸، ۸/۸۲ و ۱۱/۱۷ میکرولیتر بر لیتر هوا، مرگ و میر معادل ۸۰٪ روی پوره سن یک، ۸۰٪ روی پوره سن سه و ۷۵٪ روی شته بالغ ایجاد کرده است (شکل ۱). براساس نتایج به دست آمده، میزان LC_{50} برای پوره سن یک ۲/۷۰ میکرولیتر بر لیتر هوا، پوره سن سه ۳/۴۱

جدول ۱. ترکیبات شیمیایی شناسایی شده اسانس گیاه نعناع *Mentha spicata*.

نام ترکیب	شاخص بازداری	درصد
Sabinene	۹۷۳	۰/۳۸
β-pinene	۹۷۶	۰/۵۸
Myrcene	۹۸۳	۱/۰۵
1,8-Cineole+Limonene	۱۰۲۴	۱۲/۷۳
Dihydrocarvone	۱۱۷۹	۰/۹۸
Carvone	۱۲۲۱	۵۵
Piperitenone	۱۲۹۷	۱/۳۵
Piperotenone oxide	۱۳۴۳	۴/۶۶
β-Elemene	۱۳۹۰	۲/۳۱
Longifollene	۱۳۹۳	۰/۶۵
β-Caryophyllene	۱۴۲۵	۷/۰۳
β-Farnesene	۱۴۴۷	۰/۴
Germacrene D	۱۴۶۹	۰/۴۳
Germacrene B	۱۴۹۷	۱/۹۷
α-Farnesene	۱۵۷۳	۰/۵۹



شکل ۱. اثر تدخینی غلظت‌های مختلف اسانس گیاه نعناع بر مرگ و میر بالغ، پوره سن سه و پوره سن یک شته جالیز.

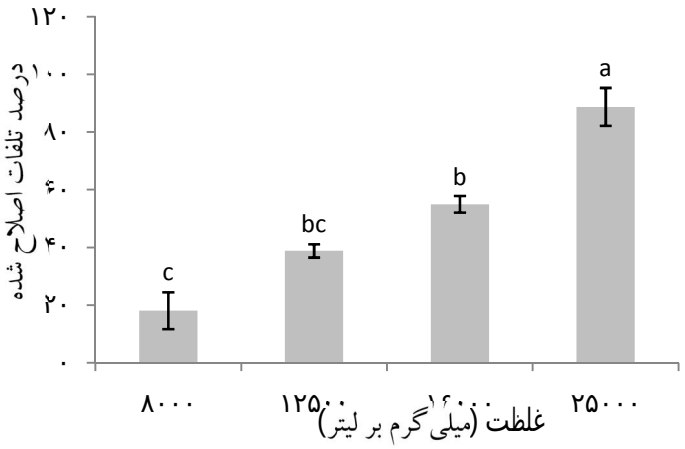
میکرولیتر بر لیتر هوا و شته‌های بالغ ۵/۲۴ میکرولیتر بر لیتر هوا می‌باشد. با توجه به همپوشانی حد بالا و پایین پوره سن سه و پوره سن یک، تفاوت معنی‌داری بین دُز کشنده ۵۰٪ وجود ندارد (جدول ۲).

بررسی سمیت تماسی فرمولاسیون

نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر تماسی غلظت‌های مختلف فرمولاسیون اسانس گیاه نعناع بر میزان مرگ و میر شته بالغ

جدول ۲. مقادیر LC_{50} محاسبه شده اثر تدخینی اسانس گیاه نعناع بر مراحل بالغ، پوره سن سه و پوره سن یک شته جالیز.

مرحله مورد آزمایش	تعداد	LC_{50} (µl/L air)	حدود اطمینان	χ^2	درجه آزادی	شیب خط ±SE
بالغ	۲۰۰	۵/۲۴	(۴/۰۹–۶/۶۶)	۳/۹۳	۱۸	۱/۸۵±۰/۳۳
پوره سن سه	۲۰۰	۳/۴۱	(۲/۶۷–۴/۳۴)	۳/۷۸	۱۸	۱/۸۵±۰/۳۴
پوره سن یک	۲۰۰	۲/۷۰	(۲/۲۰–۳/۲۷)	۴/۴۳	۱۸	۲/۲۹±۰/۴۳



شکل ۲. نمودار اثر تماسی غلظت‌های مختلف فرمولاسیون اسانس گیاه نعناع بر مرگ و میر بالغین شته جالیز.
حروف مشابه ستون‌ها نشان‌دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار است (آزمون LSD، $p<۰/۰۵$).

