مجله علمی ـ پژوهشی زیست‌شناسی جانوری تجربی
سال یازدهم، شماره دوم، پیاپی چهل و دوم، پاییز ۱۴۰۱ (۶۶-۵۵)

DOI: 10.30473/eab.2023.61827.1857

مقاله پژوهشی:

مطالعه تأثیر کنه‌کشی عصاره میوه خیار تلخ (*Momordica charantia*) روی کنه تارتن دولکه‌ای *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae)

منا یاور[۱]، علی میرشکار[۲*]، عباس خانی[۳]، سارا رامرودی[۳]

۱. کارشناس ارشد، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

۲. استادیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

۳. دانشیار، گروه گیاهپزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

(تاریخ دریافت: ۱٤۰۰/۹/۲ – تاریخ پذیرش: ۱٤۰۱/۱۱/۲۷)

چکیده

کنه تارتن دولکه‌ای *Tetranychus urticae* (Acari:Tetranychidae)، از مهم‌ترین آفات محصولات کشاورزی می‌باشد که دارای زادآوری بالا و توانایی ایجاد مقاومت به آفت‌کش‌های آلی را دارد. با توجه به افزایش آلودگی محیط زیست در اثر مصرف آفت‌کش‌های شیمیایی، کاربرد عصاره‌های گیاهی به‌دلیل تأثیر حشره‌کشی و کنه‌کشی به‌عنوان روشی جایگزین علیه کنه‌های آفت مورد توجه قرار گرفته است. این پژوهش برای تعیین ترکیبات شیمیایی عصاره میوه خیار تلخ و بررسی سمیت عصاره‌های هگزانی و اتانولی آن روی بالغین کنه تارتن دولکه‌ای به‌صورت طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار همراه با شاهد به روش‌های سمیت تنفسی و تماسی و اثر دورکنندگی انجام شد. بعد از ٢٤ ساعت مرگ‌ومیر کنه‌ها بررسی شد. نتایج زیست‌سنجی‌ها نشان داد که با افزایش غلظت عصاره‌های خیار تلخ میزان مرگ‌ومیر کنه تارتن دولکه‌ای و اثر دورکنندگی افزایش یافت. عصاره هگزانی خیار تلخ در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر سانتی‌مترمربع بیش‌ترین تلفات (۷۵/۵٦ درصد) را در سمیت تماسی داشت. عصاره اتانولی خیار تلخ در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر هوا در کنه تارتن دولکه‌ای بیش‌ترین تلفات (۷۹/۸۹ درصد) را در سمیت تنفسی داشت. اثر دورکنندگی پنج ساعت بعد از کاربرد عصاره اتانولی خیار تلخ، با افزایش غلظت از ۲۰۰ میکرولیتر، به میزان ۸۰ درصد افزایش یافت. در عصاره میوه خیار تلخ ١٦ ترکیب مختلف شناسایی شد و مونوترپنوئیدهای لینالول‌اکسید، لیمونن اکسید و ۸- هیدروکسی‌لینالول بیش‌ترین مقدار را داشتند. بنابراین می‌توان عصاره اتانولی خیار تلخ را در غلظت‌های بالا به‌دلیل داشتن مونوترپنوئیدها برای محافظت گیاهان به‌ویژه محصولات زراعی در برابر کنه تارتن دولکه‌ای توصیه کرد.

واژه‌های کلیدی: خیار تلخ، زیست‌سنجی، عصاره اتانولی، کنترل، مونوترپنوئید.

* نویسنده مسئول: علی میرشکار Email: mirshekar@uoz.ac.ir

Study on the Acaricidal Effects of Karala (*Momordica charantia*) Fruit Extract Against *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae)

Mona Yavar[1], Ali Mirshekar[2*], Abbas Khani[3], Sara Ramroodi[3]

1. M.A. in Plant Protection, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, 98613-35856, Iran.
2. Assistant Professor Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, 98613-35856, Iran.
3. Associate Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Zabol, Zabol, 98613-35856, Iran.

(Received: Nov. 23, 2021 - Accepted: Feb. 16, 2023)

Abstract

Two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* (Acari:Tetranychidae), is one of the most important pests in plants, especially crops that it has high reproduction and ability to develop resistance to chemical pesticides. Considering the increasing of environmental pollution due to chemical pesticides, the use of plant extracts has received much attention as an alternative method due to their acaricidal activity. Therefore, this experiment was performed to determine the chemical compounds of *Momordica charantia* fruit extract and toxicity of hexane and ethanolic extracts of this plant on adults of two-spotted spider mite in a completely randomized design with the control in four replications for fumigant and contact toxicities and repellent activity. After 24 hours, the mortality of mites was recorded. The results of bioassays showed that the mortality rate of mites and the repellent effect elevated with increasing the concentration of *M. charantia* extracts. The hexane extract of *M. charantia* at the concentration of 1000 µg/cm^2 had the highest mortality (75.56%) in contact toxicity. Ethanolic extract at the concentration of 1000 µl/l air had the highest mortality (79.89%) of mite in fumigant toxicity. The repellent effect increased to 80%, 5 hours after application of ethanolic extract by increasing the concentration from 200 µl. In *M. charantia* fruit extract, sixteen different compounds were identified in which monoterpenoids, linalool oxide, limonene oxide, and 8-hydroxilinalool, had the highest amount. Therefore, the ethanolic extract of *M. charantia* in high concentrations can be recommended due to its monoterpenoids to protect plants, especially crops, against two-spotted spider mite.

Keywords: Bitter melon, Bioassay, Control, Ethanolic extract, Monoterpenoid.

مقدمه

کنه تارتن دولکه‌ای *Tetranychus urticae* (Acari:Tetranychidae)، یکی از مهم‌ترین آفات مکنده سبزینه در سبزیجات، میوه‌ها، غلات و گیاهان زینتی است. این آفت میزبان بیش از ۱۱۰۰ گونه گیاهی بوده که خسارت آن روی حدود ۱۰۰ گونه گیاهی از نظر اقتصادی دارای اهمیت است (Sabouri *et al*., 2009). با وجود توسعه روش‌های کنترل موفق این کنه آفت، کنه‌کش‌های آلی اصلی‌ترین روش برای پایین نگه‌داشتن جمعیت آن از سطح آسیب اقتصادی است (Wang *et al*., 2018). با این‌حال، این کنه به‌خاطر توانایی در ایجاد پدیده مقاومت سریع به آفت‌کش‌ها به‌دلیل داشتن باروری بالا، زمان تولید کوتاه و درون‌زایی مشهور است و در بین بندپایان بیش‌ترین مقاومت را به سموم شیمیایی دارد (Le Goff *et al*., 2003; Adesanya *et al*., 2021).

