

پاسخ الکتروفیزیولوژیکی حشرات کامل مینوز گوجه‌فرنگی *Tuta absoluta* (Lep.: Gelechiidae) به برخی ترکیب‌های دورکننده گیاهی

زیبا ممدوح^{۱*}، علی اصغر سراج^۲، مرتضی موحدی فاضل^۳ و گیانفرانکو آنفورا^۴
۱ و ۲. دانشجوی سابق دکتری و دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران
۳. دانشیار، گروه گیاه‌پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران
۴. دانشیار، گروه اکولوژی شیمیایی، مرکز تحقیقات و فناوری فوندازیون ادموند ماخ، سان میکل آل آدیجه، ترنتینو، ایتالیا
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۲۵ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۳/۲۱)

چکیده

مینوز گوجه‌فرنگی *Tuta absoluta* Meyrick از مهم‌ترین آفت‌های گیاه گوجه‌فرنگی *Solanum lycopersicum* در ایران و جهان به شمار می‌آید که به دلیل قابلیت تولیدمثل بالا و طول نسل کوتاه آسیب اقتصادی بالایی وارد می‌سازد. امروزه کنترل رفتاری آفات بر پایه مواد شیمیایی رابط (سمیوکیکال‌ها) جایگاه ویژه‌ای را به خود اختصاص داده است. در این بررسی با تکیه بر غربال و شناسایی گروهی از ترکیب‌ها، قابلیت پانزده ترکیب از ترکیب‌های دورکننده شناخته‌شده گیاهی در تحریک گیرنده‌های شاخکی حشرات باکره و جفت‌شده هر دو جنس، به کمک دستگاه الکتروآنتنوگرام (EAG) ارزیابی شد. در این آزمون بیشترین غلظت ممکنه (۱۰۰ µg/µl) از هر ترکیب روی شاخک سمت راست نرها و ماده‌های باکره و جفت‌شده ۲-۴ روزه و در ده تکرار بررسی شد. نتایج به‌دست‌آمده از پاسخ الکتروفیزیولوژیکی نشان داد، همه ترکیب‌های مورد آزمایش توانایی اتصال به گیرنده‌های شاخکی حشرات کامل مینوز گوجه‌فرنگی را دارند. اما سه ترکیب (-)-Carvone، Salicylic acid و Methyl jasmonate بیشترین میزان پاسخ پس از منظور داشتن میزان تأثیر شاهد (هگزان) را نشان دادند. از آنجا که ترکیب‌های مورد آزمایش بالاترین تأثیر را بر ماده جفت‌شده دارند، لذا می‌توانند به‌عنوان نامزدی مناسب در جهت مهار رفتاری حشرات ماده این آفت همچون ترکیب‌های فرمونی در حشرات نر در راهبردهای مهاری و مدیریت تلفیقی آفات (Integrated Pest Management; IPM) مطرح باشند.

واژه‌های کلیدی: الکتروآنتنوگرام، گیرنده‌های شاخکی، (-)-Carvone، Salicylic acid، Methyl jasmonate.

Electrophysiological response of tomato leaf miner adults, *Tuta absoluta* (Lep.: Gelechiidae) to some botanical repellent compounds

Ziba Mamduh^{1*}, Ali Asghar Seraj², Morteza Movahedi Fazal³ and Gianfranco Anfora⁴

1, 2. Former Ph.D. Student and Associate Professor, Department of Plant Protection, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

3. Associate Professor, Department of Plant Protection, Zanjan University, Zanjan, Iran

4. Associate Professor, Department of Chemical Ecology, Fondazione Edmund Mach, Research and Innovation Centre, San Michele all'Adige, TN, Italy

(Received: Feb. 13, 2017 - Accepted: Jun. 11, 2017)

ABSTRACT

The tomato leafminer moth, *Tuta absoluta*, Myrick. (Lep.: Gelechiidae) is an important pest of cultivated tomato, *Solanum lycopersicum* in Iran and other countries throughout the world. This pest damages on tomato and other crops economically due to high fecundity and short generation period. Nowadays, semiochemicallybased management strategies are developing. We aimed to screen and characterize new deterrent compounds to *T. absoluta*. therefore, the stimulating potential of 15 botanical repellent compounds was assayed on antennal receptors of virgin and mated of both sexes using Electroantennogram (EAG). In this test, each compound was tested in highest concentration level, 100 µg/µl, on the right antennae of both sexes, 2-4 days old in two reproductive statues, mated and virgin, with 10 replications. Electrophysiological responses showed that all of tested compounds could bind to antennal receptors of tomato leaf miner moths. (-)-Carvone, Salicylic acid, and Methyl jasmonate were the three compounds that elicited maximum responses on mated females. As a result, these compounds can be introduced as suitable candidates for the behavioral control of *T. absoluta* females as well sex pheromone on males in control strategies and IPM.

Keywords: Antennal receptor, (-)-Carvone, electroantennogram, Methyl jasmonate, Salicylic acid.

* Corresponding author E-mail: z.mamdooh@gmail.com

مقدمه

حس بویایی به‌عنوان یک حس حیاتی و مشترک در همه حشرات است که در میزبان‌یابی و تعیین محل تغذیه، جفت‌گیری، تولیدمثل و نیز سازمان‌دهی کلنی در حشرات اجتماعی و همه ارتباطات بوم‌شناختی (اکولوژیکی) و رفتاری آن‌ها نقش دارد (Cardé & Millar, 2004). در چند دهه اخیر، بهره‌گیری از تعامل‌های بوم‌شناختی موجود در زیست‌بوم (اکوسیستم) جایگاه ویژه‌ای را در مدیریت تلفیقی آفات (IPM)^۱ به خود اختصاص داده است و راهبردهای کاربردی همچون پیش‌آگاهی از جمعیت آفت، اختلال در جفت‌گیری، جلب و کشتن، کشش و رانش و نیز شکار انبوه شاهدهی بر این مدعا هستند (Reddy & Guerrero, 2010). آلووشیمی‌ها ترکیب‌هایی هستند که می‌توانند به‌عنوان دورکننده، جلب‌کننده و حتی هشداردهنده عمل کنند (Cardé & Millar, 2004; War et al., 2011). گروهی از این ترکیب‌ها همان ترکیب‌های ایجادشده از تغذیه گیاهخواران (HIPVs)^۲ و نیز ترکیب‌های فرار برگ سبز (GLV)^۳ هستند که پاسخ رفتاری متفاوتی را در سطوح مختلف غذایی به دنبال خواهند داشت (War et al., 2011). همچنین، ترکیب‌های گیاهی ساطع‌شده مربوط به تخم‌ریزی حشرات *T. absoluta* و نیز سطوح آلودگی لاروی روی گیاه گوجه‌فرنگی می‌تواند بر رفتار حشرات ماده همین‌گونه در انتخاب جایگاه تولیدمثلی اثرگذار باشد (Bawin et al., 2014; Anastasaki et al., 2015). ترکیب‌هایی همچون متیل سالیسیلات، متیل جاسمونات و گروهی از منوترپن‌ها^۴ و نیز سسکوئیدی‌ترین‌هایی^۵ همچون Caryophyllene و Farnesene به‌صورت چندین همپار (ایزومر) به‌طور مشخص ۲۴ ساعت پس از آسیب گیاه ساطع می‌شوند که در پی جلب دشمنان طبیعی، خاصیت دورکنندگی نیز برای بسیاری از آفات راسته بال‌پولکداران دارند (War et al., 2011). میزان ترکیب

Spodoptera در نتیجه آسیب *(E,E)-\alpha*-farnesene (Lep.: Noctoidae) و نیز همراه با ترکیب *(Z)-3*-hexenyl acetate در آلودگی با کنه تارتن افزایش‌یافته و با خاصیت دورکنندگی برای آفت و جلب دشمنان طبیعی، موجبات حفاظت از گیاه را فراهم می‌کنند (War et al., 2011). *(E)-\beta*-caryophyllene از گروه سسکوئیدی‌ترین‌های ترکیب‌های HIPVs به‌شمار می‌آید که سبب جلب نماتدهای شکارگر در ریشه ذرت آسیب‌دیده توسط لارو *Diabrotica virgifera* (Col.: Chrysomelidae) می‌شود (War et al., 2011). تأثیر دورکنندگی ترکیب‌های موجود در گیاهانی همچون نعناع فلفلی (Saeidi & Moharramipour, 2013; Wubie et al., 2014) آویشن (Faraji et al., 2014; Abtew et al., 2015) میخک (Yang et al., 2009)، اکالیپتوس (Reddy & Guerrero, 2004; Hamzavi et al., 2014; Shafiei et al., 2014; Abtew et al., 2015) زبره سیاه (Schlyter et al., 2004; Yoon et al., 2007; Yang et al., 2009)، فلفل سیاه (Abtew et al., 2015) و دارچین (Uniyal et al., 2014) روی گروهی از حشرات به اثبات رسیده است. بررسی‌های انجام‌شده گویای آن است که تیمول، منتول، اسید سالیسیلیک، متیل سالیسیلات و متیل جاسمونات تأثیر دورکنندگی روی *Culicoides impunctatus* (Dip.: Ceratopogonidae) و دو گونه کنه از خانواده Ixodidae دارند (Garboui et al., 2007; Stuart et al., 2007; Novelino et al., 2007). *\alpha*-humulene نیز یکی از هیدروکربن‌های سسکوئیدی‌ترین استخراج‌شده از برگ‌های تازه و خشک گیاه *Hyptis suaveolens* Poit. (Lamiaceae) است که بالاترین میزان دورکنندگی در کنه‌های دامی با بیش از ۹۶ درصد را ایجاد کرده است (Ashitani et al., 2015). برخی گیاهان همچون رازیانه، میخک و اکالیپتوس به دلیل داشتن Benzyl alcohol خاصیت دورکنندگی روی شماری از حشرات را دارند که از آن میان می‌توان به سوسک ریشه صنوبر *Tomicus destruens* (Col.: Curculionidae) و سن لوبیا *Riptortus clavatus* Linnaeus. (Het.: Alydidae)

1. Integrated Pest Management
2. Herbivore-Induced Plant Volatiles
3. Green Leaf Volatile
4. Monoterpenes
5. Sesquiterpenes

مشخص شد که ترکیب β -caryophyllene یکی از مؤثرترین ترکیب‌های اسانس تهیه‌شده از دارچین است که پاسخ شاخکی را به دنبال دارد و نیز می‌تواند دلیلی بر رفتار دورکنندگی و سقوط حشرات کامل پشه *Aedes aegypti* Linnaeus. (Dip.: Culicidae) باشد (Uniyal et al., 2014).