جدول ۳. مقدار LC_{50} محاسبه شده اثر تماسی اسانس گیاه نعناع بر مرحله بالغ شته جالیز.

مرحله مورد آزمایش	تعداد	LC50 (mg/L)	حدود اطمینان	χ^2	درجه آزادی	شیب خط ±SE
بالغ	۲۰۰	۱۴۰۳۳	۱۲۱۳۰–۱۶۰۴۶	۶/۴۶	۱۴	۴/۱۴±۰/۷۶

نشان داد که بین تیمارهای مختلف اختلاف معنی‌داری وجود دارد. با افزایش غلظت، مرگ و میر نیز افزایش می‌یابد (شکل ۲). میزان مرگ و میر در غلظت ۲۵۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر معادل ۸۸/۷ درصد بود. میزان LC_{50} محاسبه شده ۱۴۰۳۳ میلی‌گرم بر لیتر بود (جدول ۳).

بررسی اثر دورکنندگی فرمولاسیون

نتایج حاصل از بررسی اثر دورکنندگی فرمولاسیون اسانس گیاه نعناع بر بالغین شته جالیز نشان داد که در غلظت ۸۷۹۶ میلی‌گرم بر لیتر، دورکنندگی معادل ۱۰– درصد بوده است.

بحث

با توجه به آنالیز GC-MS در این پژوهش، مشخص شد که بیشتر ترکیبات فرار شناسایی شده در اسانس‌های گیاهی، مونوترپن بوده و دارای قابلیت حشره‌کشی، سمیت تنفسی، دورکنندگی و ضدتغذیه‌ای برای حشرات هستند. در نتیجه،

ترکیبات مونوترپنی جایگزین‌های مناسبی برای حشره‌کش‌های شیمیایی بوده و با خواص حشره‌کشی، کمترین خطر را برای سلامت انسان و محیط‌زیست دارند. سوکوویچ و همکاران (۳۲) نیز اصلی‌ترین ترکیبات اسانس گیاه نعناع را Carvone (۴۹/۵٪)، Limonene (۵/۸٪)، 1,8-Cineole (۳٪) و β-Caryophyllene (۰/۷٪) شناسایی کردند. یونس و همکاران (۳۸) نیز عمده ترکیبات اسانس گیاه نعناع را Carvone (۷۸/۹٪)، Limonene (۸/۸٪) و 1,8-Cineole (۲/۶٪) تعیین کردند. نتایج به‌دست آمده توسط محققین ذکر شده با نتایج به دست آمده در این پژوهش مطابقت دارد.

در این پژوهش، اثر تدخینی اسانس گیاه نعناع بر شته جالیز مورد بررسی قرار گرفت. میزان سمیت با توجه به مرحله زندگی حشره متفاوت بود و با افزایش غلظت، مرگ و میر نیز افزایش یافت. آزمایش‌های انجام شده روی سنین مختلف شته جالیز نشان داد که با توجه به مقادیر LC_{50} شته بالغ، متحمل‌ترین مرحله در برابر اسانس‌های گیاهی می‌باشد. چون با کاربرد غلظت‌های بسیار زیاد از اسانس نعناع (نسبت به غلظت‌های استفاده شده برای مراحل دیگر) مرگ و میر مناسب به دست آمد. آزمایش‌های مختلفی در رابطه با بررسی سمیت اسانس گیاهان مختلف روی شته‌ها صورت گرفته است. در تحقیقی، پس از کاربرد اسانس اکالیپتوس روی شته *Aulacorthum solani* در غلظت ۰/۱۰ درصد، پس از ۷۲ ساعت، ۶۸/۶۹ درصد مرگ و میر مشاهده شد (۱۰). در تحقیق حاضر، اسانس نعناع در غلظت ۱۱/۱۷ میکرولیتر بر لیتر هوا روی شته بالغ، پس از ۲۴ ساعت، ۷۵ درصد مرگ و میر ایجاد کرد. زاپاتا و همکاران (۳۹) اثر اسانس‌های برگ و پوست گیاه *Laurelia sempervirens* و گیاه *Drimys winteri* را روی شته *Acyrthosiphon pisum* آزمایش کردند. طبق نتایجی که به‌دست آوردند، در غلظت ۶۴ میکرولیتر بر لیتر هوا پس از ۲۴ ساعت، اسانس برگ و پوست گیاه *L. sempervirens* به صورت تدخینی باعث ۱۰۰ درصد مرگ و میر و اسانس برگ و پوست گیاه *D. winteri* به ترتیب منجر به مرگ ۶۸ و ۶۳ درصد شته‌ها شد. در تحقیق حاضر، اسانس نعناع، در مقایسه با مطالعه زاپاتا و همکاران (۳۹)، در غلظت کمتری مرگ و میر مناسب روی شته جالیز ایجاد کرد. تاکنون اثر اسانس نعناع بر شته‌ها مورد بررسی قرار نگرفته است. اما مطالعات مختلفی در رابطه با بررسی سمیت اسانس گیاهان خانواده نعناعیان روی حشرات مختلف صورت گرفته است. بررسی‌های لی و همکاران (۲۱) نشان داد که LC_{50} زیست‌سنجی کاربرد اسانس گیاه نعناع به صورت تدخینی روی *Tribolium castaneum* معادل ۳۵/۶ میکرولیتر بر لیتر هوا بوده است. آزمایش‌های پاولا (۲۷) نشان داد که LC_{50} کاربرد اسانس گیاه نعناع به صورت تدخینی روی لارو *Spodoptera littoralis* معادل ۴۶/۲ میکرولیتر بر لیتر هوا بوده است.