آفت‌کش‌های شیمیایی در کنترل آفات مشکلات زیادی برای بشر ایجاد کرده و برای بهداشت و سلامت انسان خطرات جدی دارند (Wakgari & Yigezu, 2018). از این‌رو، توجه پژوهش‌گران به کنترل آفات با مشتقات گیاهی و آسیب کم‌تر به انسان و محیط زیاد شده است (Reichert *et al*., 2019; Farahani *et al*., 2020). گیاهان منبع مهم متابولیت‌های ثانویه می‌باشند و اکثر آن‌ها در پاسخ دفاعی علیه گیاهخواران نقش دارند، بنابراین می‌توانند ترکیبات طبیعی متنوعی را با فعالیت آفت‌کشی فراهم کنند (Ahmed *et al*., 2020). آفت‌کش‌های گیاهی به‌دلیل اثرات مضر کم‌تر بر ارگانیسم غیر هدف، ایمنی برای انسان و قابلیت تجزیه‌زیستی آسان، مهم‌ترین استراتژی در حفاظت گیاهان در برابر آفات هستند (Rincón *et al*., 2019). هم‌چنین می‌توانند تخریب لایه ازن، اثرات عصبی، سرطان‌زا، ایجاد ناهنجاری در جنین و جهش‌زایی بر ارگانیسم غیرهدف را کاهش داده و از ایجاد مقاومت چندگانه در حشرات که در مورد سموم شیمیایی با گذشت زمان اتفاق می‌افتد، جلوگیری کنند (Ngegba *et al*., 2022). بسیاری از اجزای آفت‌کش‌های گیاهی بر انواع آفات تأثیر دارند زیرا ممکن است دفع‌کننده، ضدتغذیه، تخم‌کش، عقیم کننده، جاذب و بازدارنده رشد و تخم‌گذاری باشند (Reichert *et al*., 2019). شناسایی این نوع از آفت‌کش‌های گیاهی، امکان استفاده از آن‌ها را در تلفیق با آفت‌کش‌های شیمیایی فراهم می‌کند. چنین ادغامی باعث تاخیر در مقاومت آفت به آفت‌کش‌ها و افزایش ماندگاری آفت‌کش‌های مؤثر می‌شود (Wakgari & Yigezu, 2018).

در پژوهش‌های زیادی با کاربرد عصاره و اسانس گونه‌های مختلف گیاهی در کنترل کنه‌های آفت، نتایج امیدوارکننده‌ای حاصل شد (Wakgari & Yigezu, 2018; Farahani *et al*., 2020). مطالعاتی در زمینه اثرات کنه‌کشی عصاره اتانولی پونه (Mozaffari *et al*., 2012) و اسانس ۱۰ گونه از گیاهان خانواده نعناعیان (Kaveh *et al*., 2014) روی کنه دولکه‌ای صورت گرفته است. در یک پژوهش آزمایشگاهی اثرات کنه‌کشی اسانس‌های آویشن شیرازی، باریجه و مرزه روی کنه دو نقطه‌ای موردبررسی قرار گرفت که نتایج نشان داد که اسانس آویشن شیرازی به‌طور معنی‌داری نسبت به دو اسانس گیاهی دیگر اثر کشندگی بیش‌تری روی مراحل تخم و بالغ کنه دونقطه‌ای داشته است (Sarraf Muayeri, 2013).

خیار تلخ یا خربزه تلخ (کارلا) با نام علمی *Momordica charantia* L. گیاهی دارویی متعلق به خانواده Cucurbitaceae است. گیاه خیار تلخ بومی مناطق غربی هندوستان و چین است. این گیاه دارای ترکیبات شیمیایی مانند، مومردیوم کارانتین، آسکوربیک‌اسید، گلیکوزیدها و آلکالوییدها می‌باشد. هم‌چنین عصاره اتانولی این گیاه سرشار از آلکالوئید، انواع تانن‌ها، استروئید با منشأ گیاهی، گلیکوزیدها، فلاونوئید و ساپونین است. تری‌ترپن‌ها از دیگر متابولیت‌های ثانویه این گیاه می‌باشد که در عصاره و اسانس آن یافت می‌شود و خواص دورکنندگی و

فعالیت حشره‌کشی آن به اثبات رسیده است (Kumar *et al*., 2011; Wahyutami & Aisyah, 2022).

در مطالعه‌ای مشخص شد که عصاره خیار تلخ مرگ‌ومیر بالا در سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات (*Callosobruchus maculatus* Fab.) دارد (Obembe & Ojo, 2018). با این‌حال، در مورد اثر کنه‌کشی و خاصیت دورکنندگی عصاره اتانولی و هگزانی خیار تلخ و ترکیبات شیمیایی آن گزارشی وجود ندارد. لذا با توجه به خسارت زیاد کنه تارتن دولکه‌ای در گیاهان به‌ویژه محصولات زراعی، این مطالعه با هدف تعیین ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره خیار تلخ، اثر دورکنندگی و سمیت تنفسی و تماسی عصاره خیار تلخ بر کنه تارتن دولکه‌ای انجام شد تا بتوان از آن در تهیه ترکیبات کنه‌کش جدید و کم خطر برای انسان و محیط زیست استفاده کرد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری گیاه خیار تلخ و تهیه عصاره‌های هگزانی و اتانولی

گیاه خیار تلخ از کلکسیون گیاهان دارویی دانشگاه زابل (چاه نیمه) جمع‌آوری شد. میوه خیار تلخ از گیاه جدا و در محل کاملاً تاریک خشک شد و سپس توسط آسیاب برقی کاملاً پودر شد. مقدار ۵۰ گرم از پودر خیار تلخ با ۲۰۰ میلی‌لیتر حلال اتانول ۹۶ درصد و هگزان به‌صورت مجزا و به‌مدت ۲۴ ساعت روی دستگاه شیکر با ۳۵۰ دور در دقیقه عصاره‌گیری شد. پس از محاسبه وزن خشک عصاره گیاهی موجود در ۱ میلی‌لیتر عصاره استخراج شده (در چهار تکرار)، عصاره موردنظر با استفاده از کاغذ صافی واتمن شماره یک، صاف شده و تا زمان استفاده درون ظرف شیشه‌ای تیره در یخچال نگهداری شد (Negahban *et al*., 2007).