در این تحقیق امکان تشخیص برخی از ترکیب‌های شناخته‌شده طبیعی در گیاهانی با خاصیت دورکنندگی توسط گیرنده‌های بویایی شاخک حشرات شب‌پره مینوز گوجه‌فرنگی با بهره‌گیری از روش الکتروفیزیولوژیکی بررسی شده است. درک حسی توسط اندام حسی (sensillum) موجود در سطح شاخک انجام می‌شود که در حقیقت به‌عنوان یک ناحیه تخصص‌یافته پوستی مطرح است که محتوای یاخته‌های سازنده و بنیادی، یاخته‌های عصب حسی و در مواردی نیز یاخته‌های کمکی هستند (Schneider, 1964). تفاوت به لحاظ ریخت‌شناختی سبب دریافت و درک محرک‌های مختلف در حشره و در پی آن رفتار اختصاصی به منبع بو می‌شود. اندام‌های حسی گیرنده شیمیایی می‌توانند در پیدا کردن جفت در نرها و نیز موقعیت گیاه میزبان در ماده‌ها، ترکیب‌های بویایی فرمونی و غیر فرمونی مانند ترکیب‌های فرار گیاهی را تشخیص دهند (Bawin et al., 2017). اگرچه ترکیب‌های دورکننده نیز از این قاعده مستثنا نیستند (Floyd et al., 1976; Blackwell et al., 1997). بررسی‌های پیشین نشان داد، ساختار و توزیع گیرنده‌های شاخکی در شاخک هر دو جنس حشره مینوز گوجه‌فرنگی متفاوت بوده و در پی آن پاسخ‌های متفاوتی را نسبت به ترکیب‌های مختلف در پی خواهد داشت (Bawin et al., 2017). این محققان توانستند با اسکن از شاخک حشرات کامل *T. absoluta*، هشت نوع اندام و موی حسی: (۱) Böhm، (۲) Squamiformia، (۳) Basiconica، (۴) Chaetica، (۵) Coeloconica، (۶) Auricillica، (۷) Styloconica و (۸) Trichodea در هر دو جنس نر و ماده را اثبات کنند و به‌رغم وجود تفاوت‌هایی در فراوانی و توزیع هر نوع اندام حسی در شاخک هر دو جنس، علت اصلی وجود دوشکلی جنسی در شاخک حشرات کامل نر و

Reddy & Guerrero, 2004; Yang et al., 2009;) تأثیر (Abdelkader & Halawani, 2014 اشاره کرد. دورکنندگی اسانس گیاه سیاه‌دانه روی *Tuta absoluta* (Lep.: Gelechiidae) به اثبات رسیده است (Adil et al. 2015) که حاوی ترکیب‌هایی همچون β -pinene و α -pinene، Thymol است (Sarwar & Latif, 2015). (E) - β -caryophyllene مهم‌ترین ترکیب فلفل سیاه و میخک افزون بر خواص ضد میکروبی خود همراه با چندین گیاه دیگر از جمله اکالیپتوس و آویشن سبب دفع تریپس *Megalurothrips sjostedti* (Thys.: Thripidae) می‌شود (Abdelkader & Halawani, 2014; Abtey et al., 2015). ترکیب‌هایی همچون Eucalyptol و Menthol به ترتیب به‌عنوان یکی از ترکیب‌های اصلی در اسانس گیاه اکالیپتوس *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. (Myrtaceae) (Özel et al., 2014; Yin et al., 2008; al., 2008) و اسانس نعناع فلفلی *Mentha piperita* L. (Lamiaceae) (Scavroni et al., 2005; Vivek et al., 2010; Saharkhiz et al., 2012) مطرح هستند. ترکیب‌هایی همچون Thymol و Carvacrol به‌عنوان مهم‌ترین ترکیب‌های موجود در اسانس دو گونه *Zataria multiflora* Boiss. (Lamiaceae) و *Thymus longicaulis* Presl. (Lamiaceae) هستند (Eftekhari et al., 2011;) که می‌توانند در ایجاد خواص دورکنندگی اسانس این گیاهان نقش داشته باشند. وجود دو ترکیب β -pinene و α در آویشن شیرازی، اکالیپتوس، مرزنگوش، زیره سبز و شماری از گیاهان دیگر به اثبات رسیده است که میزان (α -pinene) به حدود ۲۷ درصد در اکالیپتوس *Eucalyptus lehmanni* Benth. (Myrtaceae) (Özel et al., 2008; Ravi et al., 2013; Abtey et al., 2015; Sebei et al., 2015). در نتایج بررسی‌های دیگر ثابت شده است، از مؤثرترین ترکیب‌های دورکننده اسانس روغنی زیره سیاه روی سن لوبیا، *R. clavatus* می‌توان به β -caryophyllen، eugenol، limonene، carvone اشاره کرد (Yang et al., 2009). بنابر نتایج بررسی‌های انجام‌شده از چندین اسانس گیاهی

ماده مینوز گوجه‌فرنگی را در فراوانی اندام حسی *Trichodea* دانستند (Bawin *et al.*, 2017). بر پایه نتایج بررسی انجام‌شده اندام‌های حسی گروه ۱ و ۲ به‌عنوان گیرنده‌های مکانیکی، اندام‌های حسی گروه ۳، ۵، ۶ و ۸ به‌عنوان گیرنده‌های بویایی، اندام‌های حسی گروه ۴ به‌عنوان گیرنده شیمیایی و تماسی و اندام‌های حسی گروه ۷ به‌عنوان گیرنده‌های محرک‌های دمایی مطرح شده‌اند (Bawin *et al.*, 2017). محققان دیگری در نتایج بررسی‌های خود اذعان داشتند، شرایط محیطی و فیزیولوژیکی نیز در پاسخ رفتاری حشرات مؤثر هستند (Anton *et al.*, 2007; Masante-Roca *et al.*, 2012; Proffit *et al.*, 2011; Saveer *et al.*, 2007). به‌عنوان مثال، برخی بررسی‌ها درزمینه تفاوت حساسیت در شرایط مختلف تولیدمثلی (جفت شده و باکره) نشان داد، رفتارهای هماهنگ با سامانه بویایی با وضعیت فیزیولوژیکی تغییر می‌کنند (Anton *et al.*, 2007). محققان عنوان داشتند که در شب‌پرها و ملخ‌ها عامل‌هایی همچون سن، هرمون جوانی و وضعیت جفت‌گیری می‌تواند در پاسخ حشرات نر به فرمون جنسی و حشرات ماده به ترکیب‌های فرار گیاهی مؤثر باشند (Vetter & Visscher, 1997; Anton *et al.*, 2007). به‌گونه‌ای که سه ساعت پس از جفت‌گیری ترجیح به جلب به بوی گل‌ها در حشرات ماده *Spodoptera littoralis* Boisduval. (Lep.: Noctuidae) متمایل به ترکیب‌های فرار گیاهی می‌شود (Saveer *et al.*, 2012). حشرات نر نیز در این زمان پس از جفت‌گیری میزان جلب خود را به ترکیب‌های فرمون جنسی و ترکیب‌های فرار گیاهی کاهش می‌دهند (Kromann, 2012). وجود پاسخ جلب حشرات ماده جفت‌شده *T. absoluta* به ترکیب‌های گیاه گوجه‌فرنگی در مقایسه با حشرات باکره نیز خود دلیلی بر این تفاوت حساسیت در شرایط تولیدمثلی متفاوت است (Proffit *et al.*, 2011).

ماده مینوز گوجه‌فرنگی را در فراوانی اندام حسی *Trichodea* دانستند (Bawin *et al.*, 2017). بر پایه نتایج بررسی انجام‌شده اندام‌های حسی گروه ۱ و ۲ به‌عنوان گیرنده‌های مکانیکی، اندام‌های حسی گروه ۳، ۵، ۶ و ۸ به‌عنوان گیرنده‌های بویایی، اندام‌های حسی گروه ۴ به‌عنوان گیرنده شیمیایی و تماسی و اندام‌های حسی گروه ۷ به‌عنوان گیرنده‌های محرک‌های دمایی مطرح شده‌اند (Bawin *et al.*, 2017). محققان دیگری در نتایج بررسی‌های خود اذعان داشتند، شرایط محیطی و فیزیولوژیکی نیز در پاسخ رفتاری حشرات مؤثر هستند (Anton *et al.*, 2007; Masante-Roca *et al.*, 2012; Proffit *et al.*, 2011; Saveer *et al.*, 2007). به‌عنوان مثال، برخی بررسی‌ها درزمینه تفاوت حساسیت در شرایط مختلف تولیدمثلی (جفت شده و باکره) نشان داد، رفتارهای هماهنگ با سامانه بویایی با وضعیت فیزیولوژیکی تغییر می‌کنند (Anton *et al.*, 2007). محققان عنوان داشتند که در شب‌پرها و ملخ‌ها عامل‌هایی همچون سن، هرمون جوانی و وضعیت جفت‌گیری می‌تواند در پاسخ حشرات نر به فرمون جنسی و حشرات ماده به ترکیب‌های فرار گیاهی مؤثر باشند (Vetter & Visscher, 1997; Anton *et al.*, 2007). به‌گونه‌ای که سه ساعت پس از جفت‌گیری ترجیح به جلب به بوی گل‌ها در حشرات ماده *Spodoptera littoralis* Boisduval. (Lep.: Noctuidae) متمایل به ترکیب‌های فرار گیاهی می‌شود (Saveer *et al.*, 2012). حشرات نر نیز در این زمان پس از جفت‌گیری میزان جلب خود را به ترکیب‌های فرمون جنسی و ترکیب‌های فرار گیاهی کاهش می‌دهند (Kromann, 2012). وجود پاسخ جلب حشرات ماده جفت‌شده *T. absoluta* به ترکیب‌های گیاه گوجه‌فرنگی در مقایسه با حشرات باکره نیز خود دلیلی بر این تفاوت حساسیت در شرایط تولیدمثلی متفاوت است (Proffit *et al.*, 2011).

به‌طورکلی استفاده از الکتروآنتنوگرام (EAG)^۱ بیشتر محدود به بررسی پاسخ‌های شاخکی نسبت به ترکیب‌های جلب‌کننده بوده است (Fraser *et al.*, 2011).

مواد و روش‌ها

پرورش گیاه میزبان

بذرهای گوجه‌فرنگی *Solanum lycopersicum* Mill. (Solanacea) در گلدان‌های پلاستیکی مستطیلی (۱۳×۱۶×۵۲ cm) حاوی کوکوپیت با نور و آبیاری کافی در یک اتاقک رشد با حرارت یکنواخت 22 ± 2 درجه سلسیوس پرورش داده شدند. پس از رشد، نشاءها

پرورش همه مراحل رشدی حشره در شرایط دمایی 25 ± 1 درجه سلسیوس، رطوبت 60 ± 10 درصد و دوره نوری (D:10؛ L:14) انجام شد.

ترکیب‌های مورد آزمایش

۱۵ ترکیب دورکننده طبیعی از گروه‌های مختلف شیمیایی برای آزمایش‌های الکتروفیزیولوژیکی با دستگاه الکتروآنتنوگرام (EAG) (Syntech, Hilversum, Netherlands) انتخاب شد. ترکیب‌های عبارت‌اند از: Salicylic acide (SA) (Sigma-Aldrich, MO, USA), Methyl jasmonate (MJ) (Sigma-Aldrich, MO, USA), (Z)-3-hexenyl acetate (HA) (MO, USA) و (Sigma-Aldrich, MO, USA) [ترکیب‌های دفاعی از HIPVs و GLVs؛ Merck (-)- α -pinene (α P) (Schuchardt, Hohenbrunn, Germany) و (+)- β -pinene (β P) (Sigma-Aldrich, MO, USA) [منوترین‌ها]، (Merck Schuchardt, Hohenbrunn, Germany) (E,E)- α -farnesene (FA) (Merck) (-)-carvone (Schuchardt, Hohenbrunn, Germany) α -humulene (Sigma-Aldrich, MO, USA) (CA) β -Caryophellen (Sigma-Aldrich, MO, USA) و [سسکوئین‌ترین‌ها]؛ Carvacrol (CO) (Sigma-Aldrich, MO, USA) Thymol (TH) (Sigma-Aldrich, MO, USA) Eucalyptol (EU) (Sigma-Aldrich, MO, USA) و Menthol (ME) (Sigma-Aldrich, MO, USA) Benzyl alcohol (BA) (Aldrich, MO, USA) و (Merck Schuchardt, Hohenbrunn, Germany) [الکل‌های خوشبو یا آروماتیک]؛ و Heptadecane (HE) (Merck Schuchardt, Hohenbrunn, Germany) [استر]. از هر ترکیب غلظت $100 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ (بیشترین غلظت ممکن در آزمون‌های EAG) در حلال n-هگزان تهیه شد. میزان ۲۵ میکرولیتر از هر ترکیب روی کاغذ صافی واتمن شماره یک ($1 \times 1/5 \text{cm}^2$) ریخته شد و پس از تبخیر حلال درون پیپت پاستور قرار گرفت. دو انتهای پیپت پاستور با پارافیلیم مسدود و تا هنگام آغاز آزمایش (بیشینه تا ۱۲ ساعت) در دمای ۴- درجه سلسیوس نگهداری شد. نمونه‌های شاهد محتوای کاغذ صافی و حاوی ۲۵ میکرولیتر n-هگزان بود (Beck *et al.*, 2014).