در تحقیق حاضر، اثر تماسی اسانس نعناع بر شته جالیز مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به نتایج، با افزایش غلظت، مرگ و میر نیز افزایش یافت. مرگ و میر معادل ۸۸/۷۵ درصد در غلظت ۲۵۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد. در کمترین غلظت، میزان مرگ‌ومیر ۱۸/۵ درصد بود. اثر غلظت اسانس در سمیت تماسی در تحقیقات مختلف نیز نشان داده شده است. از جمله، سمیت تماسی اسانس اکلیل کوهی و *Schinus areira* بر شته *Metopolophium dirhodum* (۶)، سمیت تماسی اسانس‌های پونه، نعناع فلفلی، رازیانه و خیار بر شته *Lipaphis pseudobrassicae* (۳۱) و سمیت تماسی اسانس‌های اسطوخودوس و سنبل هندی بر شته *Hyadaphis foeniculi* (۲) که با افزایش غلظت اسانس، مرگ و میر شته‌ها نیز افزایش یافت. سمیت اسانس نعناع به صورت تماسی روی حشرات مختلف بررسی شده است. پاولا و همکاران (۲۷) اثر تماسی اسانس گیاه نعناع را بر بالغین *Musca domesticae* مورد بررسی قرار دادند. طبق نتایج به دست آمده، میزان LC_{50} پس از ۲۴ ساعت معادل ۲۱ میلی‌گرم به ازای هر حشره بالغ بوده است. فرانزیوس و همکاران (۹) اثر تماسی فرمولاسیون اسانس گیاه نعناع را بر لارو *Drosophila melanogaster* مورد بررسی قرار دادند. طبق نتایج به‌دست آمده، میزان LC_{50} پس از ۱۸

ساعت معادل ۱/۱۲ میکرولیتر بوده است. مطالعات پاولا (۲۶) در رابطه با اثر تماسی فرمولاسیون اسانس نعناع روی لاروهای *Spodoptera littoralis* نشان داد که LC_{50} این ترکیب پس از ۲۴ ساعت معادل ۰/۰۹۲ میکرولیتر به ازای هر لارو بوده است.