پرورش گیاه میزبان و همسان‌سازی کنه تارتن دولکه‌ای

بذور گیاه لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) به‌عنوان میزبان کنه تارتن دولکه‌ای، قبل کاشت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در دمای اتاق خیسانده و در گلدان‌های پلاستیکی (ارتفاع ۱۲ سانتی‌متر و قطر ۱۶ سانتی‌متر) کشت شدند. آبیاری گلدان‌ها روزانه بر حسب نیاز و قبل از خشک‌شدن کامل خاک انجام شد. شرایط اتاقک رشد شامل دمای ۲±۲۷ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵±۵۰ درصد، ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی بود. برای ایجاد آلودگی، کنه تارتن دولکه‌ای از درختان آلوده به کنه آفت در منطقه سیستان جمع‌آوری شد. برای ایجاد یک جمعیت همسن، کنه‌های بالغ را روی برگ‌های گیاه لوبیا (سه هفته پس از جوانه‌زنی بذر) جهت تخم‌ریزی توسط قلم مو کوچک و با کمک دستگاه بینوکولر قرار داده و پس از گذشت ۴۸ ساعت کنه‌های بالغ از برگ‌ها جدا شدند. گیاهان آلوده به تخم‌های کنه به اتاقک رشد با دمای ۲±۲۷ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵±۵۰ درصد، ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند. کنه‌های بالغ و هم‌سن، ۱۲ روز پس از شروع آلوده‌سازی گیاهان (تخم‌ریزی کنه روی سطح برگ) برای آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند (Mosavi *et al*., 2014).

سمیت تماسی

عصاره خیار تلخ با حلال‌های هگزان و اتانول در غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر سانتی‌مترمربع آزمایش شدند. هر واحد آزمایشی شامل یک پتری به قطر ۶ سانتی‌متر بود و غلظت‌های مختلف عصاره توسط سمپلر روی کاغذ صافی کف پتری ریخته شد. در تیمار شاهد، از کاغذ صافی آغشته به اتانول و هگزان بدون عصاره استفاده شد. سپس درون هر پتری ۱۰ عدد کنه ماده بالغ قرار داده شد و درب پتری بسته شد. پتری‌ها در انکوباکتور و در شرایط ذکرشده قرار داده شدند و در نهایت تعداد کنه‌های تلف‌شده بعد از ۲۴ ساعت شمارش گردید (Mozaffari *et al*., 2012).

سمیت تنفسی

عصاره خیار تلخ با حلال‌های هگزان و اتانول هر دو در غلظت‌های ۲۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰، ۶۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر هوا آزمایش شد. غلظت‌های مختلف عصاره روی کاغذ صافی ریخته و جهت پخش یکنواخت عصاره در فضای قوطی (ظروف استوانه‌ای ۷۰ میلی‌لیتری)، کاغذ صافی داخل درپوش ظروف قرار داده شد. در تیمار شاهد از کاغذ صافی آغشته به اتانول و هگزان بدون عصاره استفاده شد. تعداد ۱۰ عدد کنه بالغ دولکه‌ای درون ظرف گذاشته و درب آن بسته شد. اطراف دهانه ظرف با سلفون محکم شد تا بخار عصاره به بیرون نفوذ نکند. ظروف در انکوباکتور و در شرایط اعلام شده تاریکی قرار گرفتند. بعد از ۲۴ ساعت تعداد کنه‌های مرده شمارش شد (Rahman & Schmidt, 1999). در آزمایش‌های ارزیابی سمیت تنفسی و تماسی، قبل از مقایسه میانگین، برای اصلاح درصد تلفات از فرمول آبوت (Abbott, 1925) استفاده شد.

اثر دورکنندگی

بدین منظور از کاغذهای صافی آغشته به غلظت‌های عصاره‌های خیار تلخ استفاده شد. هر کاغذ صافی به دو نیمه مساوی تقسیم شد و هر نیمه به‌طور جداگانه به غلظت‌های مختلف عصاره‌ها آغشته شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه در مقابل هوا خشک شد. نیمه کاغذ صافی آغشته به عصاره با نیمه دیگر (کنترل) توسط چسب نواری از قسمت بریده شده به هم متصل شدند. کنترل فقط با اتانول و هگزان تیمار شد. سپس کاغذ صافی در تشتک پتری با قطر ۶ سانتی‌متر قرار داده شد. غلظت‌ها برای هر دو عصاره اتانولی و هگزانی خیار تلخ ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرولیتر بود. تعداد ۱۰ کنه بالغ را در وسط کاغذ صافی قرار داده و پتری‌ها به انکوباکتور و در شرایط اعلام‌شده منتقل شدند. درصد دورکنندگی در ساعت‌های مختلف بین یک تا پنج ساعت از شروع آزمایش توسط فرمول زیر محاسبه شد (Talukder & Howse, 1995):

$$\text{Repellency (\%)} = 2\ (C - 50)$$

در این فرمول C، درصد کنه‌های موجود روی نیمه کاغذ صافی شاهد و Repellency درصد دورکنندگی می‌باشد.

بررسی ترکیبات تشکیل‌دهنده میوه خیار تلخ

بدین منظور از کروماتوگرافی گازی متصل به طیف‌سنج جرمی (GC-MS) استفاده شد. از دستگاه Agilent مدل ۶۸۹۰ مجهزبه ستون DB-5 به طول ۶۰ متر، قطر داخلی ۰/۲۵میلی‌متر و ضخامت لایه نازک فاز ساکن ۰/۲۵ میکرومتر برای تجزیه و تحلیل استفاده شد. دمای محفظه تزریق ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد، برنامه‌ریزی حرارتی ستون ۲۹۰–۵۰ درجه سانتی‌گراد با افزایش دمای ۵ درجه سانتی‌گراد در دقیقه، آشکارساز با دمای ۲۹۰ درجه سانتی‌گراد و گاز حامل هلیوم (۹۹/۹۹۹ درصد) با جریان ثابت ۰/۱ میلی‌لیتر در دقیقه به‌عنوان بهترین شرایط انتخاب شدند. شناسایی ترکیبات با استفاده از پارامترهای مختلف نظیر زمان بازداری، مطالعه طیف‌های جرمی و مقایسه این طیف‌ها با ترکیبات استاندارد و دانسته‌های موجود در کتابخانه رایانه دستگاه (NIST Ver.2.00, 2008 GC-MS) صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای تعیین غلظت مؤثری که سبب کشندگی ۵۰ درصد کنه تارتن دولکه‌ای شود، کنه‌های زنده و مرده شمارش شدند؛ شمارش کنه‌های مرده با استفاده از استریو میکروسکوپ (لوپ دو چشمی) انجام شد، درصورتی‌که کنه‌ها در اثر تحریک با یک قلم‌موی ظریف قادر به حرکت‌دادن پاها و ضمایم بدن نبودند، مرده محسوب می‌شدند (Miresmailli *et al*., 2006) و از چهار تکرار برای هر عصاره گیاهی در هر غلظت استفاده شد. آزمایش‌ها برای هر عصاره گیاهی به‌صورت طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار برای هر غلظت همراه با تیمار شاهد انجام شد و داده‌ها توسط

نرم‌افزار SPSS 16 تجزیه آماری شدند. محاسبه LC_{50} برای هر عصاره به‌طور جداگانه و با نرم‌افزار SPSS 16 انجام شد. نمودار لگاریتم غلظت- پروبیت مرگ‌ومیر با نرم‌افزار SPSS 16 رسم شد.