در مرحله دو برگگی با تراکم بالا در گلدان‌های جدید کشت شدند و در شرایط گلخانه‌ای با دمای 24 ± 1 درجه سلسیوس و نور کافی پرورش داده شدند.

پرورش حشره

شفیره‌های پروانه مینوز گوجه‌فرنگی از کشتزارهای حومه شهر زنجان (عرض جغرافیایی شمال $37^{\circ}8'$ و شرق $47^{\circ}47'$) گردآوری و به مؤسسه تحقیقات و فناوری فوندازیون ادموند ماخ در شهر ترنتو در کشور ایتالیا (Research & Innovation Centre of Fondazione Edmund Mach (San Michele all'Adige, Trentino, Italy) منتقل شدند. حشرات کامل پس از خروج درون قفسه‌های توری ($50 \times 50 \times 130$ سانتی‌متر) حاوی گلدان‌های گیاه گوجه‌فرنگی مستقر شدند. برای هر گلدان به‌طور میانگین ده جفت حشره نر و ماده منظور شد. پس از تخم‌ریزی و تفریح تخم‌ها، مراحل لاروی درون دالان‌های برگگی انجام و برای شفیرگی از کاغذهای تاخوردۀ موج استفاده شد. شفیره‌ها پس از تعیین جنسیت (Sannino & Espinosa, 2010) جداسازی و به درون جعبه‌هایی با دیواره‌های توری ($20 \times 20 \times 20 \text{cm}^3$) حاوی پنبه مرطوب و ظرف‌های حاوی آب عسل ۱۰ درصد منتقل شدند. حشرات کامل پس از خروج به‌صورت جداگانه درون لوله‌های فالکن ۱۵ میلی‌لیتر قرار گرفتند. برای آزمایش روی حشرات جفت‌گیری‌شده، یک حشره نر به همراه یک حشره ماده یک روزه درون لوله فالکن قرار گرفت. برای اطمینان از جفت‌گیری حشرات با روش Lee *et al.* (2014) عمل شد. وجود رفتارهایی چون بی‌حرکی، باز کردن شاخک و بالا بردن شکم در ماده‌ها و حرکت‌های جهشی و بال زدن در نرها و ردیابی حشرات ماده توسط آن‌ها در ساعت اولیه دوره روشنایی نشان از رفتار جفت‌گیری در این حشره بوده است. با مشاهده و ردیابی این رفتارها و اطمینان از جفت‌گیری موفق بر حسب طول مدت جفت‌گیری، این نمونه‌ها برای آزمایش حشرات جفت‌شده انتخاب شدند. برای تغذیه حشرات کامل، درب همه فالکن‌ها سوراخ شده و یک لوله اپندورف ۲ میلی‌لیتر حاوی آب عسل ۱۰ درصد در آن تعبیه شد.

آزمایش الکتروآنتنوگرافی (EAG)

در این آزمایش از حشرات نر و ماده ۴-۲ روزه باکره (Virgin) و جفت‌شده (Mated) استفاده شد. پاسخ الکتروفیزیولوژیکی بنابر روش Beck *et al.* (2014) توسط دستگاه استاندارد الکتروآنتنوگرام انجام شد. الکترودهای شیشه‌ای مبنا (Reference) و ثبات (Recording) به‌گونه‌ای که حباب هوا درون آن ایجاد نشود از محلول فیزیولوژیکی Kassling (Kassling, 1987) پر شدند. پیش از آغاز آزمایش، حشرات به مدت ۲-۱ دقیقه در دمای ۴°C قرار گرفتند و پس از بی‌حرکت شدن حشره، سر آن توسط تیغ جراحی جدا شد. برای اعمال یکنواختی (Hemogeneity) در همه آزمایش‌ها، از شاخک سمت راست حشره استفاده شد. لذا همزمان با سر، شاخک چپ حشره نیز حذف شده و بند آخر انتهای شاخک راست که آزمایش شد نیز حذف شد تا ارتباط مستقیم همولنف با محلول فیزیولوژیکی برقرار شود. الکترودهای شیشه‌ای مبنا از محل گردن درون سر قرار گرفت. پس از ثابت کردن الکترودها، به کمک یک تار ظریف از قلم مو، انتهای فلاژوم شاخک به درون الکترودهای شیشه‌ای هدایت و تثبیت شد. جریان مرطوب و تصفیه‌شده هوا، به میزان ۰/۲۵ l/min و به مدت دو ثانیه از درون پمپت پاستور روی شاخک دمیده شد. پاسخ الکتروفیزیولوژیکی به‌صورت جریان الکتریکی ایجادشده ناشی از اتصال ترکیب با گیرنده‌های بویایی شاخک به‌حالت دپلاریزاسیون به‌صورت (mV) ثبت شد. پیش و پس از دمیدن هر ترکیب، جریان هوای تمیز به‌عنوان شاهد مثبت و هوای حاوی حلال (هگزان) به‌عنوان شاهد به شاخک دمیده شد. هر ترکیب در چهار گروه آزمایشی (نر و ماده باکره، نر و ماده جفت‌گیری‌شده) و در قالب ده تکرار ارزیابی شد.

تجزیه آماری

عادی‌سازی (نرمالیتت) داده‌های به‌دست‌آمده از پاسخ‌های الکتروفیزیولوژیکی حشرات کامل با آزمون کلموگروف-اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov test) بررسی شد. با توجه به نرمال نبودن داده‌ها، همه آن‌ها به LN(x) تبدیل و سپس تجزیه و تحلیل شد. برای

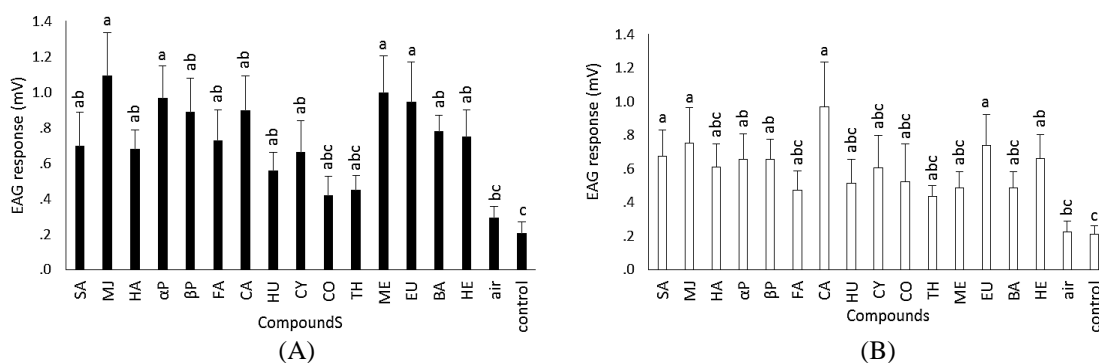
مقایسه تأثیر ترکیب‌های مورد آزمایش در مقایسه با شاهد (حلال) و کنترل مثبت (هوا)، داده‌های تبدیلی در قالب طرح کامل تصادفی با روش ANOVA و مقایسه میانگین توکی-کرامر (Tukey-Kramer tests) تجزیه و تحلیل شدند. داده‌های عادی‌شده‌ای که شرط یکسانی واریانس‌ها در آن‌ها برقرار نبود به روش ناپارامتریک (ناپارامتریک) کروسکال-والیس (Kruskal-Wallis tests) تجزیه شدند و مقایسه میانگین‌ها به‌صورت دوجه‌دو از روش آزمون یو تست من-ویتنی (Mann-Whitney U) انجام شد. برای تعیین احتمال تشخیص ترکیب‌های مورد آزمایش توسط گیرنده‌های شاخکی در دو جنس نر و ماده، اثرگذاری شاهد (حلال) از پاسخ اصلی کسر شد و پاسخ‌های $0 <$ به‌عنوان وجود پاسخ و پاسخ‌های $0 \geq$ به‌عنوان نبود پاسخ در شاخک تعیین شد. جدول‌های توافقی بر پایه تعیین ارتباط بین جنسیت و ترکیب مورد آزمایش در نوع پاسخ (وجود و یا نبود پاسخ در شاخک) به ترتیب با آزمون فیشر (Fisher's Exact test) و پیرسون کای اسکوئر (Pearson Chi-Square) بررسی شد. در تعیین تأثیر عامل‌های مؤثر در میزان پاسخ الکتروفیزیولوژیکی (mV)، پس از کسر اثرگذاری شاهد داده‌ها در طرح کامل تصادفی با آزمون فاکتوریل سه متغیره مورد آزمایش [جنسیت، مرحله تولیدمثلی و تیمار (ترکیب دورکننده)] تجزیه شدند. همه آزمون‌ها با نرم‌افزار SPSS v.22 (Command Syntax Reference,) تجزیه شدند. (Chicago, Illinois: SPSS Inc.) انجام شد.

نتایج

نتایج به‌دست‌آمده از میزان دپلاریزیشن گیرنده‌های شاخکی تحت تأثیر ترکیب‌های دورکننده طبیعی روی شاخک حشرات نر و ماده مینوز گوجه‌فرنگی در دو مرحله تولیدمثلی (باکره و جفت‌شده) در شکل‌های ۱ و ۲ ارائه شده است. ترکیب‌های دورکننده پاسخ‌های معنی‌داری را در مقایسه با شاهد (حلال) و نیز کنترل مثبت (هوا) روی شاخک ماده‌های باکره ($P < 0.001$) و ($F_{(16,169)} = 2.95$) و جفت‌شده ($P < 0.001$) و ($F_{(16,169)} = 4.83$) ایجاد کرد (شکل ۱). تجزیه واریانس پاسخ‌های EAG به‌دست‌آمده از ترکیب‌های

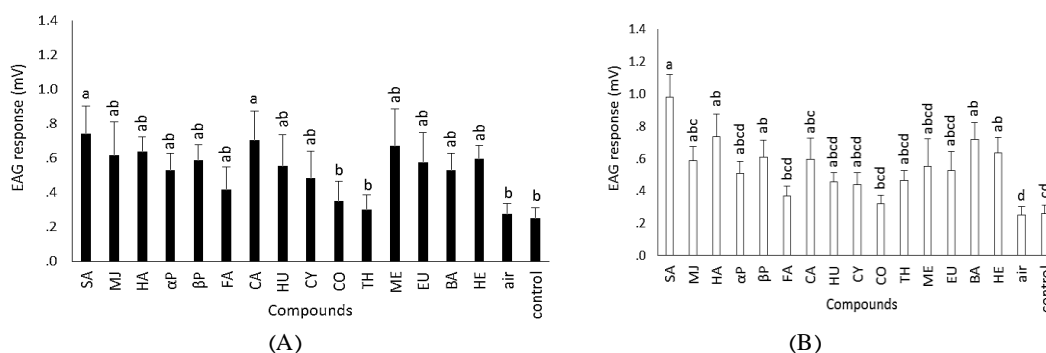
(-)- α -Menthol (ME), Eucalyptol (EU), (CA), pinene (α P) و Salicylic acid (SA) بیشترین پاسخ را در گیرنده‌های شاخکی ماده‌ها ایجاد کردند (شکل ۱). حشرات نر بیشتر به ترکیب‌های Menthol (-)-carvone (CA), Salicylic acid (SA) و (ME) (Z)-3-hexenyl acetate (HA) پاسخ داده‌اند (شکل ۲).