مطالعات صورت گرفته نشان می‌دهد که اسانس‌های گیاهی به علت اجزای سازنده‌شان دارای سمیت قابل توجهی روی بسیاری از آفات می‌باشند (۲۱). در آنالیز شیمیایی اسانس نعناع در مطالعه اخیر، مشخص شد که اصلی‌ترین ترکیبات Carvone، 1,8-Cineole+Limonene و β-Caryophyllene بودند (جدول ۱). آثار مختلف این ترکیبات روی حشرات توسط محققین مختلف بررسی و تأیید شده است (۲۱ و ۲۲). لی و همکاران (۱۹) اثر تدخینی ترکیب Carvone را بر *Tribolium castaneum* بررسی کردند. میزان LC_{50} برابر ۱۰۰ میکرولیتر بر لیتر هوا تعیین شد. همچنین، ترکیب (+)-Carvone سمیت تدخینی زیادی در غلظت ۵۰ میکروگرمبرمیلی‌لیتر هوا روی *Musca domesticate* (۱۰۰٪ مرگ و میر)، *Blatela germanica* (۸۰٪ مرگ ومیر)، *Tribolium castaneum* (۵۰٪ مرگ و میر) و *Oryzaphilus surinamensis* (۱۰۰٪ مرگ و میر) نشان داد (۲۰). در پژوهشی، اثر تدخینی ترکیب Limonene روی *T. castaneum* بررسی شد و میزان LC_{50} معادل ۲۴/۵ میکرولیتر بر لیتر هوا محاسبه گردید (۲۱). استاموپولوس و همکاران (۳۳) اثر تدخینی ترکیب 1,8-Cineole را روی مراحل تخم، لارو سن سه، لارو سن پنج، لارو سن هفت، شفیره ماده و بالغ ماده *Tribolium confuseum* بررسی کردند. نتایج نشان داد که میزان LC_{50} به ترتیب معادل ۴۶۶، ۳/۵، ۸/۱، ۱۲/۱، ۹/۱ و ۷ میکرولیتر بر لیتر هوا بود. بنابراین، با استناد به آثار حشره‌کشی مونوترپن‌ها و سایر متابولیت‌های ثانویه موجود در اسانس نعناع، اثر حشره‌کشی آن را می‌توان به عمده ترکیبات موجود در آن نسبت داد.

آگاروال و همکاران (۳) اثر دورکنندگی ترکیب L-mentole استخراج شده از گیاه نعناع را روی چندین آفت انباری مورد آزمایش قرار دادند. طبق نتایج به دست آمده، میزان دورکنندگی این ترکیب روی حشرات بالغ *Callosobruchus maculatus*، *Tribolum castaneum*، *Sitophilus oryzae* و *Rizoptera dominica* به ترتیب معادل ۱۰۰، ۸۲، ۷۸ و ۷۲ درصد بوده است. طبق گزارش‌های تولوزا و همکاران (۳۵)، میزان دورکنندگی ترکیب Menthone استخراج شده از گیاه نعناع روی *Pediculus humans* capitis معادل ۳۹٪ بوده است. موآواد و البارتی (۲۳) نشان دادند که اسانس گیاه *Fagonia arabica* بر بالغین شته *Aphis punicae* دارای اثر دورکنندگی منفی می‌باشد. دورکنندگی منفی در غلظت‌های ۱/۵، ۲/۵ و ۵ درصد به ترتیب معادل ۲۶/۶۶-، ۱۳/۹۶- و ۵/۲۲- بوده است. سوندوفو و همکاران (۳۴) نشان دادند که ترکیب Germacrene D استخراج شده از اسانس گیاه *Lantana camara* دارای اثر دورکنندگی منفی معادل ۳/۰۳- بر لاروهای سن سه *Plutella xylostella* می‌باشد.

میزان LC_{50} محاسبه شده در مطالعات فوق‌الذکر با میزان محاسبه شده توسط آزمایش حاضر متفاوت بود که می‌تواند به علت متفاوت بودن نحوه انجام زیست‌سنجی و نیز گونه‌های مورد آزمایش باشد. در تمامی بررسی‌های انجام شده، فرمولاسیون اسانس گیاه نعناع بر حشره‌ها مؤثر بوده و مرگ و میر زیادی ایجاد کرده است.

نتیجه‌گیری

حشره‌کش‌های گیاهی دارای اثرهای سوء زیست‌محیطی اندکی نسبت به سموم متداول آفت‌کش هستند و سمیت کمتری برای انسان و پستانداران به دنبال دارند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که اسانس گیاه نعناع و فرمولاسیون تهیه شده از آن به صورت تدخینی و تماسی، اثر کنترلی خوبی روی شته جالیز داشته و می‌تواند جهت کنترل آفات، بخصوص در محیط‌های بسته مانند گلخانه‌ها، مفید باشد. لذا، با انجام تحقیقات بیشتر می‌توان امیدوار بود که در آینده بتوان با استحصال ماده مؤثره گیاه نعناع، امکان به‌کارگیری یک

حشره‌کش گیاهی در مدیریت تلفیقی آفات برای کاهش مصرف سم به‌وجود آید.

منابع مورد استفاده

۱. امید بیگی، ر. ۱۳۸۶. تولید و فرآوری گیاهان دارویی. جلد دوم، انتشارات آستان قدس رضوی.