نتایج

نتایج سمیت تماسی نشان داد که عصاره هگزانی خیار تلخ با LC_{50} = ۸۶۱/۰۳ در کنه تارتن دولکه‌ای ۲۴ ساعت پس از کاربرد آن بیش‌ترین سمیت و عصاره اتانولی خیار تلخ کم‌ترین سمیت تماسی را در کنه تارتن دولکه‌ای ایجاد کرد (جدول ۱). نمودارهای پروبیت درصد مرگ‌ومیر- لگاریتم غلظت نشان داد که با افزایش غلظت عصاره‌های هگزانی و اتانولی گیاه خیار تلخ میزان مرگ‌ومیر این کنه افزایش یافت. عصاره خیار تلخ با حلال هگزان در غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر سانتی‌مترمربع بیش‌ترین (۷۵/۵۶ درصد) و در غلظت ۱۰۰ میکروگرم بر سانتی‌مترمربع کم‌ترین (۱۵/۱۱ درصد) تلفات را داشت (جدول ۲).

نتایج سمیت تنفسی نشان داد که عصاره هگزانی خیار تلخ با LC_{50}=۳۰۶/۷ برای کنه دولکه‌ای ۲۴ ساعت پس از کاربرد عصاره بیش‌ترین سمیت و عصاره اتانولی خیار تلخ با کم‌ترین سمیت تنفسی را در کنه دولکه‌ای ایجاد کرد (جدول ۳). عصاره اتانولی خیار تلخ در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بر لیتر هوا در کنه دولکه‌ای بیش‌ترین تلفات (۷۹/۸۹ درصد) و عصاره اتانولی در غلظت ۲۰۰ میکرولیتر بر لیتر هوا کم‌ترین تلفات (مقدار ۲۰/۱۱ درصد) داشت (جدول ۴). نمودارهای پروبیت درصد مرگ‌ومیر- لگاریتم غلظت نشان داد که با افزایش غلظت عصاره‌های هگزانی و اتانولی خیار تلخ مقدار مرگ‌ومیر کنه تارتن دولکه‌ای افزایش یافت.

بررسی اثر دورکنندگی عصاره اتانولی خیار تلخ بعد از یک ساعت از شروع آزمایش نشان داد که بین دو غلظت اول و دو غلظت آخر در سطح ۱ درصد، اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. خاصیت دورکنندگی با افزایش غلظت عصاره به تدریج افزایش یافت، به‌طوری که پس از سه ساعت اثر همه غلظت‌ها دورکننده بود (شکل ۱). نتایج حاصل از اثر دورکنندگی عصاره اتانولی خیار تلخ روی کنه تارتن دولکه‌ای پس از پنج ساعت از کاربرد آن نشان داد که در غلظت‌های بیش‌تر از ۵۰ و ۱۰۰ میکرولیتر خاصیت دورکنندگی مشاهده شد، اما اختلاف در سطح ۵ درصد معنی‌دار نبود. هم‌چنین پنج ساعت بعد از شروع آزمایش با افزایش غلظت از ۲۰۰ میکرولیتر، خاصیت دورکنندگی به میزان ۸۰ درصد مشاهده شد و بین چهار غلظت موردبررسی، اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد مشاهده شد (شکل ۱).

جدول ۱. بررسی سمیت تماسی (میکروگرم بر سانتی‌مترمربع) عصاره‌های اتانولی و هگزانی حاصل از گیاه خیار تلخ روی کنه تارتن دولکه‌ای پس از ۲۴ ساعت

حلال*	تعداد کنه	(درجه آزادی) کی اسکوار	احتمال	شیب خط ± خطای معیار	غلظت کشنده ۵۰ درصد	حد اطمینان ۹۵ درصد حد بالا-حد پایین
اتانول	۲۴۰	۰/۴۶ (۶)	۰/۹۹۸	۱/۹۷±۰/۲۵	۹۹۴/۶۷	۸۳۴/۶-۱۱۷۴/۱
هگزان	۲۴۰	۲/۲۱ (۴)	۰/۶۹۷	۱/۴۹±۰/۲۷	۸۶۱/۰۳	۶۶۰/۴-۱۲۵۹/۲

* میانگین تلفات در شاهد (حلال اتانول یا هگزان) کم‌تر از پنج درصد بود که با استفاده از فرمول Abbott (1925) درصد تلفات در تیمارها اصلاح شد.

جدول ۲. (میانگین ± خطای معیار) درصد تلفات اصلاح‌شده کنه بالغ تارتن دولکه‌ای تیمارشده با غلظت‌های مختلف عصاره‌های اتانولی و هگزانی خیار تلخ در آزمون ارزیابی سمیت تماسی

	غلظت (میکروگرم بر سانتی‌مترمربع)							
حلال	کنترل (صفر)*	۱۰۰	۲۰۰	۴۰۰	۵۰۰	۸۰۰	۱۰۰۰	خطای معیار
اتانول	۰۰/۰۰	۴/۴۴ ^{e}	۱۳/۳۳ ^{d}	۲۰/۰۰ ^{d}	۳۳/۳۳ ^{c}	۴۶/۶۷ ^{b}	۷۱/۱۱ ^{a}	±۳/۰۱
هگزان	۰۰/۰۰	۱۵/۱۱ ^{e}	۱۷/۳۳ ^{e}	۲۲/۲۲ ^{d}	۳۳/۳۳ ^{c}	۴۸/۹۰ ^{b}	۷۵/۵۶ ^{a}	±۲/۲۲

* میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد براساس آزمون توکی می‌باشند.

جدول ۳. بررسی سمیت تنفسی (میکرولیتر بر لیتر هوا) عصاره‌های اتانولی و هگزانی حاصل از گیاه خیار تلخ روی کنه تارتن دولکه‌ای پس از ۲۴ ساعت

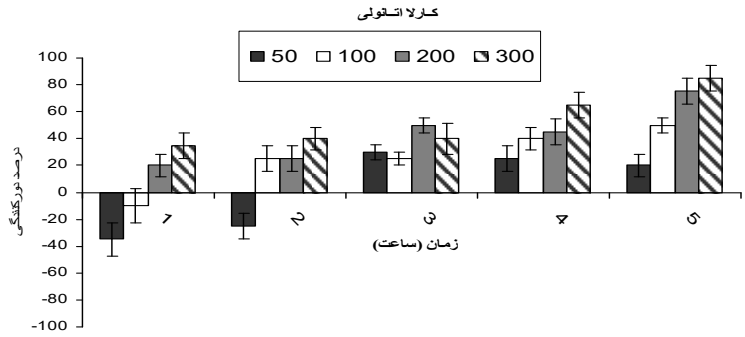
حلال*	تعداد کنه	(درجه آزادی) کی اسکوار	احتمال	شیب خط ± خطای معیار	غلظت کشنده ۵۰ درصد	حد اطمینان ۹۵ درصد حد بالا–حد پایین
اتانول	۲۴۰	۲/۴۱ (۴)	۰/۶۶	۲/۵۰±۰/۳۸	۴۰۷/۱	۳۴۵/۹–۴۷۸/۸
هگزان	۲۴۰	۰/۶۴ (۴)	۰/۹۶	۲/۱۱±۰/۳۷	۳۰۶/۷	۲۵۵/۳–۳۷۸/۳

* میانگین تلفات در شاهد (حلال اتانول یا هگزان) کم‌تر از پنج درصد بود که با استفاده از فرمول Abbott (1925) درصد تلفات در تیمارها اصلاح شد.