دورکننده روی شاخک حشرات نر باکره ($P < 0.001$) و نیز مقایسه‌های غیرپارامتریک (کروسکال والیس) در حشرات نر جفت‌شده ($P < 0.05$)، $F_{(16,16)} = 4.02$ ($\chi^2 = 28.81$, $df = 16$) بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار در مقایسه با شاهد است (شکل ۲). به لحاظ گروه‌بندی میانگین پاسخ الکتروفیزیولوژیکی گروهی از ترکیب‌های در سطوح بینابینی طبقه‌بندی شدند. ترکیب‌های Methyl jasmonate (MJ) (-)-carvone



شکل ۱. میانگین پاسخ الکتروفیزیولوژیکی شاخک حشرات ماده باکره (A) و جفت‌شده (B) *Tuta absoluta* به برخی از ترکیب‌های دورکننده طبیعی در مقایسه با شاهد (حلال) و کنترل مثبت (هوا) با استفاده از الکتروآنتنوگرام. حرف‌ها نشان‌دهنده مقایسه میانگین با استفاده از آزمون توکی-کرامر در سطح معنی‌داری ۵ درصد است.

Figure 1. Electrophysiological responses (mv) (Mean±SE) of virgin (A) and mated (B) female adults of *Tuta absoluta* to some natural repellent compounds in comparison with the control (solvent) and positive control (air) by using EAG. Means followed by different letters are significantly different in Tukey-Kramer test ($P < 0.05$). [Salicylic acid (SA), Methyl jasmonate (MJ), (Z)-3-hexenyl acetate (HA), (-)- α -pinene (α P), (R)-(+)- β -pinene (β P), (E,E)- α -farnesene (FA), (-)-carvone (CA), α -humulene (HU), β -Caryophellen (CY), Carvacrol (CO), Thymol (TH), Menthol (ME), Eucalyptol (EU), Benzyl alcohol (BA), Heptadecane (HE)]



شکل ۲. میانگین پاسخ الکتروفیزیولوژیکی شاخک حشرات نر باکره (A) و جفت‌شده (B) *Tuta absoluta* به برخی از ترکیب‌های دورکننده طبیعی در مقایسه با شاهد (حلال) و کنترل مثبت (هوا) با استفاده از الکتروآنتنوگرام. حرف‌ها نشان‌دهنده مقایسه میانگین با استفاده از آزمون توکی-کرامر (الف) و من-ویتنی (ب) در سطح معنی‌داری ۵ درصد است.

Figure 1. Electrophysiological responses (mv) (Mean±SE) of virgin (A) and mated (B) male adults of *Tuta absoluta* to some natural repellent compounds in comparison with control (solvent) and positive control (air) by using EAG. Means followed by different letters are significantly different by (A) Tukey-Kramer test and (B) Mann-Whitney U test ($P < 0.05$).

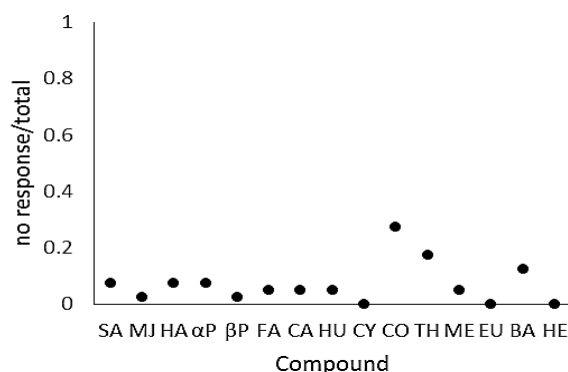
[Salicylic acid (SA), Methyl jasmonate (MJ), (Z)-3-hexenyl acetate (HA), (-)- α -pinene (α P), (R)-(+)- β -pinene (β P), (E,E)- α -farnesene (FA), (-)-carvone (CA), α -humulene (HU), β -Caryophellen (CY), Carvacrol (CO), Thymol (TH), Menthol (ME), Eucalyptol (EU), Benzyl alcohol (BA), Heptadecane (HE)]

تیمار (دورکننده) و در قالب طرح کامل تصادفی ارزیابی شد. تجزیه‌های آماری بیانگر تأثیر معنی‌دار ترکیب‌های دورکننده بر کمیت غیرقطبی شدن شاخکی بوده است (جدول ۱). همچنین وضعیت جفت‌گیری نرها و ماده‌ها و نیز جنسیت آن‌ها تأثیر معنی‌داری بر میزان پاسخ داشته است ($P < 0.05$) (جدول ۱). بالاترین میزان غیرقطبی شدن گیرنده‌های شاخکی در کل ترکیب‌های مورد آزمایش در حشرات کامل ماده جفت‌شده مشاهده شد که به‌طور میانگین پاسخ معادل 0.56 ± 0.03 mV بوده است (جدول ۲). اگرچه درزمینه اثر متقابل در هر سه متغیر در کنار هم هیچ تفاوت معنی‌داری به لحاظ آماری مشاهده نشد ($P > 0.05$) ولی بالاترین میزان پاسخ در حشرات ماده جفت‌گیری‌شده تحت تیمار با MJ (0.89 ± 0.12 mV) و ME (0.79 ± 0.13 mV) مشاهده شد و کمترین میزان مختص حشرات نر جفت‌گیری‌شده تحت تیمار با TH (0.08 ± 0.01 mV) بود.

مقایسه تأثیر ترکیب‌ها به لحاظ گروه‌های عاملی نشان داد که ترکیب (-)-carvone (CA) از گروه سسکوئوترپن‌ها بالاترین و دو ترکیب Methyl jasmonate (MJ) و Salicylic acid (SA) رتبه بعدی تحریک شاخکی را به‌عنوان ترکیب‌های دفاعی گیاهی روی شاخک حشرات کامل مینوز گوجه‌فرنگی داشته‌اند (شکل ۴).

با منظور داشتن اثرگذاری شاهد در تعیین رابطه میان دو متغیر جنسیت و ترکیب دورکننده بر نوع پاسخ (وجود و نبود پاسخ) آزمون جدول‌های توافقی انجام شد. آزمون پیرسون کای اسکویر نشان داد که نوع ترکیب‌ها می‌تواند در وجود و نبود پاسخ‌های شاخکی مؤثر باشد ($\chi^2_{14} = 47.01$, $P < 0.001$). همچنین درصد بی‌پاسخی (شمار شاخک‌های بدون پاسخ/کل شاخک‌ها) در گروه‌های مختلف محاسبه شد. بنابراین ترکیب Carvacrol (CO) با نسبت ۰/۲۷ درصد، رتبه نخست در نبود پاسخ در شاخک را به خود اختصاص داده است. ترکیب‌هایی همچون β -Caryophellen (CY) Eucalyptol (EU) و Heptadecane (HE) در همه موارد آزمون‌شده تحریک گیرنده‌های شاخکی را به دنبال داشته‌اند (شکل ۳).

آزمون فیشر، نشان داد، افزون بر نوع ترکیب، جنسیت پروانه مینوز نیز تأثیر معنی‌داری را بر نوع پاسخ دارد ($P < 0.05$) به‌طوری‌که میانگین بی‌پاسخی در نرها، ۹/۶۷ درصد از کل شمار شاخک‌های نر مورد آزمایش ($n=300$) و در ماده‌ها برابر با ۴/۳۳ درصد از کل حشرات ماده مورد آزمایش ($n=300$) بوده است. با توجه به اهمیت تأثیر ترکیب‌های دورکننده بر میزان کمی غیرقطبی شدن شاخکی، پاسخ الکتروفیزیولوژیکی حشرات، پس از کسر اثر شاهد به‌صورت آزمون فاکتوریل سه متغیره [جنسیت، مرحله تولیدمثلی و



شکل ۳. میزان نسبت شمار شاخک‌های بی‌پاسخ به شمار کل شاخک‌های مورد آزمایش حشرات کامل *Tuta absoluta* با منظور داشتن اثرگذاری شاهد (حلال) تحت تأثیر برخی ترکیب‌های طبیعی دورکننده با استفاده از الکتروآنتنوگرام.

Figure 3. Ratio of the frequency of no-responded antennae to total antennae of treated adults of *T. absoluta* without Control effect (solvent) under influence of some natural repellent compounds by using EAG. [Salicylic acid (SA), Methyl jasmonate (MJ), (Z)-3-hexenyl acetate (HA), (-)- α -pinene (α P), (R)-(+)- β -pinene (β P), (E,E)- α -farnesene (FA), (-)-carvone (CA), α -humulene (HU), β -Caryophellen (CY), Carvacrol (CO), Thymol (TH), Menthol (ME), Eucalyptol (EU), Benzyl alcohol (BA), Heptadecane (HE)]

جدول ۱. تجزیه واریانس تأثیر برخی از دورکننده‌ها و عامل‌های مؤثر بر میزان پاسخ الکتروفیزیولوژیکی شاخک حشرات کامل

Tuta absoluta

Table 1. ANOVA repellents and other effective factors on the amount of antennal electrophysiological response of *Tuta absoluta* adults

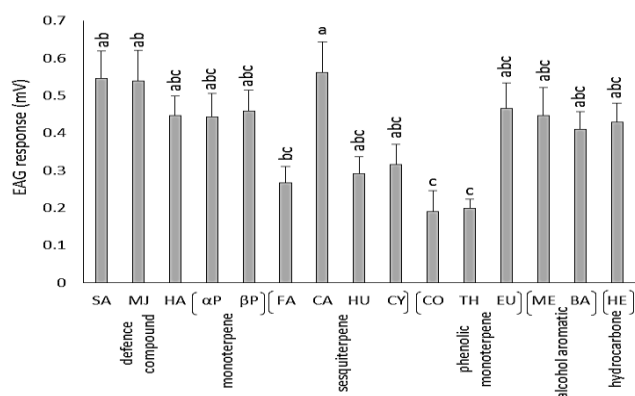
Sources	df	SS	MS	F	P
Treatment	14	8.10	0.58	4.01	p<0.001
Sex	1	4.44	4.44	30.82	p<0.001
Stages (Reproductive)	1	0.86	0.86	5.98	p=0.015
Sex × Stage	1	0.89	0.89	6.21	p=0.013
Treatment × Sex	14	2.77	2.77	1.37	p=0.161
Treatment × Stage	14	1.64	1.64	0.81	p=0.657
Treatment × Sex × Stage	14	1.15	1.15	0.57	p=0.890
Error	540	77.84	77.84		
Total	599	97.69	97.69		

جدول ۲. میانگین پاسخ الکتروفیزیولوژیکی (mV) حشرات کامل *Tuta absoluta* نسبت به برخی از ترکیب‌های دورکننده تحت

تأثیر جنسیت و مرحله تولیدمثلی

Table 2. The means of electrophysiological responses (mV) of *T. absoluta* adults to some repellent compounds under influence of sex and reproductive stages

Main Factors	Mean±SE (mV)	Interaction effects	Mean±SE (mV)
Sex	Male	(1)×(2)	Virgin male
	Female		Mated male
Reproductive Stages	Virgin		Virgin female
	Mated		Mated female



شکل ۴. میانگین تأثیر ترکیب‌های مختلف دورکننده از گروه‌های مختلف عاملی بر پاسخ الکتروفیزیولوژیکی شاخک حشرات کامل *Tuta absoluta* با منظور داشتن اثرگذاری شاهد (حلال) با استفاده از الکتروآنتنوگرام. حرف‌های نشان‌دهنده مقایسه میانگین با استفاده از آزمون توکی-کرامر در سطح معنی‌داری ۵ درصد است.