2. Abramson, C.I., P.A. Wanderley and M.J.A. Wanderley. 2006. Effect of essential oil from Citronella and Alfazema on fennel aphids *Hyadaphis foeniculi* Passerini (Hemiptera: Aphididae) and its predator *Cycloneda sanguinea* L. (Coleoptera: Coccinelidae). Am. J. Environ. Sci. 3: 9-10.
3. Aggarwal, K.K., A.K. Tripathi, A. Ahmad, V. Prajapati, N. Verma and S. Kumar. 2001. Toxicity of l-menthol and its derivative against four storage insects. Int. J. Trop. Insect Sci. 21: 229-235.
4. Baris, O., M. Gulluce, F. Sahin, H. Ozer, H. Kilic, H. Ozkan, M. Sokmen and T. Ozbek. 2006. Biological activities of the essential oil and methanol extract of *Achillea biebersteini* Afan Afan. (Asteraceae*).* Tur. J. Biol. 30: 65-73.
5. Blackman, R. 2004. The simplification of aphid terminology. Eur. J. Entomol. 91: 139-141.
6. Chopa, C.S. and L.R. Descamps. 2012. Composition and biological activity of essential oils against *Metopolophium dirhodum* (Hemiptera: Aphididae) cereal crop pest. Pest Manage. Sci. 68: 1492-1500.
7. Copping, L.G. and S.O. Duke. 2007. Natural products that have been used commercially as crop protection agents. Pest Manage. Sci. 63: 524-554.
8. Deguine, J.P., E. Goze and F. Leclant. 1994. Incidence of early outbreaks of the aphid *Aphis gossypii* Glover in cotton growing in Cameroon. Int. J. Pest Manage. 40: 132-140.
9. Franzios, G., M. Mirotsou , E. Hatziapostolou, J. Kral, Z.G. Scouras and P. Mavragani-Tsipidou. 1997. Insecticidal and genotoxic activities of mint essential oils. J. Agric. Food Chem. 45: 2690-2694.
10. Gorski, R. and M. Tomczak. 2010. Usefulness of natural essential oils in the control of foxglove aphid (*Aulacorthum solani* Kalt.) occurring on eggplant (*Solanum melongena* L.). Ecol. Chem. Eng. 17: 3345-3349.
11. Hajlaoui, H., M. Snoussi, H. Ben Jannet, Z. Mighri and A. Bakhrouf. 2008. Comparison of chemical composition and antimicrobial activities of *Mentha longifolia* L. ssp. *longifolia* essential oil from two Tunisian localities (Gabes and Sidi Bouzid). Ann. Microbiol. 58: 513-520.
12. Hillocks, R.J. and J.H. Brettel. 1992. The association between honeydew and growth of *Cladosporium herbarum* and other fungi on cotton lint. Trop. Sci. 33: 121-129.
13. Isman, M.B. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. Crop Prot. 19: 603-608.
14. Isman, M.B. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Ann. Rev. Entomol. 51: 45-66.
15. Isman, M.B., S. Miresmailli and C. Machia. 2011. Commercial opportunities for pesticides based on plant essential oils in agriculture, industry and consumer products. Phytochem. Rev. 10: 197-204.
16. Khater, H.F. 2012. Prospects of botanical biopesticides in insect pest management. Pharmacologia 3: 641-656.
17. Koul, O., S. Walia and G.S. Dhaliwal. 2008. Essential oils as green pesticides: Potential and constraints. Biopestic. Int. 4: 63-84.
18. Kumar, P., S. Mishra, A. Malik and S. Satya. 2011. Insecticidal properties of *Mentha* species: A review. Indian Crop Prod. 34: 802-817.
19. Lee, S.E., B.H. Lee, W.S. Choi, B.S. Park, J.G. Kim and B.C. Campbell. 2001. Fumigant toxicity of volatile natural products from Korean spices and medicinal plant towards the rice weevil *Sitophilus Oryzae* (L.). Pest Manage. Sci. 57: 548-553.
20. Lee, B.H., S.E. Lee, P. Annis, S. Pratt, B.S. Park and F. Tumaalii. 2002. Fumigant toxicity of essential oils and monoterpenes against the red flour beetle, *Tribolium castaneum* herbst. Asia-Pacific Entomol. 5: 237-240.
21. Lee, S., C.J. Peterson and J.R. Coats. 2003. Fumigation toxicity of monoterpenoids to several stored product insects. J. Stored Prod. Res. 39: 77-85.
22. McKinlay, R.G. 1992. Vegetable Crop Pests. Macmillan Press Ltd.
23. Moawad, S. and A. Al-Barty. 2011. Evaluation of some medicinal and ornamental plant extracts toward pomegranate aphid, *Aphis punicae* (Passerini) under laboratory conditions. Afr. J. Agric. Res. 6: 2425-2429.
24. Moores, G.D., X. Gao, I. Denholm and A.L. Devonshire. 1996. Characterisation of insensitive acetylcholinesterase in insecticide-resistant cotton aphids, *Aphis gossypii* Glover (Homoptera: Aphididae). Pestic. Biochem. Physiol. 56: 102-110.
25. Orafidiya, L.O. and F.A. Oladimeji. 2002. Determination of the required HLB values of some essential oils. Int. J. Pharm. 237: 241-249.