جدول ٤. (میانگین ± خطای معیار) درصد تلفات اصلاح‌شده کنه بالغ تارتن دولکه‌ای تیمارشده با غلظت‌های مختلف عصاره‌های اتانولی و هگزانی خیار تلخ در آزمون ارزیابی سمیت تنفسی

	غلظت (میکرولیتر بر لیتر هوا)							
حلال	کنترل (صفر)*	۲۰۰	۳۰۰	۵۰۰	۶۰۰	۸۰۰	۱۰۰۰	خطای معیار
اتانول	۰۰/۰۰	۲۰/۱۱ ^{e}	۲۵/۸۹ ^{e}	۳۰/۲۲ ^{d}	۳۷/۷۸ ^{c}	۵۵/۵۶ ^{b}	۷۹/۸۹ ^{a}	±۲/۴۱
هگزان	۰۰/۰۰	۱۱/۱۱ ^{e}	۲۲/۲۲ ^{d}	۳۱/۱۱ ^{c}	۴۴/۴۴ ^{b}	۵۵/۵۶ ^{a}	۶۲/۲۲ ^{a}	±۲/۰۴

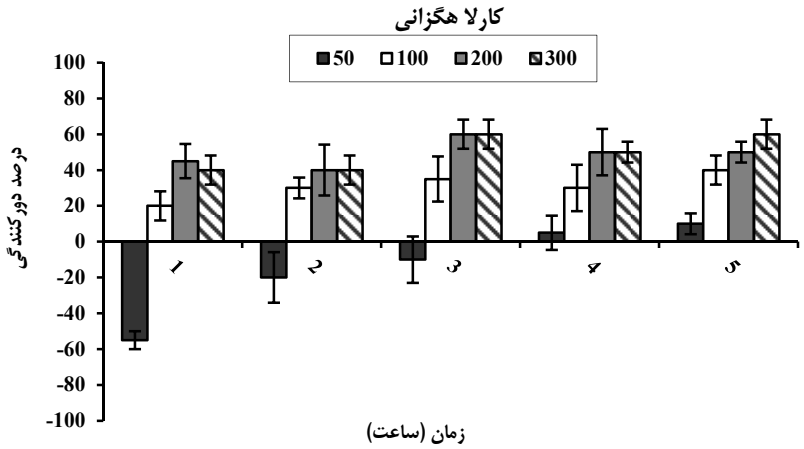
* میانگین‌های دارای حروف غیر مشابه در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد براساس آزمون توکی می‌باشند.



شکل ۱. درصد دورکنندگی غلظت‌های مختلف عصاره اتانولی خیار تلخ روی بالغ کنه دولکه‌ای

بررسی نتایج آزمایش اثر دورکنندگی عصاره هگزانی خیار تلخ روی کنه‌های بالغ کنه تارتن دولکه‌ای در مقایسه با شاهد در غلظت‌های مختلف پس از یک ساعت از کاربرد آن نشان داد در غلظت‌های ۲۰۰ و ۳۰۰ میکرولیتر، خاصیت دورکنندگی مشاهده شد. با این‌حال، در سطح ۱ درصد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۲). هم‌چنین مشخص شد با افزایش غلظت عصاره و مدت زمان قرارگیری در معرض عصاره، درصد دورکنندگی افزایش یافت. به‌طوری‌که در بالاترین غلظت (۳۰۰ میکرولیتر)، بیش‌ترین میزان دورکنندگی به میزان ۵۰ درصد مشاهده شد. با این‌حال، بین غلظت‌ها از نظر خاصیت دورکنندگی اختلاف معنی‌داری در سطح ۱ درصد مشاهده نشد. هم‌چنین ۵ ساعت پس از شروع آزمایش با افزایش غلظت از ۱۰۰ میکرولیتر، خاصیت دورکنندگی به میزان ۵۰ درصد مشاهده گردید و بین چهار غلظت اختلاف معنی‌داری در سطح ۱ درصد مشاهده شد (شکل ۲).

نتایج تجزیه و تحلیل ترکیب‌های شیمیایی عصاره میوه خیار تلخ براساس GC-MS شامل نام ترکیب، درصد ترکیب و زمان بازداری در جدول ۳ نشان داده شده است. از عصاره میوه خیار تلخ ۱۶ ترکیب مختلف شناسایی شد که جمعا ۹۸/۸۸ درصد کل ترکیبات را تشکیل داده‌اند. در بین این ترکیبات لینالول اکسید با ۳۴/۴۵ درصد، لیمونن اکسید با ۱۸/۳۲ درصد و ۸–هیدروکسی لینالول با ۷/۸۷ درصد بالاترین مقدار را داشتند و هر سه ترکیب مونوترپن بودند (جدول ۳).



شکل ۲. درصد دورکنندگی غلظت‌های مختلف عصاره هگزانی خیار تلخ روی بالغ کنه دولکه‌ای

بحث و نتیجه‌گیری

آفت‌کش‌های گیاهی می‌توانند جایگزین مناسبی برای حشره‌کش‌های شیمیایی به‌ویژه کنه‌کش‌ها باشند (Wakgari & Yigezu, 2018). با تجزیه پروبیت زیست‌سنجی کنه بالغ، منحنی رابطه بین لگاریتم غلظت و پروبیت درصد تلفات برای آن تعیین شد. از آنجا که خط پروبیت عصاره‌های مختلف بیانگر تغییرات در فعالیت آن‌ها با افزایش هر واحد غلظت است، می‌توان نتیجه گرفت که با افزایش هر واحد غلظت عصاره‌های اتانولی و هگزانی خیار تلخ، تلفات کنه تارتن دولکه‌ای زیاد می‌شود. عصاره اتانولی خیار تلخ در غلظت ۱۰۰۰ میکرولیتر بیش‌ترین تلفات (۷۹/۸۹ درصد) کنه را داشت و نیز بیش‌ترین اثر دورکنندگی در بالاترین غلظت (۳۰۰ میکرولیتر) مشاهده شد. دیگر پژوهش‌گران گزارش کردند که افزایش غلظت عصاره گیاهان باعث افزایش میزان مرگ‌ومیر آفات می‌شود و اثر دورکنندگی را افزایش می‌دهد (El-Khayat *et al*., 2014; Obembe & Ojo, 2018; Wakgari & Yigezu, 2018). بررسی سمیت و دورکنندگی عصاره‌های مختلف برگ آلوئه‌ورا بر بالغ کنه دو لکه‌ای نشان داد که عصاره هگزانی آن بعد از ۹۶ ساعت بالاترین اثر دورکنندگی (۷۸/۷۵ درصد) را داشت و بعد از آن به‌ترتیب در عصاره‌های اتانولی و آبی مشاهده شد (El-Khayat *et al*., 2014).