Figure 4. The efficacy of some repellent compounds among different functional groups on electrophysiological responses (mv) (Mean±SE) of *T. absoluta* adults without control effect (solvent) using EAG. Means followed by different letters are significantly different (Tukey-Kramer test $P<0.05$).

[Salicylic acide (SA), Methyl jasmonate (MJ), (Z)-3-hexenyl acetate (HA), (-)- α -pinene (α P), (R)-(+)- β -pinene (β P), (E,E)- α -farnesene (FA), (-)-carvone (CA), α -humulene (HU), β -Caryophellen (CY), Carvacrol (CO), Thymol (TH), Menthol (ME), Eucalyptol (EU), Benzyl alcohol (BA), Heptadecane (HE)]

هواحمل و دوربرد یاری می‌دهد (Santos da Silva *et al.*, 2015).

از سال ۱۹۵۵ استفاده از الکتروآنتنوگرام EAG در بررسی گیرنده‌های شیمیایی در شاخک پروانه‌ها مرسوم شد. از این روش برای شناسایی ترکیب‌های فرمون جنسی، ترکیب‌های فرار گیاهی میزبان و غیر میزبان در جهت انتخاب ترکیب‌های اصلی در جلب و دفع حشرات استفاده می‌شود (Floyd

بحث

شاخک در حشرات در حقیقت مملو از ساختارهای حسی چندگانه‌ای است که قابلیت دریافت محرک‌های بویایی، چشایی، مکانیکی، دمایی و غیره را دارد (Schneider, 1964). این اندام در حشرات به‌عنوان مهم‌ترین محل تمرکز دریافت‌کننده‌های ترکیب‌های بویایی، حشره را در تشخیص محرک‌های بویایی

بویایی^۳ تشکیل شده‌اند (Anton & Homberg, 1999). لب‌های شاخکی در نرهای پروانه‌ها از دو زیر سامانه بویایی به نام‌های توده کلافکی درشت (ماکرو، MGC)^۴ و کلافک‌های معمولی (OG)^۵ تشکیل شده‌اند. MGC به‌طور اختصاصی داده‌های مربوط به نرون‌های دریافت‌کننده فرمون جنسی را دریافت می‌کند، در حالی که بوهایی عمومی همچون ترکیب‌های فرار گیاهی توسط سامانه OG دریافت و تحلیل می‌شود (Koontz & Schneider, 1987; Hansson, 1995; Anton & Homberg, 1999). اگرچه نتایج برخی از تحقیقات اخیر به تأثیر بعضی از ترکیب‌های فرار گیاهی توأم با فرمون‌ها و همپوشانی دو سامانه اشاره شده در تلفیق آن‌ها دارد (Rouyar *et al.*, 2015). به نظر می‌رسد پاسخ شاخک پروانه مینوز به همه این ترکیب‌ها به دلیل تحریک گیرنده‌های عمومی در شاخک این حشره است. بنابر نتایج به دست آمده در این تحقیق ترکیب‌هایی همچون Methyl jasmonate، (-)-carvone، Salicylic acide، (-)- α -pinene، Menthol، Eucalyptol، Menthol، (Z)-3-hexenyl acetate، (E,E)- α -farnesene، Benzyl alcohol و Heptadecane در مقایسه با دیگر ترکیب‌ها پاسخ الکتروفیزیولوژیکی بیشتری داشته‌اند (شکل‌های ۱ و ۲). بخشی از ترکیب‌های مورد اشاره جزو اجزاء موجود در اسانس‌های گیاهی هستند. اسانس‌های گیاهی با ظرفیت بالای تخم‌کشی، ضد تغذیه‌ای، اختلال در رشد و نمو، دورکنندگی و حتی حشره‌کشی در برابر بسیاری آفات مطرح است که از مخلوطی از ترکیب‌هایی همچون فنول‌ها، ترپنویید و آلکالوئید هستند (Isman, 2006). گروهی از این ترکیب‌ها با نوع پاسخی که در اندام حسی حشرات ایجاد می‌کنند می‌توانند تأثیر دورکننده یا جلب‌کننده داشته باشند (Isman, 2006). بسیاری از ترکیب‌های دفاعی گیاه از جمله Methyl salicylate، Methyl jasmonate، (Z)-3-hexenyl acetate و Caryophyllene و گروهی از ترپنوییدهای همچون Farnesene در پی آسیب آفت تولید می‌شوند و ضمن

(*et al.*, 1975). در بررسی‌های اخیر، کاربرد فناوری EAG و GC-EAD^۱ برای غربال‌سازی مؤثرترین ترکیب‌های شیمیایی در بین ترکیب‌های مورد آزمایش و یا مخلوطی از ترکیب‌های فرار گیاهی ساطع شده از گیاه میزبان و غیر میزبان و یا اسانس‌های مستخرج از آن‌ها، جایگاه ویژه‌ای را به خود اختصاص داده است (Beck *et al.*, 2014; Santos da Silva *et al.*, 2015; Uniyal *et al.*, 2015). در این زمینه می‌توان با تکیه بر میزان پاسخ الکتروفیزیولوژیکی، مؤثرترین ترکیب را در بین مجموعه کثیری از ترکیب‌های شیمیایی شناسایی کرد و از حجم آزمایش‌های زیست‌سنجی رفتاری و صحرایی در مورد همه ترکیب‌های نامزد منتخب کاست. اگرچه کاربرد روش الکتروآنتنوگرام بیشتر محدود به بررسی احتمال پاسخ گیرنده‌های شاخکی نسبت به ترکیب‌های جلب‌کننده میزبان بوده است (Fraser *et al.*, 2003; Beck *et al.*, 2014). ولیکن پژوهش‌های محدودی در زمینه امکان استفاده از آن در ارزیابی ترکیب‌های دورکننده انجام شده است (Floyd *et al.*, 1975; Yang *et al.*, 2009; Santos da Silva *et al.*, 2015). در این بررسی مشخص شد که همه ترکیب‌های دورکننده مورد آزمایش در دامنه‌ای از پاسخ توسط گیرنده‌های شاخکی هر دو جنس نر و ماده *T. absoluta* قابل شناسایی هستند و در مقایسه با شاهد پاسخ معنی‌داری را در پی داشته است (شکل‌های ۱ و ۲). علت بروز پاسخ به همه ترکیب‌های مورد آزمون می‌تواند دلایل مختلفی داشته باشد. اول در انتخاب ترکیب‌ها به گونه‌ای عمل شده است که همه آن‌ها سابقه اثرگذاری دورکنندگی را روی دیگر حشرات داشته‌اند. دلیل دوم آن است که کسب عنوان دورکنندگی روی حشرات متعدد به دلیل وجود محل‌های تأثیر مشترک که همان گیرنده‌های عمومی موجود روی شاخک بوده، است. بنا بر داده‌های موجود در حشرات داده‌های بویایی توسط نرون‌های گیرنده‌های بویایی شاخکی (ORNs)^۲، در آغاز در لب‌های شاخکی (Antennal Lobs: ALs) تلفیق می‌شود. ALs خود از زیرواحدهایی به نام کلافک‌های

3. Olfactory glomeroli
4. Macro Glomerular Complex
5. Ordinary Glomeruli

1. Gas Chromatography-Electroantennogram
2. Olfactory Receptor Neurons

Halawani, 2014). نتایج بررسی‌های الکتروفیزبولوژیکی با GC-EAD نشان داد، شاخک پشه *A. aegypti* تحت تأثیر دو ترکیب β -caryophyllene و α -humulene غیرقطبی شدن شاخکی را در پی داشته و نیز به‌عنوان بازدارنده تولیدمثلی عمل می‌کنند (Santos da Silva *et al.*, 2015). همه این موارد گویای آن است که گیرنده‌های شیمیایی نسبت به ترکیب‌های مورد آزمایش واکنش داشته‌اند که در نهایت پاسخ رفتاری حشره را ایجاد کرده است. در این بررسی نیز نتایج گویای قابلیت تحریکی ترکیب‌های دورکننده استفاده‌شده روی گیرنده‌های شاخکی پروانه مینوز گوجه‌فرنگی است همان‌گونه که محققان در نتایج بررسی‌های خود گزارش کرده‌اند از هشت گروه اندام حسی موجود روی شاخک حشرات نر و ماده *T. absoluta*، پنج گروه آن‌ها شامل اندام‌های حسی Chaetica، Basiconica، Auricillica، Coeloconica و Trichodea به‌عنوان گیرنده‌های شیمیایی و بویایی در هر دو جنس مطرح هستند (Bawin *et al.*, 2017) که می‌تواند پاسخ شاخکی را ایجاد کنند.

در تعیین رابطه بین ترکیب دورکننده بر نوع پاسخ (وجود و نبود پاسخ)، مشخص شد که ترکیب‌هایی همچون β -Caryophellen، Eucalyptol و Heptadecane در همه موارد آزمایش‌شده، تحریک گیرنده‌های شاخکی را در حشرات کامل به دنبال داشته‌اند (شکل ۳). شاید بتوان در این مورد بر اثرگذاری مستقیم این ترکیب‌ها بر مینوز گوجه‌فرنگی و یا گونه‌هایی نزدیک به آن اشاره داشت. نتایج پژوهش‌ها نشان داده است، ترکیب Heptadecane یکی از ۹ هیدروکربنی است که در ایجاد مقاومت گیاه گوجه‌فرنگی به *T. absoluta* و کاهش شمار و طول دوره لاروی روی برگ به دلیل کاهش در شمار و درصد زنده‌مانی تخم نقش داشته است (Oliveira *et al.*, 2014; Shawir *et al.*, 2009). نتایج به‌دست‌آمده از بررسی ترکیب‌های فرار از سطح برگ‌های سه رقم زراعی (کولتیوار) از گیاه گوجه‌فرنگی به‌عنوان گیاه میزبان، وجود ترکیب β -Caryophellen را در آن ثابت کرد (Proffit *et al.*, 2011). البته لازم به یادآوری است این ترکیب از ترکیب‌های اصلی گیاهان

جلب دشمنان طبیعی خاصیت دورکنندگی برای بسیاری از آفات راسته بال‌پولکداران دارند (War *et al.*, 2011). همان‌طور که اشاره شد ترکیب‌های مورد آزمایش سابقه تأثیر بر دیگر حشرات را داشته‌اند. در بررسی‌های پیشین از اثرگذاری دورکنندگی گروهی از اسانس‌های گیاهی روی حشرات مختلف گزارش شده است که دلیل اصلی خواص اسانس‌های مورد آزمایش را به مهم‌ترین ترکیب‌های موجود در آن اسانس نسبت داده‌اند که توسط حشره قابل شناسایی و ردیابی هستند (Santos *et al.*, 2015). خواص دورکنندگی Eucalyptol و Menthol به‌عنوان یکی از ترکیب‌های مؤثر در اسانس گیاه اکالیپتوس (Özel *et al.*, 2008; Yin *et al.*, 2014) و نعناع فلفلی (Scavroni *et al.*, 2012; Vivek *et al.*, 2010; Saharkhiz *et al.*, 2005) به اثبات رسیده است. ترکیب α -pinene یکی از منوترین‌های موجود در گیاهان دورکننده همچون اکالیپتوس، آویشن شیرازی و مرزنگوش است که به‌شدت سبب دفع سوسک *Hylurgops palliatus* Gyllenhal. (Col.: Curculionidae) می‌شود (Debboun *et al.*, 2006; Özel *et al.*, 2008; Abtew *et al.*, 2015; Sebei *et al.*, 2015). فعالیت حشره‌کشی و دورکنندگی عصاره و اسانس استخراج‌شده از برگ‌های گیاه *Pelargonium hortorum* روی *Spodoptera littoralis* Bois. (Lep.: Noctoidae) به اثبات رسیده است که ترکیب Heptadecane از ترکیب‌های اصلی آن است (Frag *et al.*, 2012). وجود ترکیب Benzyl alcohol در گیاهانی همچون رازیانه، میخک و اکالیپتوس خاصیت دفع‌کنندگی را به همراه داشته است (Reddy & Guerrero, 2004; Yang *et al.*, 2009; Abdelkader & Halawani, 2014). از دیگر دورکننده‌ها می‌توان به گیاه سیاه‌دانه اشاره کرد، زیرا ترکیب‌هایی همچون Thymol، α -pinene و β -pinene دارند (Sarwar & Latif, 2015) که سبب دفع *T. absoluta* می‌شود (Adil *et al.*, 2015). (E) - β -caryophyllene مهم‌ترین ترکیب فلفل سیاه و میخک افزون بر خواص ضد میکروبی خود همراه با چندین گیاه دیگر از جمله اکالیپتوس و آویشن سبب دفع تریپس *M. sjostedti* می‌شود (Abdelkader &

است (Bawin *et al.*, 2017) که البته بیانگر وجود گیرنده‌های فرمونی است که به‌طور معمول در نرها بیشتر از ماده‌هاست ولیکن گیرنده‌های عمومی که در اصل دیگر بوهای غیر فرمونی را درک کرده و داده‌های مربوطه را به OG منتقل می‌کنند، به‌احتمال زیاد فراوانی بیشتری را در ماده‌ها دارند (Koontz & Schneider, 1987; Hansson, 1995; Anton & Homberg, 1999).