26. Pavela, R. 2005. Insecticidal activity of some essential oils against larvae of *Spodoptera littoralis*. Fitoterapia 76: 691-696.
27. Pavela, R. 2008. Insecticidal properties of several essential oils on the house fly (*Musca domestica* L.). Phytother. Res. 22: 274-278.
28. Rongsriyam, Y., Y. Trongtokit., N. Komalamisra., N. Sinchaipanich., C. Apiwathnasorn and A. Mitrejet. 2006. Formulation of tablets from the crude extract of *Rhinacanthus nasutus* (Thai locat plant) against *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* larvae: A preliminary study. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health 37: 265-271.
29. Rosenheim, J., L. Wilhiot, P. Goodell, E. Grafton-Cardwell and T. Leigh. 1997. Plant compensation, natural biological control, and herbivory by *Aphis gossypii* on pre-reproductive cotton: The anatomy of a non-pest. Entomol. Exp. Appl. 85: 45-63.
30. Safaei-Ghomi, J., A.H. Ebrahimabadi, Z. Djafari-Bidgoli and H. Batooli. 2009. GC/MS analysis and *in vitro* antioxidant activity of essential oil and methanol extracts of *Thymus caramanicus* Jalas and its main constituent carvacrol. Food Chem. 115: 1524-1528.
31. Sampson, B., N. Tabanca, N. Kirimer and B. Demirci. 2005. Insecticidal activity of 23 essential oils and their major compounds against adult Lipaphis pseudobrassicae (Davis) (Aphididae: Homoptera). Pest Manage. Sci. 61: 1122-1128.
32. Soković, M.D., J. Vukojević, P.D. Marin, D.D. Brkić, V. Vajs and L.J. van Griensven. 2009. Chemical composition of essential oils of Thymus and *Mentha* Species and their antifungal activities. Molecules 14: 238-249.
33. Stamopoulos, D.C., P. Damos and G. Karagianidou. 2007. Bioactivity of five monoterpenoid vapours to Tribolium confusum (du Val) (Coleoptera: Tenebrionidae). J. Stored Prod. Res. 43: 571-577.
34. Sundufu, A.J., L. Guangwen and H. Shoushan. 2006. Electrophysiology and behavioural feedback of diamondback moth, *Plutella xylostella* (L.) (Lep., Plutellidae) to volatiles from a non-host plant, *Lantana camara* L. (Verbenaceae var. aculeate). J. Essent. Oil Bear. Pl. 9: 1-17.
35. Toloza, Z., B. Cueto and P. Zerba. 2006. Fumigant and repellent properties of essential oils and component compounds against permethrin-resistant *Pediculus humanus* capitis (Anoplura: Pediculidae) from Argentina. J. Med. Entomol. 43: 889-895.
36. Tripathi, A.K., V. Parjapati, K.K. Aggarwal, S.P.S. Khanuja and S. Kumar. 2000. Repellency and toxicity of oil from *Artemisia annua* to certain stored-product beetles. J. Econ. Entomol. 93: 43-47.
37. Wool, D., D. Hales and P. Sunnucks. 1995. Host plant relationships of *Aphis gossypii* Glover (Hemiptera: Aphididae) in Australia. Aust. J. Entomol. 34: 265-271.
38. Younis, Y.M.H. and S.M. Beshir. 2004. Carvone-rich essential oils from *Mentha longifolia* (L.) Huds. ssp. schimperi Briq. and *Mentha spicata* L. grown in Sudan. J. Essent. Oil Res. 16: 539-54.
39. Zapata, N., L. Lognay and J. Smagghe. 2010. Bioactivity of essential oils from leaves and bark of *Laurelia sempervirens* and *Drimys winteri* against *Acyrthosiphon pisum*. Pest Manage Sci. 66: 1324-1331.
40. Zeng, R.S., A.U. Mallik and S.M. Lou. 2008. Allelopathy in Sustainable Agriculture and Forestry. Springer, New York.