تأثیر سمیت عصاره خیار تلخ بر کنه تارتن دولکه‌ای می‌تواند به‌دلیل بسته‌شدن منافذ تنفسی حشره ناشی از ترکیبات آن باشد؛ در واقع ترکیبات گیاهی می‌توانند سبب اختلال در تنفس، خفگی و در نتیجه مرگ آفت شوند (Ileke & Ogungbite, 2014). تاکنون گزارشی درباره سمیت و اثر دورکنندگی عصاره‌های هگزانی و اتانولی خیار تلخ بر بالغ کنه تارتن دولکه‌ای اعلام نشده است. با این‌حال، گزارش‌هایی در مورد تأثیر بر دیگر آفات وجود دارد. به‌طور مثال، عصاره خیار تلخ تلفات بالایی در سوسک چهار نقطه‌ای حبوبات داشت (Obembe & Ojo, 2018). هم‌چنین اثر کشندگی سایر ترکیبات گیاهی بر کنه دولکه‌ای به‌وسیله سایر پژوهش‌گران گزارش شده است. اثر کنه‌کشی عصاره برگ گیاه اکالیپتوس *Eucalyptus comondulensis* و کونوکارپوس *Conocarpus erectus* روی کنه تارتن دو نقطه‌ای نشان داد که عصاره برگ اکالیپتوس سمیت بیش‌تری نسبت به کونوکارپوس دارد (Mosavi *et al*., 2014).

در آزمایشی دیگر اثرات کشندگی و زیر کشندگی اسانس‌های گیاهی زیره سبز و میخک علیه کنه تارتن دو نقطه‌ای موردبررسی قرار گرفت. نتایج آزمایش نشان داد که سمیت تنفسی اسانس زیره سبز (LC_{50}=۳/۷۴ppm) بیش‌تر از اسانس میخک (LC_{50}=۶/۱۳ppm) است (Beynaghi *et al*., 2015).

در پژوهشی دیگر اثر سمیت اسانس‌های گیاهی زیره سیاه *Carum carvi* و بومادران *Achillea millefolium* بر کنه تارتن دولکه‌ای موردبررسی قرار گرفت. مقادیر LC_{50} مرحله بالغ برای گیاهان زیره سیاه و بومادران به‌ترتیب ۰/۸۸ و ۳/۶ میکرولیتر بر لیتر هوا به‌دست آمد. براساس نتایج به‌دست‌آمده از اثر کنه‌کشی، اسانس گیاهی زیره سیاه به‌طور معنی‌داری مؤثرتر از اسانس بومادران واقع شد. نتایج پژوهش، پتانسیل بالای اسانس‌های گیاهی به‌ویژه زیره سیاه را برای کنترل کنه تارتن دولکه‌ای نشان می‌دهد (Salehi *et al*., 2016).

بررسی ترکیبات عصاره میوه خیار تلخ نشان داد که این گیاه حاوی ترپنوئیدها به‌ویژه مونوترپنوئیدهایی مانند لینالول، لینالول‌اکسید، لیمونن‌اکسید و ۸- هیدروکسی لینالول هستند که خاصیت حشره‌کشی و کنه‌کشی دارند. ترپنوئیدها در گیاهان بخشی از مکانیسم دفاعی گیاهان در برابر آفات و بیماری‌ها هستند، بنابراین از آن‌ها به‌عنوان حشره‌کش، قارچ‌کش و علف‌کش در کشاورزی و به‌عنوان ضدمیکروب و ضدقارچ در زمینه داروسازی استفاده می‌شود (Wardhani *et al*., 2015). در پژوهشی کاربرد ترکیبات مونوترپنوئید لینالول و لیمونن و عصاره مرکبات حاوی این ترکیبات در روش سمیت تنفسی بر کنه تارتن دولکه‌ای نشان داد که لینالول سمیت بالایی را بر این آفت دارد و عصاره مرکبات اثر مشابهی را در کنترل کنه نشان داد (Ribeiro *et al*., 2019).

به‌طور کلی این مطالعه نشان داد که افزایش غلظت عصاره‌های هگزانی و اتانولی گیاه خیار تلخ مرگ‌ومیر کنه تارتن دولکه‌ای و نیز خاصیت دورکنندگی را افزایش داد و بیش‌ترین تأثیر مربوط به عصاره اتانولی خیار تلخ بود که ناشی از حضور ترکیبات ثانویه ترپنوئیدی مانند لینالول‌اکسید و لیمونن اکسید در آن بود. بنابراین عصاره اتانولی میوه خیار تلخ به عنوان یک کنه‌کش طبیعی گیاهی و به‌دلیل داشتن مونوترپنوئیدها می‌تواند یک جایگزین برای کنه‌کش‌های شیمیایی باشد؛ برای تأیید بیش‌تر یافته‌های این مطالعه و توصیه آن برای مزارع، پیشنهاد می‌شود پژوهش‌های مزرعه‌ای جهت بررسی اثربخشی عصاره گیاه خیار تلخ انجام شود تا بتوان راهبردهای مناسبی را اتخاذ نمود.

تشکر و قدردانی

از معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه زابل به خاطر حمایت مالی این مطالعه (IR-UOZ-GR-0821) تشکر و قدردانی می‌نمایند. پژوهش حاضر بخشی از پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد نگارنده اول در رشته حشره‌شناسی کشاورزی می‌باشد.

REFERENCES

Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*; 18(1): 265-266.

Adesanya, A. W.; Lavine, M. D.; Moural, T. W.; Lavine, L. C.; Zhu, F.; & Walsh, D.B. (2021). Mechanisms and management of acaricide resistance for *Tetranychus urticae* in agroecosystems. *Journal of Pest Science*; 94(3): 639-663.

Ahmed, M.; Peiwen, Q.; Gu, Z.; Liu, Y.; Sikandar, A.; Hussain D. *et al*. (2020). Insecticidal activity and biochemical composition of *Citrullus colocynthis*, *Cannabis indica* and *Artemisia argyi* extracts against cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae* L.). *Scientific Reports*; 10: 522.

Beynaghi, S.; Kheradmand, K.; Asgari, S.; & Sheikhi Garjan, A. (2015). Sublethal Effects of *Cuminum cyminum* and *Eugenia caryophyllata* essential oils on two–spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *Applied Entomology and Phytopathology*; 82(2): 81-90. (*in Persian*).

El-Khayat, E.F.; Rady, G.H.; Abdel-Zahar, T.R.; Omar, M.O.; & Kalmosh, F.S. (2014). Repellency and toxicity effect of some leaf extracts of *Aloe vera* L. against adult females of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Global Journal of Environmental Sciences and Toxicology*; 1: 145-155.