نتایج این بررسی نشان‌دهنده پاسخ الکتروفیزیولوژیکی قوی‌تر در حشرات ماده بوده است (جدول ۲). از آنجاکه توزیع و فراوانی در هر یک از هشت نوع اندام حسی شناخته‌شده در حشرات کامل *T. absoluta* در هر دو جنس متفاوت است (Bawin *et al.*, 2017) لذا پاسخ به این پرسش که کدام یک از گیرنده‌ها حساسیت بیشتری را نسبت به ترکیب‌های دورکننده داشته و چه فراوانی را در دو جنس دارند منوط به اجرا روش ثبت پاسخ یاخته‌های گیرنده به‌صورت تکی (SSR)^۱ است. در این تحقیق از EAG برای ارزیابی امکان ثبت پاسخ گیرنده‌های شاخکی نسبت به دورکننده‌ها بهره‌گیری شد و این در حالی است که هر پالس عصبی (سیگنالی) که در این روش ثبت می‌شود محصول واکنش مجموع دپلاریزیشن گیرنده‌هاست (Kaissling, 1995) درحالی‌که میزان پتانسیل عمل^۲ و تحریک یک گیرنده تنها هنگامی ارزیابی می‌شود که روی یک گیرنده و با استفاده از روش SSR بهره‌گیری شود (Barroza *et al.*, 2011). اگرچه لازم به یادآوری است که بنابر نتایج به‌دست‌آمده از اسکن شاخک حشرات کامل مینوز گوجه‌فرنگی، به‌رغم تفاوت موجود در اندام حسی *Trichodea* که در شاخک نرها بیشتر است، اندام‌های حسی مربوط به دریافت بوهای مربوط به گیاه مانند *Basiconica* و *Chaetica* به‌طور معنی‌داری در شاخک حشرات ماده بیشتر است (Bawin *et al.*, 2017). اگرچه گروهی دیگر از اندام‌های حسی غیر فرمونی، اندام حسی *Cheloconica* که مسئول دریافت ترکیب‌های GLV، منوترپن‌ها، الکل‌ها و ترکیب‌های خوشبو

دورکننده این آفت نیز به‌شمار می‌آید. اسانس گیاه میخک با تأثیر دورکنندگی روی مینوز گوجه‌فرنگی (Ebadah *et al.*, 2016) و توانایی کنترل آسیب با کاهش دالان‌های ایجادشده در برگ و نیز کاهش جمعیت لاروی (Derbalah *et al.*, 2012)، ترکیب β -Caryophyllene دارد (Derbalah *et al.*, 2012; Abdelkader & Halawani, 2014). این موارد بیانگر توجهی در حساسیت بیشتر گیرنده‌های شاخکی مینوز گوجه‌فرنگی به این ترکیب است. اگرچه در دفع مینوز گوجه‌فرنگی توسط ترکیب اکالیپتول داده‌هایی در دست نیست اما نتایج تحقیقات پیشین گویای آن است که استفاده از پودر برگ گیاه اکالیپتوس سبب دفع گونه‌ای نزدیک به آن، شب‌پره بید سیب‌زمینی *Phthorimaea operculella* Zeller. (Lep. Gelechiidae) و کاهش میزان آسیب را در انبار به دنبال داشته است (Ibrahim & Sisay, 2011). همچنین Faraji *et al.* (2014) در نتایج بررسی خود تأثیر بازدارندگی تولیدمثلی اسانس و پودر چندین گیاه از جمله آویشن شیرازی را روی بید سیب‌زمینی اثبات کردند که وجود ترکیب‌های β -Caryophyllene, Eucalyptol, Thymol و همچنین α, β -Pinene و Carvone در آن محرز است (Ibrahimi *et al.*, 2013; Gong *et al.*, 2014).

نتایج به‌دست‌آمده از تجزیه واریانس با کسر اثرگذاری شاهد نشان داد، پاسخ در حشرات ماده بیشتر از حشرات نر بوده است (جدول ۲). تفاوت پاسخ بین دو جنس نر و ماده می‌تواند به دلیل احتمالی حساسیت بیشتر نرون‌های گیرنده بویایی به ترکیب‌های گیاهی روی شاخک ماده‌ها در مقایسه با نرها در برخی از شب‌پره‌ها باشد (Szendrei & Rodriguez-Saona, 2010). تحریک بویایی شدید در حقیقت میزان غیرقطبی شدن بالا الکتروآنتن‌گرامی را نشان می‌دهد که بیانگر وجود شمار بالای گیرنده‌های بویایی روی شاخک و یا حساسیت آن‌ها به ترکیب مورد آزمایش است (Yang *et al.*, 2009). البته این مورد به ظاهر در تضاد با نتایج به‌دست‌آمده از دو شکلی جنسی از نظر شمار و توزیع اندام‌های حسی روی شاخک *T. absoluta* است. چراکه فراوانی آن در شاخک حشرات نر دو برابر حشرات ماده گزارش شده

1. Single Sensillum Recording
2. Action potential

هستند، در شاخک حشرات نر و ماده تا حدودی به صورت یکسان وجود دارند (Bawin *et al.*, 2017) که سبب پاسخ شاخکی در هر دو جنس حشرات کامل *T. absoluta* می شود. در مورد تأثیر مرحله تولیدمثلی، نتایج در سازگاری با بررسی های پیشین، میزان پاسخ بیشتری در حشرات جفت شده در مقایسه با حشرات باکره بروز کرده است (Faser *et al.*, 2003) (جدول ۲). بسیاری از عامل ها مانند مراحل فیزیولوژیکی و تولیدمثلی همچون جفت گیری، تلقیح و ایجاد تخم و نیز مراحل تخم ریزی می تواند بر میزان پاسخ به ترکیب های فرار اثرگذار باشد (Masante-Roca *et al.*, 2011; Proffit *et al.*, 2007). در اصل موجودهای زنده در طول زندگی تغییر رفتاری متفاوتی را از خود نشان می دهند که یکی از این تغییرهای رفتاری همان وضعیت جفت گیری آنهاست به طور مثال در پروانه *Agrotis ipsilon* Hufnagel. (Lep.: Noctuidae) پس از انجام جفت گیری در یک مقطع زمانی گذرا رفتار بی پاسخی نسبت به فرمون جنسی مشاهده می شود به عبارت دیگر رفتار پاسخ به فرمون و نیز پاسخ سامانه عصبی مرکزی به فرمون جنسی مهار می شود (Gadenne *et al.*, 2001; Berroza *et al.*, 2010 a,b). همچنین بروز رفتار پرواز جهت گیری به سمت منبع فرمون در تونل باد متوقف می شود در حالی که پاسخ EAG به فرمون بی درنگ پس از جفت گیری مثبت است. این در حالی است که نرون های لب شاخکی (AL) حساسیت شان پس از جفت گیری افت شدیدی می کند اگرچه فاصله زمانی یک شب باعث برگشت به حالت اولیه می شود. این داده ها بیانگر آن است که گیرنده های شاخکی نقش هدایت پیام ها را کماکان پس از جفت گیری انجام می دهند ولیکن مراکز عصبی دریافت کننده داده ها به آستانه تحلیل نمی رسند. در نتایج تحقیقی دیگر مشاهده شده است که آستانه پاسخ نرون های OG به ترکیب های فرار گیاهی در حشرات باکره و جفت شده پروانه *A. ipsilon* (Barroza *et al.*, 2010a) و پروانه خوشه خوار انگور *Lobesia botrana* (Masante-Roca *et al.*, 2002) همسان بوده است. نتایج تحقیقات دیگری نشان داده است که در نرهای *A. ipsilon* وضعیت جفت گیری تأثیر زیادی بر پاسخ گیرنده های عمومی به بوی میزبان گیاهی نداشته است

(Barroza *et al.*, 2011). محققان دیگری نیز تغییرپذیری فیزیولوژیکی همچون وضعیت جفت گیری را دلیل بر تفاوت در سطح پاسخ رفتاری و عصبی حشرات نر و ماده نسبت به ترکیب های بویایی فرمونی و گیاهی دانسته اند (Anton *et al.*, 2007; Proffit *et al.*, 2011). در حشرات ماده *S. littoralis* در ساعاتی پس از جفت گیری حشرات ماده به ترکیب های گیاه میزبان بیشتر از بوهای گل که برای حشرات باکره جلب کننده است، پاسخ نشان می دهند اگرچه رفتار جلب به ترکیب های بوی گل ها پس از ۲۴ ساعت از زمان جفت گیری دوباره تشدید می یابد (Saveer *et al.*, 2012). اگرچه در حشرات نر، وضعیت تولیدمثلی بر میزان پاسخ به ترکیب های فرمون جنسی و ترکیب های فرار گیاهی اثرگذار است اما این تغییر حساسیت نسبت به بوهای گل مشاهده نشد (Kromann, 2012). گروهی از محققان بر این باورند که ایجاد تفاوت حساسیت در تغییرپذیری های فیزیولوژیکی و تولیدمثلی مربوط به سامانه عصبی محیطی نیست، بلکه تفاوت حساسیت در نرون های بینابینی در لوب شاخکی در قسمت سامانه عصبی مرکزی رخ می دهد که می تواند تحت تأثیر هرمون جوانی در درازمدت و یا بی درنگ پس از جفت گیری به دست آید (Anton *et al.*, 2007). اگرچه در بررسی های دیگری تغییر همسان در پاسخ الکتروفیزیولوژیکی سامانه عصبی محیطی نیز در کنار تغییر حساسیت در لوب شاخکی بر پایه شرایط فیزیولوژیکی متفاوت گزارش شده است (Kromann, 2012).