Farahani, S.; Bandani, A.R.; & Amiri, A. (2020). Toxicity and repellency effects of three essential oils on two populations of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Persian Journal of Acarology*; 9(1): 67-81.

Ileke, K.D.; & Ogungbite, O.C. (2014). Entomocidal activity of powders and extracts of four medicinal plants against *Sitophilus oryzae* (L), *Oryzaephilus mercator* (Faur) and *Ryzopertha dominica* (Fabr.). *Jordan Journal of Biological Sciences*; 7(1): 57-62.

Kaveh, M.; Poorjavad, N.; & Khajehal, J. (2014). Evaluation of contact toxicity of ten essential oils from Lamiaceae plants against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Plant Pest Research*; 4(3): 39-49. (*in Persian*).

Kumar, S. R.; Ashish, J.; & Satish, N. (2011). *Momordica charantia* Linn: A mini review. International Journal of Biomedical Researc; *2*(11): 579-587.

Le Goff, G.; Mailleux, A. C.; Detrain, C.; Deneubourg, J. L.; Clotuche, G.; & Hance, T. (2009). Spatial distribution and inbreeding in *Tetranychus urticae*. Comptes *Rendus Biologies*; 332(10): 927-933.

Mosavi, S. GH.; Abravan, P.; & Bandani A.R. (2014). Acaricidal effect of *Eucalyptus comondulensis* and *Conocarpus erectus* leaf extracts on *Tetranychus urticae*; The First National Conference on Stable Agriculture and Natural Resources, Tehran, Iran. (*in Persian*).

Mozaffari, F.; Abbasipour, H.; Sheikhi Garjan, A.; Saboori, A.R.; & Mahmoudvand, M. (2012). Various effects of ethanol extract of *Mentha pulegium* on the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) (Tetranychidae). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*; 45(11): 1347-1355. (*in Persian*).

Negahban, M.; Moharramipour, S.; & Sefidkon, F. (2007). Fumigant toxicity of essential oil from *Artemisia sieberi* Besser against three stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*; 43: 123-128.

Ngegba, P. M.; Cui, G.; Khalid, M. Z. & Zhong, G. (2022). Use of Botanical Pesticides in Agriculture as an Alternative to Synthetic Pesticides. *Agriculture*; 12(5): 600.

Obembe, O.M.; & Ojo, D.O. (20180. Toxicity and oviposition inhibitory effect of extract and powder of *Momordica charantia* leaf against *Callosobruchus maculatus* Fab. (Coleoptera: Chrysomelidae) on stored cowpea seed. *Journal of Bioscience and Biotechnology Discovery*; 3(3): 65-70.

Rahman, M.M.; & Schmidt, G.H. (1999). Effect of *Acorus calamus* (Aceraceae) essential oil vaporous from various origins on *Callosobruchus phaseoli* (Gyllenhal) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*; 35: 285-295.

Reichert, W.; Ejercito, J.; Guda, T.; Dong, X.; Wu, Q.; Ray, A. *et al*. (2019). Repellency assessment of *Nepeta cataria* essential oils and isolated Nepetalactones on *Aedes aegypti*. *Scientific reports*; 9(1): 1524.

Ribeiro, N.C.; da Camara, C.A.G.; Melo, J.P.R.; & de Moraes, M.M. (2019). Acaricidal properties of essential oils from agro-industrial waste products from citric fruit against *Tetranychus urticae*. *Journal of Applied Entomology*; 143(7): 731-743.

Rincón, 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(8): 272.

Sabouri, A.; Faraji, F.; & Zahedi Golpayegani, A. (2009). Mites of greenhouse; identification, biology and control. University of Tehran Press,Tehran. 308 pp. (*in Persian*).

Salehi, F.; Karimi, J.; Kordenaeej, A.; & Askarianzadeh, A. (2016). The effect of oil of black cumin seeds and yarrow on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). The First National Conference on Agricultural Management Using the Agricultural Model, Hamedan, Iran. 9 PP. In Persian.

Sarraf Muayeri, H. R.; Pirayeshfar, F.; & Kavousi, O. (2013). Repellency effect of three herbal essential oils on the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *Iranian Journal of Plant Protection Science*; 44(1): 103-112. (*in Persian*).

Talukder, F.A.; & Howse, P.E. (1995). Evaluation of *Aphanamixis polystachya* as a source of repellents, antifeedants, toxicants and protectants in storage against *Tribolium castaneum*. *Journal of Stored Products Research*; 31: 55-61.

Wahyutami, C. T.; & Aisyah, S. N. (2022). Insecticidal Activity of Bitter Melon (*Momordica charantia* L.) Leaf Extract on Mung Bean Weevil (*Callosobruchus chinensis* L.). *In* IOP Conference Series: Earth and Environmental Science; (Vol. 985, No. 1, p. 012053). IOP Publishing.

Wakgari, M.; & Yigezu, G. (2018). Evaluation of some botanical extracts against two-spotted spider mite (Tetranychidae: *Tetranychus urticae* Koch) under laboratory condition. Ethiopian *Journal of Science*; 41(1): 1-7.

Wang, Z., Cang, T., Wu, S., Wang, X., Qi, P., Wang, X. & Zhao, X. (2018). Screening for suitable chemical acaricides against two-spotted spider mites, *Tetranychus urticae*, on greenhouse strawberries in China. *Ecotoxicology and environmental safety*; 163: 63-68.

Wardhani, T.; Abadi, A.L.; Himawan, T.; & Am, A. (2015). Composition of water extract from wild bitter gourd (*Momordica charantia* L.) fruit for application as antifeedant and mortality test on armyworm larvae (*Spodoptera litura* Fab.). *Journal of Biology and Life Science*; 6(2): 172-192.

Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*; 18(1): 265-266.

Adesanya, A. W.; Lavine, M. D.; Moural, T. W.; Lavine, L. C.; Zhu, F.; & Walsh, D. B. (2021). Mechanisms and management of acaricide resistance for *Tetranychus urticae* in agroecosystems. *Journal of Pest Science*; 94(3): 639-663.

Ahmed, M.; Peiwen, Q.; Gu, Z.; Liu, Y.; Sikandar, A.; Hussain D. *et al*. (2020). Insecticidal activity and biochemical composition of *Citrullus colocynthis*, *Cannabis indica* and *Artemisia argyi* extracts against cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae* L.). *Scientific Reports*; 10: 522.

Beynaghi, S.; Kheradmand, K.; Asgari, S.; & Sheikhi Garjan, A. (2015). Sublethal Effects of *Cuminum cyminum* and *Eugenia caryophyllata* essential oils on two–spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *Applied Entomology and Phytopathology*; 82(2): 81-90. (*in Persian*).

El-Khayat, E.F.; Rady, G.H.; Abdel-Zahar, T.R.; Omar, M.O.; & Kalmosh, F.S. (2014). Repellency and toxicity effect of some leaf extracts of *Aloe vera* L. against adult females of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Global Journal of Environmental Sciences and Toxicology*; 1: 145-155.

Enan, E. (2001). Insecticidal activity of essential oil: Octapaminergic sites of action. Comparative. *Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*; 130(3): 325-337.

Farahani, S.; Bandani, A.R.; & Amiri, A. (2020). Toxicity and repellency effects of three essential oils on two populations of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Persian Journal of Acarology*; 9(1): 67-81.

Ileke, K.D.; & Ogungbite, O.C. (2014). Entomocidal activity of powders and extracts of four medicinal plants against *Sitophilus oryzae* (L), *Oryzaephilus mercator* (Faur) and *Ryzopertha dominica* (Fabr.). *Jordan Journal of Biological Sciences*; 7(1): 57-62.

Kaveh, M.; Poorjavad, N.; & Khajehal, J. (2014). Evaluation of contact toxicity of ten essential oils from Lamiaceae plants against *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Plant Pest Research*; 4(3): 39-49. (*in Persian*).

Kumar, S. R.; Ashish, J.; & Satish, N. (2011). *Momordica charantia* Linn: A mini review. International Journal of Biomedical Researc; *2*(11): 579-587.

Le Goff, G.; Mailleux, A. C.; Detrain, C.; Deneubourg, J. L.; Clotuche, G.; & Hance, T. (2009). Spatial distribution and inbreeding in *Tetranychus urticae*. Comptes *Rendus Biologies*; 332(10): 927-933.

Mosavi, S. GH.; Abravan, P.; & Bandani A.R. (2014). Acaricidal effect of *Eucalyptus comondulensis* and *Conocarpus erectus* leaf extracts on *Tetranychus urticae*; The First National Conference on Stable Agriculture and Natural Resources, Tehran, Iran. (*in Persian*).

Mozaffari, F.; Abbasipour, H.; Sheikhi Garjan, A.; Saboori, A.R.; & Mahmoudvand, M. (2012). Various effects of ethanol extract of *Mentha pulegium* on the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) (Tetranychidae). *Archives of Phytopathology and Plant Protection*; 45(11): 1347-1355. (*in Persian*).

Negahban, M.; Moharramipour, S.; & Sefidkon, F. (2007). Fumigant toxicity of essential oil from *Artemisia sieberi* Besser against three stored-product insects. *Journal of Stored Products Research*; 43: 123-128.

Ngegba, P. M.; Cui, G.; Khalid, M. Z. & Zhong, G. (2022). Use of Botanical Pesticides in Agriculture as an Alternative to Synthetic Pesticides. *Agriculture*; 12(5): 600.

Obembe, O.M.; & Ojo, D.O. (20180. Toxicity and oviposition inhibitory effect of extract and powder of *Momordica charantia* leaf against *Callosobruchus maculatus* Fab. (Coleoptera: Chrysomelidae) on stored cowpea seed. *Journal of Bioscience and Biotechnology Discovery*; 3(3): 65-70.

Rahman, M.M.; & Schmidt, G.H. (1999). Effect of *Acorus calamus* (Aceraceae) essential oil vaporous from various origins on *Callosobruchus phaseoli* (Gyllenhal) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*; 35: 285-295.

Reichert, W.; Ejercito, J.; Guda, T.; Dong, X.; Wu, Q.; Ray, A. *et al*. (2019). Repellency assessment of *Nepeta cataria* essential oils and isolated Nepetalactones on *Aedes aegypti*. *Scientific reports*; 9(1): 1524.

Ribeiro, N.C.; da Camara, C.A.G.; Melo, J.P.R.; & de Moraes, M.M. (2019). Acaricidal properties of essential oils from agro-industrial waste products from citric fruit against *Tetranychus urticae*. *Journal of Applied Entomology*; 143(7): 731-743.

Rincón, 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(8): 272.

Sabouri, A.; Faraji, F.; & Zahedi Golpayegani, A. (2009). Mites of greenhouse; identification, biology and control.Tehran university Press,Tehran. (in Persian).

Salehi, F.; Karimi, J.; Kordenaeej, A.; & Askarianzadeh, A. (2016). The effect of oil of black cumin seeds and yarrow on *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). The First National Conference on Agricultural Management Using the Agricultural Model, Hamedan, Iran. 9 PP. (In Persian).

Sarraf Muayeri, H. R.; Pirayeshfar, F.; & Kavousi, O. (2013). Repellency effect of three herbal essential oils on the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *Iranian Journal of Plant Protection Science*; 44(1): 103-112. (in Persian).

Savelev, S.; Okello, E.; Perry, N.S.L.; Wilkins, R.M.; & Perry, E.K. (2003). Synergistic and antagonistic interactions of anticholinesterase terpenoids in *Salvia lavandulaefolia* essential oil. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*; 75(3): 661-668.

Shibu, N.J.; Papiya, M.M.; & Nagaraju, G. (2017). *Momordical charantia* Linn as a medicinal plant: A review. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*; 7(1): 440-459.

Talukder, F.A.; & Howse, P.E. (1995). Evaluation of *Aphanamixis polystachya* as a source of repellents, antifeedants, toxicants and protectants in storage against *Tribolium castaneum*. *Journal of Stored Products Research*; 31: 55-61.

Wahyutami, C. T.; & Aisyah, S. N. (2022). Insecticidal Activity of Bitter Melon (*Momordica charantia* L.) Leaf Extract on Mung Bean Weevil (*Callosobruchus chinensis* L.). *In* IOP Conference Series: Earth and Environmental Science; (Vol. 985, No. 1, p. 012053). IOP Publishing.

Wakgari, M.; & Yigezu, G. (2018). Evaluation of some botanical extracts against two-spotted spider mite (Tetranychidae: *Tetranychus urticae* Koch) under laboratory condition. Ethiopian *Journal of Science*; 41(1): 1-7.

Wang, Z., Cang, T., Wu, S., Wang, X., Qi, P., Wang, X. & Zhao, X. (2018). Screening for suitable chemical acaricides against two-spotted spider mites, *Tetranychus urticae*, on greenhouse strawberries in China. *Ecotoxicology and environmental safety*; 163: 63-68.

Wardhani, T.; Abadi, A.L.; Himawan, T.; & Am, A. (2015). Composition of water extract from wild bitter gourd (*Momordica charantia* L.) fruit for application as antifeedant and mortality test on armyworm larvae (*Spodoptera litura* Fab.). *Journal of Biology and Life Science*; 6(2): 172-192.

Watanabe, Y.; Mihara, R.; Mitsunaga, T.; & Yoshimura, T. (1993). Termite repellent sesquiterpenoids from *Callitris glaucophylla* heartwood. *Journal of Wood Science*; 51(5): 514-519.