شکل ۴ نشان می دهد که از بین همه ترکیب های مورد آزمایش، حشرات کامل مینوز گوجه فرنگی بالاترین پاسخ را به ترکیب Carvone (-) از گروه سسکوئنی ترپن ها نشان داده اند و در سطوح بعدی دو ترکیب Salicylic acid و Methyl jasmonate از گروه هورمون های گیاهی و HIPVs قرار دارند. نتایج بررسی های پاسخ گیرنده های شیمیایی شاخکی در *Amyelois transitella* Walker. (Lep.: Pyralidae) نشان داد، بر پایه ارتباط کمی بین ساختمان و عمل (QSAR)^۱ وجود گروه های عاملی و زیرواحدهای

Schlyter *et al.* (Linnaeus, Col.: Curculionidae) دارد (۲۰۰۷). در نتایج تحقیقات انجام‌شده در سال ۲۰۰۷ مشخص شد، مخلوط دو مونوترپن Carvone و Limonen به نسبتی که در اسانس زیره سیاه وجود دارد بالاترین تأثیر دورکنندگی بر شپشه برنج، *Sitophilus oryzae* (Col. Curculionidae) را دارند (Yoon *et al.*, 2007). همچنین کاربرد این دو ترکیب در نسبت ۱:۱، دفع حشرات ماده و کاهش میزان تخم‌ریزی را در پروانه پشت الماسی در پی داشته است (Ibrahim *et al.*, 2005). نتایج بررسی‌های GC-EAD نشان داد، اسانس روغنی زیره سیاه و میخک روی گیرنده‌های شاخکی سن لوبیا، *R. clavatus* اثر گذاشته و پاسخ الکتروفیزیولوژیکی را ایجاد می‌کند که از مؤثرترین ترکیب‌های دورکننده آن‌ها می‌توان به Carvone اشاره کرد (Yang *et al.*, 2009). گروهی از ترکیب‌های گیاهی مانند HIPVs و ترپنوئیدها به دلیل وزن مولکولی پایین، خاصیت چربی‌دوستی و فشار بخار بالا در دمای محیط، می‌توانند به‌عنوان نامزدهای مناسبی در جهت کنترل رفتاری حشرات مطرح باشند (Raghava *et al.*, 2009). نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق سه ترکیب طبیعی متعلق به این گروه را به‌عنوان نامزدی دورکننده مناسب مدیریت حشرات کامل مینوز گوجه‌فرنگی ارائه می‌دهد که می‌توانند در کنترل رفتاری بر پایه پوشاندن (Masking) و اختلال در جلب به ترکیب‌های بویایی گیاه میزبان و روش کنترلی کشش و رانش در بحث مدیریت تلفیقی این آفت اهمیت دارد (Hardie *et al.*, 1994; Blackwell *et al.*, 1997; Reddy & Guerrero, 2010).

مختلف در ترکیب‌های، ساختارهای متفاوتی را ایجاد می‌کند که می‌توانند بر پایه سازگاری با گیرنده، در نهایت عملکرد و حساسیت متفاوت در گیرنده‌های شیمیایی موجود به وجود آورد (Floyd *et al.*, 1975; Beck *et al.*, 2014). به‌عنوان مثال، شاخک حشرات ماده *Manduca sexta* Linnaeus. (Lep.; Sphingidae) پاسخ الکتروفیزیولوژیکی قوی‌تری به ترکیب‌های ترپنوئیدها و نیز استرهای آلیفاتیک و خوشبو دارد (Fraser *et al.*, 2003). حشرات کامل *T. absoluta* بالاترین حساسیت را به این سه ترکیب دارد که در نتایج تحقیقات پیشین تأثیر آن‌ها بر گروهی از حشرات به اثبات رسیده است. متیل سالیسیلات و متیل جاسمونات به‌عنوان یکی از ترکیب‌های متداول به تنهایی و یا در کنار دیگر ترکیب‌های فرار گیاهی سبب دفاع غیرمستقیم گیاه می‌شود و در گیاهان آلوده سویا، لوبیا و گوجه‌فرنگی یافت می‌شوند (War *et al.*, 2011). بررسی پاسخ الکتروفیزیولوژیکی و رفتاری روی حشرات ماده *C. impunctatus*، مشخص کرد که برخی ترکیب‌های دورکننده طبیعی همچون Methyl salicylate و مشتقات ایزوتیوسیانات توسط حشره درک می‌شود و می‌تواند میزان جلب به ترکیب جلب‌کننده اصلی گیاه میزبان را کاهش دهند (Blackwell *et al.*, 1997). اثرگذاری بازدارندگی تغذیه‌ای و دورکنندگی (+)-carvone (S) به‌عنوان یک ترکیب مهم در زیره سیاه و آویشن کوهی روی پروانه سفیده بزرگ کلم، *Pieris brassicae* (L.) (Lep.: Pieridae) تأیید شده است (Kordan & Gabryś, 2013). دو ایزومر نوری (S), (R)-Carvone به‌عنوان ترکیب اصلی زیره سیاه اثر دورکننده روی سرخرطومی *Hylobius abietis*

REFERENCES

1. Abdelkader, H. S. & Halawani, E. N. (2014). GC-MS analysis and antimicrobial activity of *Dianthus caryophyllus* extracts from Taif, Saudi Arabia. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 5, 389-401.
2. Abtew, A., Subramanian, S., Cheseto, X., Kreiter, S., Garzia, G. T. & Martin, T. (2015). Repellency of plant extracts against the legume flower thrips *Megalurothrips sjostedti* (Thysanoptera: Thripidae). *Insects*, 6, 608-625.
3. Adil, B., Tarik, A., Kribii, A. & Ounine, K. (2015). The study of the insecticidal effect of *Nigella sativa* essential oil against *Tuta absoluta* larvae. *International Journal of Scientific and Thechnology Research*, 4, 88-90.
4. Anastasaki, E., Balayannis, G., Papanikolaou, N. E., Michaelakis, A. N. & Milonas, P. G. (2015). Oviposition induced volatiles in tomato plants. *Phytochemistry Letters*, 13, 262-266.

5. Anton, S., Dufour, M. C. & Gadenne, Ch. (2007). Plasticity of olfactory-guided behaviour and its neurobiological basis: lessons from moths and locusts. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 123, 1-11.
6. Anton, S. & Homberg, U. (1999). *Antennal lobe structure*. Insect olfaction. Edited by Hansson, B.S., Springer, Berlin. pp 98-125.
7. Ashitani, T., Garboui, S. S., Schubert, F., Vongsombath, C., Liblikas, I., Pålsson, P. & Borg-Karlson, A. K. (2015). Activity studies of sesquiterpene oxides and sulfides from the plant *Hyptis suaveolens* (Lamiaceae) and its repellency on *Ixodes ricinus* (Acari: Ixodidae). *Experimental and Applied Acarology*, 67, 595-606.
8. Barrozo, R. B., Jarriault, D., Deisig, N., Gemeno, C., Monsemper, C., Lucas, P., Gadenne, C. & Anton, S. (2011). Mating-induced differential coding of plant odour and sex pheromone in a male moth. *European Journal of Neuroscience*, 33, 1841-1850.
9. Barrozo, R. B., Gadenne, C. & Anton, S. (2010a). Switching from attraction to inhibition: mating-induced reversed role of sex pheromone in an insect. *Journal of Experimental Biology*, 213, 2933-2939.
10. Barrozo, R.B., Jarriault, D., Simeone, X., Gaertner, C., Gadenne, C. & Anton, S. (2010b). Mating-induced transient inhibition of responses to sex pheromone in a male moth is not mediated by octopamine or serotonin. *Journal of Experimental Biology*, 213, 1100-1106.
11. Bawin, T., Collard, F., Backer, L. D., Yarou, B. B, Compère, P., Francis, F. & Verheggen, F. J. (2017). Structure and distribution of the sensilla on the antennae of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Micron*, 96, 16-28.
12. Bawin, T., De Backer, L., Dujeu, D., Legrand, P., Caparros Megido, R., Francis, F. & Verheggen, F. (2014). Infestation level influences oviposition site selection in the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Insects*, 5, 877-884.
13. Beck, J. J., Light, D. M. & Gee, S. W. (2014). Electrophysiological responses of male and female *Amyelois transitella* antennae to pistachio and almond host plant volatiles. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 153, 217-230.
14. Blackwell, A., Wadhams, L. J. & Mordue, W. (1997). Electrophysiological and behavioural studies of the biting midge, *Culicoides impunctatus* Goetghebuer. (Diptera, Ceratopogonidae): interactions between some plant-derived repellent compounds and a host-odour attractant, 1-octen-3-01. *Physiological Entomology*, 22, 102-108.
15. Cardé, T. R & Millar, G. J. (2004). *Advances in insect chemical ecology*. Cambridge University Press, New York. 275pp.
16. Debboun, M., Frances, P. S. & Strickman, D. (2006). *Insect repellents, principles, methods and uses*. Taylor and Francis Group. New York. 345pp.
17. Derbalah, A. S., Morsey, S. Z. & El-Samahy, M. (2012). Some recent approaches to control *Tuta absoluta* in tomato under greenhouse conditions. *African Entomology*, 20, 27-34.
18. Ebadah, I. M., Shalaby, S. E. M. & Moawad, S. S. (2016). Impact of certain natural plant oils and chemical insecticides against tomato insect pests. *Journal of Entomology*, 13, 84-90.
19. Eftekhari, F., Zamani, S., Yusefzadi, M., Hadian, J. & Nejad Ebrahimi, S. (2011). Antibacterial activity of *Zataria multiflora* Boiss essential oil against extended spectrum β lactamase produced by urinary isolates of *Klebsiella pneumonia*. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 4, 43-49.
20. EPPO: European and Mediterranean Plant Protection Organization. (2005). Data sheets on quarantine pests: *Tuta absoluta*. *EPPO Bulletin*, 35, 434-435.
21. Farag, M., Ahmed, M. H. M., Yousef, H., El-badawey, S. S., El-Ghany, M. A. A. & Abdel-Rahman, A. A. H. (2012). Repellent and insecticide activity of *Pelargonium x hortorum* against *Spodoptera littoralis* (Boisd.). *Zeitschrift für Naturforschung*, 67, 398-404.
22. Faraji, Z., Serailoo, M. H. & Salehi, L. (2014). The effect of essential oils and powders of the three plant species *Zattaria multiflora*, *Myrtus comminus* and *Heracleum persicum* on rate of oviposition of potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Lep: Gelechiidae). *Journal of Entomological Research*, 7, 171-180. (in Farsi)
23. Floyd, M. A., Evans, D. A. & Howse, P. E. (1976). Electrophysiological and behavioural studies on naturally occurring repellents to *Reticulitermes lucifugus*. *Journal of Insect Physiology*, 22, 697-701.
24. Fraser, A. M., Mechaber, W. L. & Hildebrand, J. G. (2003). Electroantennographic and behavioral responses of the sphinx moth *Manduca sexta* to host plant headspace volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, 29, 1813-1833.
25. Garboui, S. S., Jaenson, T. G. T., Borg-Karlson, A. K. & Pålsson, K. (2007). Repellency of methyl jasmonate to *Ixodes ricinus* nymphs (Acari: Ixodidae). *Experimental and Applied Acarology*, 42, 209-215.
26. Gadenne, C., Dufour, M.C. & Anton, S. (2001). Transient post-mating inhibition of behavioural and central nervous responses to sex pheromone in an insect. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, 268, 1631-1635.

27. Gong, H. Y., Liu, W. H., Lv, G. Y. & Zhou, X. (2014). Analysis of essential oils of *Origanum vulgare* from six production areas of China and Pakistan. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 24, 25-32.
28. Hamzavi, F., Moharramipour, S. & Talebi, A. A. (2014). Repellent activity and persistence of essential oils from *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. and *Callistemon viminalis* (Gaertn.) G. Don on some species of stored-product beetles. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 30, 332-341.
29. Hansson, B.S. (1995). Olfaction in Lepidoptera. *Experientia*, 51, 1003-1027.
30. Hardie, J., Isaacs, R., Pickett, J. A., Wadhams, L. J. & Woodcock, C. M. (1994). Methyl salicylate and (-)-(1R,5S)-myrtenal are plant-derived repellents for black bean aphid, *Aphis fabae* Scop. (Homoptera: Aphididae). *Journal of Chemical Ecology*, 20, 2847-2855.
31. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. (2012). Armonk, NY: IBM Corp. Command Syntax Reference, Chicago, Illinois: SPSS Inc.
32. Ibrahim, M., Nissinen, A. & Holopainen, J. K. (2005). Response of *Plutella xylostella* and its parasitoid *Cotesia plutellae* to volatile compounds. *Journal of Chemical Ecology*, 31, 1969-1984.
33. Ibrahim, A. & Sisay, A. (2011). Evaluation of some botanicals to control potato tuber moth *Phthoromaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae) at Bako, West Shoa, Ethiopia. *East African Journal of Sciences*, 5, 37-40.
34. Ibrahim, M. H., Papajani, V., Čavar, S. & Matevski, V. (2013). GC/MS analysis of the essential oil of *Thymus longicaulis* Presl. from Kosovo. *Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina*, 41, 6-10.
35. Isman, M. B. (2006). Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology*, 51, 45-66.
36. Kaissling, K. E. (1987). *R.H. Wright lectures on insect olfaction*. Burna by (Canada): Simon Fraser University.
37. Kaissling, K. E. (1995). *Single unit and electroantennogram recordings in insect olfactory organs*. Experimental cell biology of taste and olfaction: Current techniques and protocols. Edited by Spielman, E. I. & Brand, J.G., CRC Press, Boca Raton, FL. pp. 361-376.
38. Koontz, M. A. & Schneider, D. (1987). Sexual dimorphism in neuronal projections from the antennae of silkmoths (*Bombyx mori*, *Antheraea polyphemus*) and the gypsy moth (*Lymantria dispar*). *Cell Tissue Research*, 249, 39-50.
39. Kordan, B. & Gabryś B. (2013). Feeding deterrent activity of natural monoterpenoids against larvae of the large white butterfly *Pieris brassicae* (L). *Polish Journal of Natural Science*, 28, 63-69.
40. Kromann, A. S. H. (2012). Modulation of olfactory information in the antennal lobe of *Spodoptera littoralis*. *Chemica Ecology Unit, Department of Plant Protection Biology, Swedish University of Agricultural Sciences, Sweden, PhD-thesis ISBN 978-91-576-7707-5*
41. Lee, M. S., Albajes, R. & Eizaguirre, M. (2014). Mating behaviour of female *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae): polyandry increases reproductive output. *Journal of Pest Science*, 87, 429-439.
42. Lietti, M. M., Botto, E. & Alzogaray, R. A. (2005). Insecticide resistance in argentine populations of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Neotropical Entomology* 34, 113-19.
43. Masante-Roca, I., Anton, S., Delbac, L., Dufour, M. C. & Gadenne, C. (2007). Attraction of the grapevine moth to host and non-host plant parts in the wind tunnel: effects of plant phenology, sex and mating status. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 122, 239-245.
44. Masante-Roca, I., Gadenne, C. & Anton, S. (2002). Plant odour processing in the antennal lobe of male and female grapevine moths, *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). *Journal of Insect Physiology*, 48, 1111-1121.
45. Novelino, A. M. S., Daemon, E. & Soares, G. L. G. (2007). Evaluation of repellent activity of thymol, menthol, methyl salicylate and salicylic acid on *Boophilus microplus* larvae (Canestrini, 1887) (Acari: Ixodidae). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 59, 700-704.
46. Oliveira, F. A., Henriques da Silva, D. J., Leite, G. L. D., Jham, G. N. & Picanço, M. (2009). Resistance of 57 greenhouse-grown accessions of *Lycopersicon esculentum* and three cultivars to *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Scientia Horticulturae*, 119, 182-187.
47. Özel, M. Z., Göğüs, F. & Lewis, A. C. (2008). Composition of *Eucalyptus camaldulensis* volatiles using direct thermal desorption coupled with comprehensive two-dimensional gas chromatography–time-of-flight-mass spectrometry. *Journal of Chromatographic Science*, 46, 157-161.
48. Proffit, M., Birgersson, G., Bengtsson, M., Reis, Jr. R., Witzgall P. & Lima, E. (2011). Attraction and oviposition of *Tuta absoluta* females in response to tomato leaf volatiles. *Journal of Chemical Ecology*, 37, 565-74.
49. Raghava, T., Ravikumar, P., Hegde, R., Karunakara, C. & Kush, A. (2009). Effect of insect herbivory on the volatile profile of tomato cultivars. *Karnataka Journal of Agricultural Sciences*, 22, 1023-1028.
50. Ravi, R., Maya, P. & Bhat, K. K. (2013). Characterization of aroma active compounds of cumin (*Cuminum cyminum* L.) by GC-MS, E-Nose, and sensory techniques. *International Journal of Food Properties*, 16, 1048-1058.

51. Reddy, G. V. P. & Guerrero, A. (2004). Interaction of insect pheromones and plant semiochemicals. *Trends in Plant Science*, 9, 253-61.
52. Reddy, G. V. P. & Guerrero, A. (2010). *New pheromones and insect control strategies*. Pheromones (Vitamins and Hormones). Volum 83. Edited by Litwek, G. 20.
53. Rouyar, A., Deisig, N., Dupuy, F., Limousin, D., Wycke, M- A., Renou, M. & Anton, S. (2015). Unexpected plant odor responses in a moth pheromone system. *Frontiers in Physiology*, 6, 148, 1-17.
54. Saeidi, M. & Moharrampour, S. (2013). Insecticidal and repellent activities of *Artemisia khorassanica*, *Rosmarinus officinalis* and *Mentha longifolia* essential oils on *Tribolium confusum*. *Journal of Crop Protection*, 2, 23-31.
55. Saharkhiz, M. J., Motamedi, M., Zomorodian, K., Pakshir, K., Miri, R. & Hemyari, K. (2012). Chemical composition, antifungal and antibiofilm activities of the essential oil of *Mentha piperita* L. *International Scholarly Research Network*, 2012, 1-6.
56. Sannino, L. & Espinosa, B. (2010). *Tuta absoluta*. Guida alla conoscenza e recenti acquisizioni per una corretta difesa. Edited by L'Informatore Agrario, Verona, and Supplemento 1 al n. 46. pp 113.
57. Santos da Silva, R. C., Milet-Pinheiro, P., Bezerra da Silva, P. C., Gomes da Silva, A., Vanusa da Silva, M., Navarro, M. A. F. & Henrique da Silva, N. (2015). (*E*)-caryophyllene and α -humulene: *Aedes aegypti* oviposition deterrents elucidated by gas chromatography-Electrophysiological assay of *Commiphora leptophloeos* leaf oil. *PLoS ONE*, 10, 1-14.
58. Sarwar, A. & Latif, Z. (2015). GC-MS characterisation and antibacterial activity evaluation of *Nigella sativa* oil against diverse strains of Salmonella. *Natural Product Research*, 29, 447-51.
59. Saveer, A. M., Kromann, S. H., Birgersson, G., Bengtsson, M., Lindblom, T., Balkenius, A., Hansson, B.S., Witzgall, P., Becher, P.G. & Ignell, R. (2012). Floral to green: mating switches moth olfactory coding and preference. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*, 279, 2314-2322.
60. Scavroni, J., Boaro, C. S. F., Marques, M. O. M. & Cesar, L. (2005). Yield and composition of the essential oil of *Mentha piperita* L. (Lamiaceae) grown with biosolid. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17, 345-352.
61. Schlyter, F., Smitt, O., Sjödin, K., Högberg, H. E. & Löqvist, J. (2004). Carvone and less volatile analogues as repellent and deterrent antifeedants against the pine weevil, *Hylobius abietis*. *Journal of Applied Entomology*, 128, 610-619.
62. Schneider, D. (1964). Insect antennae. *Annual Review of Entomology*, 9, 103-122.
63. Sebei, K., Sakouhi, F., Herchi, W., Khouja, M. L. & Boukhchina, S. (2015). Chemical composition and antibacterial activities of seven *Eucalyptus* species essential oils leaves. *Biological Research*, 48, 1-5.
64. Shafiei, E. A., Habibpour, B., Moharrampour, S. & Rasekh, A. (2014). Bioactivity of *Eucalyptus camaldulensis* essential oil against *Microcerotermes diversus* (Isoptera: Termitidae). *Journal of Crop Protection*, 3, 1-11.
65. Shawir, M. S., El-bakary, A., Abdelgaleil, S. A. M. & Ramadan, G. R. M. (2014). Susceptibility of five tomato varieties to *Tuta absoluta* infestation in insecticide treated fields. *Alexandra Science Exchange Journal*, 35, 249-255.
66. Siqueira, H. A. A., Alvaro, A., Guedes, R. N. C. & Picanço, M. C. (2000). Insecticide resistance in populations of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Agricultural and Forest Entomology*, 2, 147-53.
67. Stuart, A. E., Brooks, C. J. W., Prescott, R. J. & Blackwell, A. (2000). Repellent and antifeedant activity of salicylic acid and related compounds against the biting midge, *Culicoides impunctatus* (Diptera: Ceratopogonidae). *Journal of Medical Entomology*, 37, 222-227.
68. Szendrei, Z. & Rodriguez-Saona, C. (2010). A meta-analysis of insect pest behavioral manipulation with plant volatiles. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 134, 201-210.
69. Uniyal, A., Tikar, S. N., Singh, R., Shukla, S. V., Agrawal, O. P., Veer, V. & Sukumaran, D. (2014). Repellent effect, knockdown study and electrophysiological responses of essential oils against *Aedes aegypti*. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 2, 351-357.
70. Vetter, R. S. & Visscher, P. K. (1997). Influence of age on antennal response of male honey bees, *Apis mellifera*, to queen mandibular pheromone and alarm pheromone component. *Journal of Chemical Ecology*, 23, 1867-1880.
71. Vivek, S., Nish, S., Vijaylata, P., Reyaz, M. A., Bikram, S. & Raghbir, G. C. (2010). GC-MS analysis and anti-microbial activity of essential oil of *Mentha piperita* L. from Kullu- a north Indian region of higher altitude Himalayas. *International Journal of Drug Development & Research*, 2, 40-46.
72. War, A., R., Sharma, H. C., Paulraj, M. G., War, M. Y. & Ignacimuthu, S. (2011). Herbivore induced plant volatiles, their role in plant defense for pest management. *Plant Signaling & Behavior*, 6, 1973-1978.
73. Wubie, M., Negash, A., Guadie, F., Molla, G., Kassaye, K. & Raja, N. (2014). Repellent and insecticidal activity of *Mentha piperita* (L.) plant extracts against cabbage aphid [*Brevicoryne brassicae* Linn. (Homoptera: Aphididae)]. *American-Eurasian Journal of Scientific Research*, 9, 150-156.

74. Yang, J. O., Park, J. H., Son, B. K., Moon, S. R., Kang, S. H., Yoon, C. & Kim, G. H. (2009). Repellency and electrophysiological response of caraway and clove bud oils against bean bug *Riptortus clavatus*. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 52, 668-674.
75. Yin, M., Tao, Y., Zhu, D. & Zhang, H. B. (2014). GC/MS-based dynamic analysis of *Eucalyptus camaldulensis* extract on correlation of chromatography-activity against *Oncomelania hupensis*. *Zhongguo Xue Xi Chong Bing Fang Zhi Za Zhi*, 26, 141-147.
76. Yoon, C., Kang, S. H., Jang, S. A., Kim, Y. J. & Kim, G. H. (2007). Repellent efficacy of caraway and grapefruit oil for *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 10, 263-267.